

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Nový cíl specifické protinádorové léčby mnohočetného myelomu – endoplazmatické retikulum a jeho signální dráhy

Investigating changes in the post-transcriptional pattern of VEGF and CD146 genes carrying miR-573 in breast cancer cells treated with tamoxifen

Analyzing the impact of close margins and extra-resection margins on failure rates in postoperative oral cavity cancers



DALŠÍ PERSPEKTIVY v léčbě onkologických onemocnění.¹

každých
6 týdnů
400 mg

každě
3 týdny
200 mg

KEYTRUDA®
- možnost flexibilního
dávkování¹

Zkrácená informace o léčivém přípravku

Název přípravku: KEYTRUDA® 25 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok. **Kvalitativní a kvantitativní složení:** Injekční lahvička se 4 ml koncentrátu obsahuje 100mg pembrolizumabu. *Pomocné látky:* Sacharóza, histidin, polysorbát 80, monohydrát hydrochloridu-histidinu, voda pro injekci. **Indikace:** Přípravek KEYTRUDA je indikován k léčbě: 1. v monoterapii dospělých a dospívajících ve věku 12 let a starších s pokročilým (neresekovatelným nebo metastazujícím) melanomem; 2. v monoterapii k adjuvantní léčbě dospělých a dospívajících ve věku 12 let a starších s melanomem stadia IIB, IIC nebo III, kteří podstoupili kompletní resekci; 3. v monoterapii indikovan k adjuvantní léčbě dospělých s nemalobuněčným karcinomem plic, kteří mají vysoké riziko recidivy po kompletní resekci a léčbě chemoterapií na bázi platiny; 4. v monoterapii v první linii metastazujícího nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1, se skóre nádorového podílu (TPS) $\geq 50\%$ bez pozitivních nádorových mutací EGFR nebo ALK; 5. v kombinaci s chemoterapií pemetrexedem a platinou v první linii u metastazujícího neskvamózního NSCLC u dospělých, jejichž nádory nevykazují pozitivní mutace EGFR nebo ALK; 6. v kombinaci s karboplatinou a (nab)paklitaxelem v první linii u metastazujícího skvamózního NSCLC u dospělých; 7. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího NSCLC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s TPS $\geq 1\%$, a kteří již byli léčeni nejméně jedním chemoterapeutickým režimem. Pacienti s pozitivními nádorovými mutacemi EGFR nebo ALK musí být také předtím, než dostanou přípravek KEYTRUDA, léčeni cílenou terapií; 8. v monoterapii u dospělých a pediatrických pacientů od 3 let s relabujícím nebo refrakterním klasickým Hodgkinovým lymfomem, u nichž selhala autologní transplantace kmenových buněk (ASCT), nebo byli léčeni alespoň dvěma předchozími terapiemi, přičemž ASCT není možností léčby; 9. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, kteří již byli léčeni chemoterapií obsahující platinu; 10. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, u kterých není chemoterapie obsahující cisplatinu vhodná a u kterých nádory vykazují expresi PD-L1 s kombinovaným pozitivním skóre (CPS) ≥ 10 ; 11. v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií platinou a fluorouracilem (5-FU) v první linii u metastazujícího nebo neresekovatelného recidivujícího skvamózního karcinomu hlavy a krku (HNSCC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 1 ; 12. v monoterapii u recidivujícího nebo metastazujícího HNSCC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s TPS $\geq 50\%$, a kteří podstoupili nebo podstoupí chemoterapii obsahující platinu; 13. u dospělých v kombinaci s axitinibem v první linii u pokročilého renálního karcinomu (RCC); 14. v kombinaci s lenvatinibem v první linii u pokročilého RCC u dospělých; 15. v monoterapii k adjuvantní léčbě dospělých s RCC se zvýšeným rizikem recidivy po nefrektomii, nebo po nefrektomii a resekci metastatických lézí; 16. Nádory MSI-H/dMMR. *Kolorektální karcinom (CRC), v monoterapii pro dospělé s MSI-H nebo dMMR CRC - v první linii metastazujícího CRC - po předchozí kombinované léčbě založené na fluoropyrimidinu u neresekovatelného nebo metastazujícího CRC; Nádory kromě CRC, v monoterapii k léčbě následujících MSI-H nebo dMMR nádorů u dospělých s:* - pokročilým nebo recidivujícím endometriálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění při nebo po předchozí léčbě založené na platině v jakémkoli režimu léčby a kteří nejsou kandidáty pro kurativní chirurgickou léčbu nebo radioterapii, - neresekovatelnými nebo metastazujícími nádory žaludku, tenkého střeva nebo žlučových cest, u kterých došlo k progresi onemocnění během nebo po alespoň jedné předchozí léčbě; 17. v kombinaci s chemoterapií na bázi platiny a fluoropyrimidinu v první linii k léčbě pacientů s lokálně pokročilým neresekovatelným nebo metastazujícím karcinomem jícnu nebo HER-2 negativním adenokarcinomem gastroezofageální janky u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 10 ; 18. v kombinaci s chemoterapií v neoadjuvantní léčbě a následně po chirurgické léčbě v monoterapii v adjuvantní léčbě u dospělých s lokálně pokročilým nebo časným stadiem triple-negativního karcinomu prsu (TNBC) s vysokým rizikem recidivy; 19. v kombinaci s chemoterapií u lokálně rekurentního neresekovatelného nebo metastazujícího TNBC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 10 a kteří dosud nebyli léčeni chemoterapií pro metastatické onemocnění; 20. v kombinaci s lenvatinibem u pokročilého nebo rekurentního endometriálního karcinomu u dospělých, u nichž došlo k progresi onemocnění během předchozí léčby obsahující platinu v jakémkoli režimu nebo po ní a kteří nejsou kandidáty na chirurgický zákrok nebo ozařování; 21. v kombinaci s chemoterapií s nebo bez bevacizumabu u perzistentního, recidivujícího nebo metastazujícího karcinomu děložního hrdla u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 1 ; 22. v kombinaci s trastuzumabem, fluoropyrimidinem a chemoterapií obsahující platinu v první linii léčby lokálně pokročilého neresekovatelného nebo metastazujícího HER2-positivního adenokarcinomu žaludku nebo gastroezofageální janky u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 1 . **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka přípravku KEYTRUDA u dospělých je 200 mg každé 3 týdny nebo 400 mg každých 6 týdnů. Doporučená dávka přípravku KEYTRUDA v monoterapii u pediatrických pacientů ve věku od 3 let vyše s cHL nebo pacientů od 12 let vyše s melanomem je 2 mg/kg tělesné hmotnosti ($bw = \text{bodyweight}$) (až do maximální dávky 200 mg) každé 3 týdny. Dávka se podává intravenózní infuzí po dobu 30 minut. Při podávání přípravku KEYTRUDA v rámci kombinace s chemoterapií je nutno přípravek KEYTRUDA podávat první. Pacient je nutno přípravek KEYTRUDA léčit do progresse nemoci nebo do vzniku nepřijatelné toxicity (a až po maximální dobu trvání léčby, pokud je to pro indikaci specifikováno). Byly pozorovány atypické odpovědi (tj. počáteční přechodné zvětšení nádoru nebo vznik nových malých lézí během prvních několika měsíců, následované zmenšením nádoru). Klinicky stabilní pacienti s počátečními známkami progresse nemoci se doporučuje léčit dál, dokud se progresse nepotvrdí. Další podrobné informace ohledně dávkování a trvání léčby v jednotlivých indikacích udává souhrn údajů o přípravku (SPC). Dávkování přípravku v kombinaci s pembrolizumabem viz SPC pro souběžně použitá léčiva. **Zvláštní upozornění:** Vyhodnocení stavu PD-L1: Při hodnocení stavu tumoru s ohledem na PD-L1 je důležité zvolit dobře validovanou a robustní metodu. Aby se zlepšila sledovatelnost biologických léčivých přípravků, má se přehledně zaznamenat název podané dávky přípravku a číslo sarže. **Imunitně zprostředkované nežádoucí účinky:** U pacientů, kterým byl podáván pembrolizumab, se vyskytly imunitně zprostředkované nežádoucí účinky, včetně závažných a fatálních, většina z nich byla reverzibilní a zvládla se přerušением podávání pembrolizumabu, podáním kortikosteroidů a/nebo podpůrnou léčbou. Mohou se vyskytnout nežádoucí účinky postihující současně více tělesných systémů, např. pneumonitida, kolitida, hepatitida, nefritida, endokrinopatie, kožní nežádoucí účinky, další nežádoucí účinky podrobně uvedeny v SPC. Pembrolizumab musí být trvale vysazen při jakémkoli imunitně zprostředkovaném nežádoucím účinku stupně 3, který se opakuje, nebo při jakémkoli imunitně zprostředkovaném nežádoucím toxicitě stupně 4, kromě endokrinopatií, které jsou zvládnuty hormonální substitucí. Pembrolizumab může být znovu nasazen po 12 týdnech po poslední dávce přípravku KEYTRUDA, pokud se nežádoucí účinek zlepšil na stupeň ≤ 1 a dávka kortikosteroidů byla redukována na ≤ 10 mg prednisonu nebo jeho ekvivalentu za den. Léčba pembrolizumabem může u příjemců transplantovaných solidních orgánů zvýšit riziko rejekce, je nutné zvážit benefit/risk. U pacientů s cHL, podstupujících alogenní transplantaci kostní dřeně, byly pozorovány případy GVHD a VOD. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Interakce:** Nebyly provedeny žádné formální farmakokinetické studie lékových interakcí. Pembrolizumab se odstraňuje z oběhu katabolizací, žádné metabolické lékové interakce se nepředpokládají. Před nasazením pembrolizumabu je nutno se vyhnout podávání systémových kortikosteroidů nebo imunosupresiv, a to kvůli jejich potenciálnímu vlivu na farmakodynamickou aktivitu a účinnost pembrolizumabu. Systémové kortikosteroidy nebo jiná imunosupresiva však lze používat po nasazení pembrolizumabu k léčbě imunitně zprostředkovaných nežádoucích účinků. **Těhotenství, kojení:** Údaje o podávání pembrolizumabu těhotným ženám nejsou k dispozici. Ženy ve fertilním věku musí během léčby a nejméně 4 měsíce po poslední dávce pembrolizumabu používat účinnou antikoncepci. Není známo, zda se pembrolizumab vylučuje do lidského mateřského mléka. Je nutno se rozhodnout, zda přerušit kojení nebo vysadit pembrolizumab. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté ($\geq 1/10$): infekce močových cest, anémie, neutropenie, trombocytopenie, leukopenie, hypotyreóza, snížení chuti k jídlu, hypokalémie, insomnie, bolest hlavy, závrať, periferní neuropatie, dysgeuzie, hypertenze, dyspnoe, kašel, dysfonie, průjem, bolest břicha, nauzea, zvracení, zácpa, vyrážka, pruritus, alopecie, muskuloskeletální bolest, myozitida, artralgie, bolest v končetině, únava, astenie, edém, pyrexie, zvýšení ALT, AST, lipázy a kreatininu v krvi; Časté ($\geq 1/100$ až $\leq 1/10$): pneumonie, lymfopenie, febrilní neutropenie, reakce spojená s infúzí, hypotyreóza, tyreoiditida, adrenální insuficience, hypokalémie, hypokalciemie, hyponatremie, letargie, suché oko, srdeční arytomie (včetně fibrilace síní), pneumonitida, kolitida, suchá ústa, hepatitida, těžké kožní reakce, suchá kůže, erytém, vitiligo, ekzém, akneiformní dermatitida, myozitida, artritida, nefritida, akutní poškození ledvin, onemocnění podobné chřipce, zimnice, hyperkalciemie, zvýšení ALP, bilirubinu v krvi. Údána vždy nejvyšší frekvence výskytu. Přípravek KEYTRUDA, v monoterapii nebo v kombinované terapii, je nutno trvale vysadit při nežádoucích účincích stupně 4 nebo recidivujících imunitně zprostředkovaných nežádoucích účincích stupně 3, pokud není v tabulce 1 SPC uvedeno jinak. Podrobnější informace o výskytu a úpravách dávky při léčbě v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií, axitinibem či lenvatinibem viz SPC přípravků. Při hematologické toxicitě stupně 4, pouze u pacientů s cHL, se přípravek KEYTRUDA musí vysadit do zlepšení nežádoucích účinků na stupeň 0 až 1. **Upozornění:** Pembrolizumab může mít mírný vliv na schopnost řídit motorová vozidla a obsluhovat stroje. Po podání pembrolizumabu byla hlášena únava. **Doba použitelnosti:** 2 roky. Z mikrobiologického hlediska má být přípravek, jakmile se naředí, použit okamžitě. Není-li použit okamžitě, chemická a fyzikální stabilita přípravku po otevření před použitím byla prokázána na dobu 96 hodin při 2 až 8 °C. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 až 8 °C). **Balení:** Jedna injekční lahvička 10 ml se 4 ml koncentrátu obsahuje 100 mg pembrolizumabu. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck Sharp & Dohme B.V., Waarderweg 39, 2031 BN Haarlem, Nizozemsko. Kontaktní e-mail: dproc_czechslovak@merck.com. **Registrační číslo:** EU/1/15/1024/002. **Datum poslední revize textu:** 12. 10. 2023. RCN 000023046-CZ; 000025158-CZ; 000025905-CZ. Způsob výdeje: Vázán na lékařský předpis. Způsob úhrady: Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění (indikace 1,2,4,5,6,9,11,14,16-pouze MSI-H/dMMR metastazující CRC v 1. linii, 18,19,20,21) více na www.sukl.cz.

Dříve než přípravek předepíšete, seznáme se prosím s úplným souhrnem údajů o přípravku, který naleznete na adrese: Merck Sharp & Dohme s.r.o., Na Valentince 3336/4150 00 Praha 5 nebo na stránkách Evropské agentury pro léčivé přípravky <http://ema.europa.eu/>.

Reference: 1. SPC přípravku KEYTRUDA® na www.sukl.cz, datum poslední revize 12. 10. 2023.

Obsah | Contents

Editorial 430

PŘEHLEDY | REVIEWS

Klasifikace zárodečných variant identifikovaných při genetickém vyšetření nádorové predispozice – konsenzus konzorcia CZEKANCA 431

Classification of germline variants identified in cancer predisposition genetic testing – consensus of the CZEKANCA consortium

Janatová M., Chvojka Š., Macháčková E., Soukupová J., Zemánková P., Nehasil P., Zavoral T., Hrušková L., Janíková M., Kozáková K., Lhota F., Tavandzis S., Kleiblová P., Kleibl Z., konzorcium CZEKANCA

Nový cíl specifické protinádorové léčby mnohočetného myelomu – endoplazmatické retikulum a jeho signální dráhy 440

The endoplasmic reticulum and its signaling pathways – a novel target for multiple myeloma treatment

Dostálová A., Vlachová M., Gregorová J., Moráň L., Pečinka L., Gabrielová V., Vaňhara P., Ševčíková S.

PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

Investigating changes in the post-transcriptional pattern of *VEGF* and *CD146* genes carrying *miR-573* in breast cancer cells treated with tamoxifen 447

Zkoumání změn posttranskripčního úprav genů *VEGF* a *CD146* nesoucích *miR-573* v buňkách karcinomu prsu ošetřených tamoxifenem

Abyar M., Kavousi M., Jamshidian F.

The effect of demographic and clinical data on anxiety and depression levels in breast cancer patients receiving radiotherapy 453

Vliv demografických a klinických údajů na úzkost a depresi u pacientek s karcinomem prsu léčených radioterapií

Benderli Cihan Y., Ozturk O.

Extra-cellular exosomes may have the role of a carrier in transferring molecules from the tumor micro-environment to the unaffected cells in breast cancer tumors 462

Extracelulární exozomy pravděpodobně hrají roli nosiče v přenášení molekul z nádorového mikroprostředí karcinomu prsu do nedotčených buněk

Khani S. A., Kavousi M., Jamshidian F.

Analyzing the impact of close margins and extra-resection margins on failure rates in postoperative oral cavity cancers 467

Analýza vlivu těsných a dodatečných resekcí okrajů na míru selhání léčby karcinomu ústní dutiny po operaci

Shivhare V., Rath S., Rathod H., Dash N. K., Parikh A., Suryanarayan Kunikullaya U.

SDĚLENÍ | REPORTS

Nová doporučení ESMO pro klinickou praxi u metastatického kolorektálního karcinomu – komentář ke změnám v systémové léčbě 473

New ESMO guidelines for clinical practice in metastatic colorectal cancer – commentary on changes in systemic therapy
Kiss I, Tomášek J.

Paliativní radioterapie pokročilého karcinomu kůže ušního boltce 477

Palliative radiotherapy of advanced skin cancer of the auricle
Pechačová Z, Drbohlavová T, Pála M.

AKTUALITY Z ODBORNÉHO TISKU | REPORTS FROM THE LITERATURE 481

AKTUALITY V ONKOLOGII | ONCOLOGY HIGHLIGHTS

Ohlédnutí za 13. kongresem PSOGI – je něco nového v léčbě peritoneálních malignit? 484

Němec L.

Inovativní možnosti snížení rizika vzniku karcinomu plic a jeho časně detekce 488

Michnová K.

PERSONALIA | PERSONAL NEWS

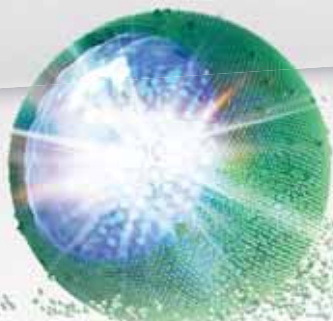
Uvedenie významných osobností slovenskej onkológie do Dvorany slávy slovenskej medicíny 492

Ondruš D.

Jubilant prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc. 496

Mriňáková B.

STANDARD 2. LINIE LÉČBY METASTATICKÉHO KARCINOMU PANKREATU¹



UNIKÁTNÍ PEG-LIPOZOMÁLNÍ FORMA - SILNĚJŠÍ INHIBICE NÁDOROVÉHO RŮSTU²⁻⁵ DOPORUČENO VŠEMI STĚŽEJNÍMI GUIDELINES⁶⁻¹³

Účinná léčba metastazujícího adenokarcinomu pankreatu
v kombinaci s 5-FU/LV u dospělých pacientů, u kterých došlo
k progresi po léčbě založené na gemcitabinu¹

LITERATURA: 1. ONIVYDE pegylated liposomal SPC. Poslední revize textu 08/2022. 2. Lamb YN, Scott LJ. Drugs. 2017;77:785-792. 3. Drummond DC et al. Cancer Res 2006;66:3271-3277. 4. Kalra AV et al. Cancer Res. 2014;74:7003-7013. 5. Carnevale J, Ko AH. Future Oncol. 2016;12:453-464. 6. eUpdate-Cancer of the Pancreas Treatment Recommendations. Published: 15 March 2019. ESMO Guidelines Committee. Available at: <https://www.esmo.org/guidelines/guidelines-by-topic/gastrointestinal-cancers/pancreatic-cancer/eupdate-cancer-of-the-pancreas-treatment-recommendations>. Last accessed: December 2022. 7. Ducreux M et al. Ann Oncol. 2015;25(suppl5):v56-v68. 8. Tempero MA et al. J Natl Compr Canc Netw. 2021;19(4):439-457. 9. Sohal D et al. J Clin Oncol. 2020;38:3217-3230. 10. Okusaka T et al. Pancreas. 2020;49:326-335. 11. Cui J et al. Chinese Society of Clinical Oncology (CSCO). J Natl Cancer Cent. 10.1016/j.jncc.2022.08.006. 12. National Health Commission of the People's Republic of China. Chin J Cancer Res. 2022;34(3):238-255. 13. Modrá kniha – 29. aktualizované vydání.

Zkrácená informace o přípravku ONIVYDE pegylated liposomal®: SLOŽENÍ: ONIVYDE pegylated liposomal 4,3 mg/ml koncentrát pro infuzní disperzi: Jedna 10ml injekční lahvička koncentrátu obsahuje irinotecanum 43 mg (jako irinotecanum sucrosylatum v pegylované lipozomální formě). **INDIKACE:** Léčba metastazujícího adenokarcinomu pankreatu, v kombinaci s fluorouracilem (5-FU) a leukovorinem (LV), u dospělých pacientů, u nichž došlo k progresi po terapii založené na gemcitabinu. **DÁVKOVÁNÍ A ZPŮSOB PODÁNÍ:** Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal smí pacientům předepisovat a podávat pouze lékaři a zdravotníci pracovníci se zkušenostmi s protinádorovými terapiemi. Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal není ekvivalentem nelipozomálních forem irinotekanu a nesmí být s nimi zaměňován. Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal, leukovorin a fluorouracil se mají podávat postupně. Doporučená dávka a režim přípravku ONIVYDE pegylated liposomal je 70 mg/m² intravenózně po dobu 90 minut, následně LV 400 mg/m² intravenózně po dobu 30 minut a poté 5FU 2400 mg/m² intravenózně po dobu 46 hodin, s podáváním každé 2 týdny. Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal se nemá podávat jako monoterapie. Sníženou počáteční dávku přípravku ONIVYDE pegylated liposomal 50 mg/m² je třeba zvážit u pacientů, u nichž je známo, že jsou homozygoty alely UGT1A1 *28. U následných cyklech je třeba zvážit zvýšení dávky přípravku ONIVYDE pegylated liposomal na 70 mg/m², pokud je tolerována. **PREMEDIKACE:** Doporučuje se standardními dávkami dexmethasonu (nebo ekvivalentním kortikosteroidem) společně s antagonistou 5-HT3 (nebo jiným antiemetikem) alespoň 30 minut před infuzí přípravku ONIVYDE pegylated liposomal. Úpravy dávek se doporučují ke zvládnutí toxicity 3. a 4. stupně související s přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. **Porucha funkce jater:** Přípravek se nemá používat u pacientů s hodnotami bilirubinu > 2,0 mg/dl nebo AST a ALT > 2,5násobek horní meze normálu (ULN) nebo > 5násobek ULN, pokud jsou v játrech přítomny metastázy. **Porucha funkce ledvin:** U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou funkce ledvin není nutná úprava dávky. Přípravek se nedoporučuje u pacientů se závažnou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu < 30 ml/min). **KONTRAINDIKACE:** Anamnéza závažné hypersenzitivity na irinotecan nebo na teroukrolní pomocnou látku. Kojení. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** **Obecná:** Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal není ekvivalentem jiných nelipozomálních forem irinotekanu a nesmí být s nimi zaměňován. **Myelosuprese/neutropenie:** Doporučuje se sledovat kompletní krevní obraz. Febrilní neutropenii je třeba okamžitě léčit širokospektrými intravenózními antibiotiky v nemocnici. Léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal je třeba pozastavit, pokud se vyskytne febrilní neutropenie nebo klesne absolutní počet neutrofilů pod 1500/mm³. Pacienti se závažným selháním kostní dřeně nemají být léčeni přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. Předchozí ozářování oblasti břišní v anamnéze zvyšuje riziko závažné neutropenie a febrilní neutropenie po léčbě přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. U pacientů s ozářování oblasti břišní v anamnéze se doporučuje pečlivě sledování krevního obrazu a je třeba zvážit použití myeloidních růstových faktorů. U pacientů, kterým je přípravek ONIVYDE pegylated liposomal podáván souběžně s ozářováním, je třeba postupovat s opatrností. U pacientů s nedostatečnou glukuronidací bilirubinu může při léčbě přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal existovat zvýšené riziko myelosuprese. U asijských pacientů existuje zvýšené riziko závažné a febrilní neutropenie po léčbě přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. U osob, které jsou 7/7 homozygoty alely *28 genu UGT1A1 *28, existuje zvýšené riziko neutropenie. **Imunosupresivní účinky a vakcíny:** Je nutné vyvarovat se vakcinaci živými vakcínami. Mrtvé či inaktivované vakcíny se mohou podávat; odpověď na ně však může být snižena. **Interakce se silnými induktory CYP3A4, silnými inhibitory CYP3A4 nebo silnými inhibitory UGT1A1:** lze podávat se silnými induktory enzymu CYP3A4 pouze pokud neexistují žádné terapeutické alternativy. Je třeba zvážit substituční terapii neindukující enzymy, a to nejméně 2 týdny před zahájením léčby přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. se nesmí podávat se silnými inhibitory enzymu CYP3A4. Podávání je třeba ukončit nejméně 1 týden před zahájením léčby přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. Lze podávat se silnými inhibitory UGT1A1 pouze pokud neexistují žádné terapeutické alternativy. **Průjem:** Průjem se může objevit časně (nástup během ≤ 24 hodin po zahájení léčby přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal) nebo opožděně (> 24 hodin). U pacientů, u kterých dojde k časnému nástupu průjmu, je třeba zvážit terapeuticky a profylakticky podávání atropin, pokud není kontraindikován. Podávání loperamidů je třeba zahájit při prvním výskytu řídké stolice nebo průjmu nebo ihned po nástupu častějšího vyprázdnování střev než obvykle. Loperamid je třeba podávat do doby, než bude pacient alespoň 12 hodin bez průjmu. Jestliže průjem přetrvává, i když pacient užívá loperamid déle než 24 hodin, je třeba zvážit podpůrnou léčbu perorálními antibiotiky. Loperamid se nesmí podávat déle než 48 po sobě následujících hodin z důvodu rizika paralytického ileu. Jestliže průjem přetrvává déle než 48 hodin, ukončete podávání loperamidů, monitorujte a doplňte tekutiny s obsahem elektrolytů a pokračujte v antibiotické podpůrné léčbě. Léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal je třeba odložit do doby, než průjem dosáhne ≤ 1. stupně (0-2 stolice/den více než v době před léčbou). Nesmí se podávat pacientům se střevní obstrukcí a chronickým zátlivým onemocněním střev, dokud neodezní. **Cholinergní reakce:** Průjem s časným nástupem mohou provázet cholinergní příznaky, jako jsou rinorea, zvýšená salivace, zrudnutí, diaréza, bradykardie, mizná a hyperperistaltika. V případě cholinergních příznaků je třeba podat atropin. **Akutní reakce na infuzi a související reakce:** V případě závažných hypersenzitivních reakcí, včetně akutní reakce na infuzi, anafylaktické/anafylaktoidní reakce a angioedému **, je třeba léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal ukončit. **Předchozí Whippleova operace:** Je třeba sledovat známky infekce. **Cévní onemocnění:** ONIVYDE pegylated liposomal je spojován s tromboembolickými příhodami, jako je plicní embolie, žilní trombóza a arteriální tromboembolismus. Pro odhalení pacientů s vícečetnými rizikovými faktory kromě základního novotvaru má být odebrána důkladná anamnéza. Pacienti mají být informováni o známkách a symptomech tromboembolie a mají okamžitě kontaktovat lékaře nebo zdravotní sestru, pokud se u nich takové známky nebo symptomy objeví. **Plicní toxicita:** U pacientů léčených nelipozomálním irinotekánem se vyskytly příhody podobné intersticiálnímu plicnímu onemocnění (ILD). Mezi rizikové faktory patří preexistující plicní onemocnění, podávání pneumotoxických léčivých přípravků, kolonie stimulujících faktorů nebo předchozí radiační terapie. U těchto pacientů je třeba pečlivě sledovat respirační příznaky před léčbou přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal i během ní. Objeví-li se nová nebo progresivní dyspnoe, kašel a horečka, je třeba léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal okamžitě přerušit až do vyhodnocení diagnózy. U pacientů s potvrzenou diagnózou ILD je třeba léčbu přípravkem ukončit. **Porucha funkce jater:** Pacienti s hyperbilirubinemií měli vyšší koncentrace celkového SN38, a proto je u nich zvýšené riziko neutropenie. U pacientů s celkovým bilirubinem 1,0-2,0 mg/dl je třeba pravidelně sledovat krevní obraz. U pacientů s poruchou funkce jater (bilirubin > 2násobek horní hranice normálního rozmezí (upper limit of normal, ULN); transaminázy > 5násobek ULN) je třeba postupovat opatrně. **Předávkování:** Předávkování přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal může způsobit systémovou expozici přípravku ONIVYDE pegylated liposomal. Současné podávání s cytostatickými látkami (včetně fluorouracilu) může zhoršit nežádoucí účinky přípravku ONIVYDE pegylated liposomal **. **FERTILITA:** Před zahájením podávání přípravku ONIVYDE pegylated liposomal zvažte možnost použít pacienty o zachování vajíčkových buněk **. **TĚHOTENSTVÍ:** Nedoporučuje se. **KOJENÍ:** Kontraindikováno. **ANTIKONCEPCE:** Muži i ženy musí používat účinnou antikoncepci v průběhu léčby a ještě 7 měsíců po ukončení léčby u žen a 4 měsíců u mužů. **ÚČINKY NA SCHOPNOST ŘÍDIT A OBSLUHOVAT STROJE:** Dbát zvýšené pozornosti. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** **Velmi časté:** neutropenie, leukopenie, anémie, trombocytopenie, hypokalémie, hypomagnezémie, dehydratace, snížená chuť k jídlu, závrť, průjem, zvracení, nauzea, bolest břicha, stomatitida, alopecie, pyrexie, periferní otok, zánět sliznice, únava, astenie, snížení hmotnosti. **Časté:** septický šok, sepsa, pneumonie, febrilní neutropenie, gastroenteritida, orální kandidóza, lymfopenie, hypoglykémie, hyponatremie, hypofosfatémie, insomnie, cholinergní syndrom, dysgezie, hypotenze plicní embolie, embolizace, hluboká žilní trombóza, dyspnoe, dysfonie, kolitida, pruritus **, hemoroidy, hypalbuminémie, akutní renální selhání, reakce spojená s infuzí, edém, zvýšený bilirubin, zvýšená ALT, zvýšená AST, zvýšení INR. **Méně časté:** bilární sepsa, hypersenzitivita, trombóza, hypoxie, ezofagitida, proktitida, kopřivka **, vyrážka **, makulopapulární vyrážka, diskolorace nehtu. **Není známo **:** anafylaktická/anafylaktoidní reakce, angioedém, erytém. **PŘEDÁVKOVÁNÍ - VLASTNOSTI:** Irinotekan (inhibitor topoisomerase II) zapouzdřený v lipidové dvovrstvé vezikule nebo lipozomu. Irinotekan je derivát kamptothecinu. Kamptothecin působí jako specifický cke inhibitory enzymu DNA topoisomerase I. Irinotekan a jeho aktivní metabolit SN-38 vytvářejí reverzibilní vazbu s komplexem topoisomerase I-DNA a indukují jednořetězové léze DNA, které blokují replikační vidlici DNA a odpovídají za cytotoxicitu. Irinotekan se metabolizuje prostřednictvím karboxylesterázy na SN-38. SN-38 je z hlediska inhibice topoisomerase I purifi kovaně z nádorových buněčných linií člověka a hodlavců přibližně 1000krát silnější než irinotekan. **PODMÍNKY UCHOVÁVÁNÍ:** Uchovávejte v chladničce (2-8 °C). Chraňte před mrazem a světlem. **BALENÍ:** 1 injekční lahvička obsahující 10 ml koncentrátu. **Datum poslední revize textu:** 08/2022. **Registrační číslo:** EU/1/16/1130/001. **Držitel registračního rozhodnutí:** Les Laboratoires Servier 50, rue Carnot, 92284 Suresnes cedex Francie. Před předepsáním přípravku si přečtěte Souhrn údajů o přípravku. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění viz **Seznam cen a úhrad léčivých přípravků:** <http://www.sukl.cz/sukl/seznam-levic-a-pzlu-hrazenych-ze-zdrav-pojisteni>. Přípravek je 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.

* Pro úplnou informaci si prosím přečtěte celý Souhrn údajů o přípravku ** Všímejte si prosím změn v informaci o léčivém přípravku ONIVYDE pegylated liposomal

SERVIER
moved by you

Editorial

Vážené kolegyně, vážení kolegové!

Dovolte mi touto cestou krátké ohlédnutí za Brněnskými onkologickými dny (BOD). Ačkoliv se letošní kongres konal v pozdně podzimní listopadové atmosféře, byl nabit nesmírně pozitivní energií.

V úvodu nemohu nevzpomenout na některé významné události z historie BOD. V roce 1976 začínaly jako malá onkologická konference, která se postupně etablovala a stala se každoročním mítinkem specialistů podílejících se na péči o onkologické pacienty. O 10 let později BOD obohatila partnerská konference určená nelékařským zdravotnickým pracovníkům (KNZP), která je nyní již 37. rokem pevnou součástí BOD. Konference se dynamicky vyvíjela a během let také rozrůstala. Zůstanu-li u chronologického řazení, od roku 2017 přibyla Konference pro laboratorní pracovníky a od roku 2021 mezinárodní část konference „International Brno Oncology Days“. Posledním počinem je 1. ročník „Psychologie v kontextu medicíny“, který se uskutečnil právě v letošním roce.

Mám-li popsat BOD 2023 v číslech, zahájím počtem účastníků, jichž bylo 2 333. Tito měli možnost vyslechnout si 340 příspěvků (z toho 225 vyzvaných přednášek) a zúčastnit se 35 edukačních bloků a 11 bloků věnovaných volným příspěvkům. Konference rovněž nabídla 14 workshopů, 4 setkání pracovních skupin, 9 satelitních symposií a řadu setkání výborů společností a patientských organizací.

Letošní BOD byly zahájeny ve středu 1. listopadu 2023 tradičním GliomMeetingem, již několikátým rokem také programovými bloky pro praktické lékaře a neonkology, a v neposlední řadě i programem věnovaným problematice klinických studií. Čtvrtek je nejnavštěvovanějším dnem konference a kromě stabilních edukačních bloků o karcinomu prsu, plic a nádorech zažívácího

traktu obsahoval řadu volných sdělení i novinek, jako např. programový blok věnovaný možnostem transplantace v solidní onkologii. Ve čtvrtek byl také zahájen 3. ročník International Brno Oncology Days (I-BOD). Ačkoliv I-BOD v roce 2021 začínal skromně, letošního ročníku se zúčastnilo více než sto zahraničních účastníků. Nejvíce byli zastoupeni naši kolegové ze Slovenska, ale přivítali jsme i účastníky z ostatních sousedních států, a to z Polska, Maďarska, Rakouska a Německa, a minoritně i z ostatních koutů Evropy. Úvodní sdělení I-BOD 2023 se soustředila na problematiku hrudní chirurgie. Tato část konference byla pořádána ve spolupráci s Fakultní nemocnicí Brno, kde také probíhala paralelní část programu. Za organizaci si dovoluji poděkovat doc. Teodoru Horváthovi, jehož zásluhou vznikl bohatý program za aktivní účasti etablovaných expertů v oboru hrudní chirurgie, anesteziologie a klinické onkologie. Pozvání přijali odborníci z řady evropských států a z Taiwanu.

Z bohatého programu I – BOD bych dále ráda vyzdvihla „Meet the Experts Session“, tento ročník s odborníky na gastrointestinální nádory a „Breaking News“, které rekapitulovaly practice changing news roku 2023. Možnosti precizní onkologie v praxi byly tématem „Molecular Tumour Board Session“, která přivítala tuzemské i zahraniční experty precizní medicíny; zde nemohu nezmínit brilantní přednášku prof. Benedicta Westphalena z Mnichova. Společná diskuze pak nastínila možnosti spolupráce GENESIS, národní platformy sdružující výsledky multigenomového testování a konzultace molekulárních tumor boardů v České republice, s ostatními onkology v ČR a možnost networkingu s evropskými platformami specializovanými na precizní medicínu.

Paralelně s I-BOD samozřejmě probíhal program i v češtině s nabídkou jak

tradičních edukačních bloků, tak i kazuistických setkání či panelových diskusí zaměřených na jednotlivá nádorová onemocnění.

Jak jsem již předeslala, novinkou roku 2023 se stala konference „Psychologická péče v kontextu medicíny“ zaměřená na psychologické aspekty péče o onkologického pacienta. Jednalo se o interaktivní setkání nejen psychologů ale i ostatních odborností, tedy celého multidisciplinárního týmu, který se podílí na péči o pacienta. Řada inspirativních témat vzbudila vysoký zájem účastníků a nastínila další nápady a myšlenky, které budou námětem plánovaného 2. ročníku v roce 2024.

Věda a výzkum je stabilní součástí programu BOD. I letos jsme zařadili programovou sekci, kde měli mladí vědci a onkologové z ČR i zahraniční možnost prezentovat výsledky vlastního výzkumu či představit plánované vědecké projekty.

Jedním ze stěžejních úkolů odborníků v onkologické péči je prevence. Komplexní problematika prevence byla zahrnuta v edukačním bloku „Prevence a časná detekce zhoubných nádorů“, kde byly mimo jiné představeny i populační pilotní programy časného zachytu karcinomu plic a prostaty.

A právě zmínkou o významu prevence v onkologii bych si dovolila ukončit letošní ohlédnutí za BOD, poděkovat všem přednášejícím i účastníkům za jejich podíl na úspěchu BOD 2023 a popřát nám hodně zdaru s přípravou dalšího ročníku.

Pro zájemce mi dovoluji připomenout, že abstrakta z BOD 2023 byla uveřejněna ve Sborníku abstrakt publikovaném jako supplementum časopisu Klinická onkologie (Klin Onkol 2023; 36 (Suppl 1): 5.).

*doc. MUDr. Radka Lordick
Obermannová, Ph.D.
Masarykův onkologický ústav*

Klasifikace zárodečných variant identifikovaných při genetickém vyšetření nádorové predispozice – konsenzus konzorcium CZECANCA

Classification of germline variants identified in cancer predisposition genetic testing – consensus of the CZECANCA consortium

Janatová M.¹, Chvojka Š.², Macháčková E.³, Soukupová J.¹, Zemánková P.^{1,4}, Nehasil P.^{1,4,5}, Zavoral T.⁶, Hrušková L.⁷, Janíková M.⁸, Kozáková K.⁹, Lhota F.², Tavandzis S.¹⁰, Kleiblová P.^{1,11}, Kleibl Z.¹; konzorcium CZECANCA

¹ Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

² Centrum lékařské genetiky a reprodukční medicíny, Gennet, Praha

³ Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů, MOÚ Brno

⁴ Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK a VFN v Praze

⁵ Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze

⁶ Ústav lékařské genetiky, LF v Plzni UK a FN Plzeň

⁷ GHC Genetics, s.r.o., Praha

⁸ Ústav lékařské genetiky, LF UP a FN Olomouc

⁹ Genetická laboratoř PRONATAL, PRONATAL s.r.o., Praha

¹⁰ Oddělení lékařské genetiky, Laboratoře AGEL a.s., Nový Jičín

¹¹ Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Souhrn

Východiska: Hereditární nádorové syndromy tvoří významnou podskupinu zhoubných nádorových onemocnění způsobených patogenními variantami v některém z mnoha známých nádorových predispozičních genů. Diagnostika nádorové predispozice je založena na genetickém testování pomocí sekvenování nové generace. To umožňuje analýzu mnoha genů najednou, nicméně zároveň se zvyšuje počet identifikovaných variant. Správná klasifikace nalezených variant je zásadní pro klinickou interpretaci výsledků genetického testování. **Cíl:** Cílem práce je shrnutí pravidel pro klasifikaci identifikovaných variant v rámci jednotlivých pracovišť a představení procesu tvorby společné klasifikace. Sdílení nalezených genetických variant a tvorba jejich konsenzuální klasifikace v rámci národních laboratorně diagnostických komunit probíhá v ČR v rámci konzorcium Czech Cancer Panel for Clinical Application (CZECANCA) sdružujícího výzkumné a diagnostické onkogenetické laboratoře. Tvorba konsenzu pro klasifikaci variant probíhá podle definovaného protokolu. Sdílení výsledků a konsenzuální klasifikace zrychluje a zpřesňuje vydávání výsledků genetického testování, harmonizuje výsledky mezi laboratořemi a přispívá tak ke zkvalitnění péče o jedince ve vysokém riziku vzniku nádorových onemocnění a jejich příbuzné.

Klíčová slova

hereditární nádorové syndromy – masivně paralelní sekvenování – genetické testování – klinická relevance – klasifikace variant – národní konsenzus

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

The authors declare that 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.



RNDr. Markéta Janatová, Ph.D.

Ústav lékařské biochemie
a laboratorní diagnostiky
1. LF UK a VFN v Praze
U nemocnice 2
128 08 Praha 2
e-mail: mjana@lf1.cuni.cz

Obdrženo/Submitted: 11. 10. 2023

Přijato/Accepted: 14. 11. 2023

doi: 10.48095/ccko2023431

Summary

Background: Hereditary cancer syndromes are an important subset of malignant cancers caused by pathogenic variants in one of many known cancer predisposition genes. Diagnosis of cancer predisposition is based on genetic testing using next-generation sequencing. This allows many genes to be analysed at once, increasing the number of variants identified. The correct classification of the variants found is essential for the clinical interpretation of genetic test results. **Purpose:** The aim of this study is to summarise the rules for classifying identified variants within individual laboratories and to present the process for creating a common classification. In the Czech Republic, the sharing of identified genetic variants and the development of their consensus classification among national laboratory diagnostic communities is carried out within the Czech Cancer Panel for Clinical Application (CZECANCA) consortium of scientific and diagnostic oncogenetic laboratories. Consensus for variant classification follows a defined protocol. Sharing the results and consensus classification accelerates and refines the release of genetic test results, harmonises results between laboratories and thus contributes to improving the care of individuals at high risk of cancer and their relatives.

Keywords

hereditary neoplastic syndromes – massively-parallel sequencing – genetic testing – clinical relevance – variant classification – national consensus

Úvod

Hereditární nádorové syndromy jsou heterogenní skupina dědičných onemocnění charakterizovaných vznikem různých typů tumorů u nosičů vzácných germinálních mutací v nádorových predispozičních genech. Nejčastěji se jedná o tumor supresorové geny, jejichž produkty se negativně podílejí na regulaci mitotických signálů a buněčného cyklu, aktivují apoptózu nebo jsou zapojeny do oprav poškození DNA [1]. Nádorová onemocnění vznikající na podkladě dědičné predispozice představují 5–10 % případů všech onkologických onemocnění, nicméně mezi diagnózami se zastoupení dědičných forem liší a např. u karcinomu ovaria představují až 25 % [2]. Pro nastavení správné péče o pacienty s hereditárními nádorovými onemocněními a jejich příbuzné je nezbytná správná identifikace příčinné patogenní varianty, která má jasný prognostický, ale často i prediktivní význam [3]. Za klinicky významné v současnosti považujeme varianty/geny, u nichž riziko vzniku onemocnění (odds ratio – OR) přesahuje dvojnásobek rizika běžné populace ($OR > 2$). Geny/varianty se střední penetrancí jsou spojeny s rizikem v intervalu $OR = 2–4$. Přesahuje-li riziko vzniku onkologického onemocnění $OR \geq 4$, hovoříme o genech s vysokou penetrancí. Termín „penetrance“ prakticky charakterizuje podíl jedinců, kteří vyvinou určité nádorové onemocnění z celkového počtu všech nosičů hodnocené varianty (box 1).

Box 1.

Pro správnou interpretaci celkového (celoživotního) rizika je nezbytné konkretizovat OR s ohledem na výskyt sledovaného nádorového onemocnění v běžné populaci. Riziko vzniku karcinomu prsu u nosiček patogenních variant v genu BRCA1 je $OR = 6–8$. Protože celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu běžné populace žen ve věku 50 let dosahuje v ČR přibližně 10 %, vyplývá z toho, že celoživotní riziko stejně staré nosičky patogenní varianty v genu BRCA1 je 60–80 %. Muž, nosič patogenní varianty v genu BRCA1 má ve srovnání s nenosičem riziko pro vznik karcinomu prsu mnohem vyšší $OR = 20–30$. Protože však celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu v běžné populaci mužů je 0,1 %, celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu u mužských nosičů BRCA1 mutace bude stále „pouze“ 2–3 %.

V současné době všechny klinicko-genetické laboratoře u nás využívají ke genetickému testování pacientů s hereditárními nádorovými onemocněními sekvenování nové generace (next generation sequencing – NGS). NGS umožňuje identifikaci variant v mnoha cílových úsecích DNA v definovaném souboru vybraných genů (při panelovém sekvenování), nebo v celém exomu (souboru všech genů kódujících proteiny při celoexomovém sekvenování), či v genomu (při celogenomovém sekvenování analyzujícím veškerou jadernou

DNA). Technologie NGS je založena na masivně paralelním sekvenování, tedy analýze mnoha (milionů) cílových úseků najednou [4]. Neustálé zvyšování kapacity a zlevňování NGS umožňuje jednoduše rozšiřovat spektrum vyšetřovaných genů. To se ukázalo jako významný krok k zjištění mnohem rozmanitějšího fenotypového spektra nosičů patogenních variant v nádorových predispozičních genech, než tomu bylo v dobách testování jednotlivých genů vycházejícího z analýz omezeného počtu typických rodin nosičů patogenních variant v hlavních predispozičních genech [5]. Rozšíření panelů tak dále přispívá ke zvyšování počtu genů s potvrzenou klinickou relevancí [3].

Na druhou stranu s tím souvisí také neustálé zvyšování počtu identifikovaných genetických variant, které zahrnují všechny odchylky od referenční sekvence. Nalezené varianty mohou být jasně klinicky hodnotitelné, ale často se jedná o varianty s nejasným klinickým významem (variant of uncertain significance – VUS), u kterých nejsme schopni kvalifikovaně potvrdit, že se tyto varianty podílejí na vzniku onemocnění, ani vyloučit, že se na vzniku onemocnění nepodílejí. Přítomnost VUS značně ztěžuje klinickou interpretaci výsledků NGS a výtežnost genetického vyšetření [6].

Robustní, rychlá a přesná analýza variant, jejich správná klasifikace a interpretace asociovaného rizika onemocnění má zásadní význam pro efektivní poskytování výsledků genetického tes-

tování. Konsenzuální klasifikace pak zajišťuje konzistenci výstupů genetického testování mezi pracovišti v celé republice. Snaha o konzorciální spolupráci na národní úrovni probíhá v mnoha zemích [7–10]. Koncept sdílení variant je začleněn do tzv. best-practice guidelines [11]. Vytvoření procesu jednotné klasifikace variant na úrovni spolupráce pracovišť sdružených v konzorcium Czech Cancer Panel for Clinical Application (CZECANCA) v rámci národní laboratorně diagnostické komunity v ČR je tedy důležitým příspěvkem ke standardizaci výsledků genetického testování nádorové predispozice.

Konzorcium CZECANCA

Konzorcium CZECANCA je dobrovolné uskupení pracovišť zabývajících se klinickou onkogenetikou. K diagnostice nádorové predispozice využívají spolupracující pracoviště převážně panel CZECANCA, který vznikl v roce 2015 jako diagnostický nástroj spolehlivého a rentabilního NGS vyšetření širokého spektra genů u pacientů s nádorovou predispozicí v ČR [12,13]. Panel CZECANCA prošel v průběhu doby vývojem ovlivněným rozšiřujícím se portfoliem predispozičních genů i změnami v technologické přípravě. V současné podobě obsahuje 226 nádorových predispozičních a kandidátních genů a lze jej rozšířit i o analýzu polygenního rizika, jakmile vyvstane klinická poptávka [14]. Použití širokého panelu umožňuje charakterizovat nové nádorové predispoziční geny či možnou manifestaci již známých nádorových predispozičních genů u pacientů s doposud neasociovanými typy onkologických onemocnění. Použití jednotného panelu není podmínkou členství v konzorcium CZECANCA, na rozdíl od sdílení anonymizovaných NGS dat analyzovaných osob doplněných o základní klinicko-patologické charakteristiky sloužící pro tvorbu společné konzorciální databáze.

Postup NGS analýzy je mezi pracovišti v rámci konzorcia do značné míry sjednocen, což umožňuje i sjednocovat a standardizovat výsledky genetických analýz. Bioinformatická analýza NGS dat pro identifikaci variant je pro diagnostické účely realizována jednotlivými pracovišti dle vlastních postupů, avšak pro tvorbu společné frekvenční databáze CZECANCA je prováděna dle jednotného publikovaného postupu [12,13]. Databáze neobsahuje žádná individuální data jednotlivých pacientů, ale pouze údaje o kumulativní frekvenci nosičů dané varianty v souborech pacientů s různými onkologickými diagnózami v zapojených diagnostických centrech, v souborech kontrol z mezinárodních databází a v databázích kontrolních osob z české populace.

Databáze variant je pravidelně aktualizována v Laboratoři onkogenetiky Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky (ÚLBD) 1. LF UK a VFN v Praze, kde rovněž probíhá analýza populačně specifických kontrol, která je důležitým prvkem pro detekci národních (populačně specifických) genetických variant. Databáze je k dispozici všem spolupracujícím centřům pro jejich interní využití při hodnocení variant nalezených u jimi vyšetřovaných pacientů.

Kromě klinických pracovišť se na komplexním hodnocení variant podílí i laboratoře výzkumné v rámci spolupráce a grantových projektů. Výzkumná část Laboratoře onkogenetiky ÚLBD 1. LF UK a VFN v Praze zajišťuje hodnocení variant ovlivňujících sestřih pomocí NGS analýzy mRNA. Pod vedením Oddělení biologie nádorové buňky Ústavu molekulární genetiky AV ČR probíhají studie zaměřené na charakterizaci vybraných VUS pomocí *in vitro* funkčních analýz [15–17]. Aktivita národního konzorcia jsou koordinovány s mezinárodními konzorcii (ENIGMA, CIMBA, BCAC, OCAC), což je důležitým předpokladem pro identifikaci rizik spojených s nosičstvím velmi vzácných variant i pro konsenzuální hodnocení variant ve světě.

Konzorcium CZECANCA organizuje pravidelná setkání svých členů od roku 2016. Od roku 2021 probíhají setkání společně s Pracovní skupinou onkogenetiky Společnosti lékařské genetiky (SLG) ČLS JEP, sdružující členy SLG se zájmem o tuto problematiku. Program setkání se v průběhu času proměňuje. Zatímco v počátcích byly řešeny hlavně otázky spojené s laboratorním zpracováním vzorků a bioinformatickou analýzou, v současné době dominují témata klasifikace variant,

rozsahu reportovaných genů a souvisejících klinických doporučení. Zapojená pracoviště se tak společně podílejí na vytvoření národního konsenzu týkajícího se jednotné klasifikace identifikovaných variant a rozsahu genů reportovaných indikujícím lékařům při vyšetření nádorové predispozice a na přípravě klinických doporučení pro nosiče klinicky relevantních germinálních variant.

Klasifikace nalezených germinálních variant

Bioinformatická analýza primárních NGS dat z panelu CZECANCA odhalí přítomnost několika set až tisíce variant u každého pacienta, v nichž je nezbytné vyhledat nebo vyloučit přítomnost případné patogenní varianty, zodpovědné za vznik onemocnění. Proces filtrace na soubor kandidátních variant se obvykle označuje jako prioritizace a zohledňuje řadu aspektů, především vyloučení částých (tedy funkčně i klinicky bezvýznamných) variant vyskytujících se v dostupných mezinárodních databázích či v souborech českých populačních kontrol. Po prioritizaci se počet dále hodnocených variant zúží na jednotky až nízké desítky kandidátních variant.

Dalším krokem je klasifikace kandidátních variant v rámci laboratorní zprávy určené klinickému genetikovi, zajišťující, že ve výsledné zprávě pro ošetřujícího lékaře budou reportovány (byly-li nalezeny) pouze klinicky relevantní varianty modifikující riziko vzniku onemocnění, jeho léčbu či péči o pacienta, případně jeho příbuzné. Klasifikace nalezených variant je stěžejním, a i jedním z nejobtížnějších kroků procesu genetického vyšetření. Klasifikovány jsou nejen standardně anotované jednonukleotidové záměny a krátké delece/inzerce, ale i středně dlouhé inzerce/delece (> 50 bp) a tzv. copy number variations (CNV) – intragenové a intergenové delece/duplikace. Klasifikace nalezených variant probíhá samostatně v rámci jednotlivých pracovišť v ČR na základě doporučení American College of Medical Genetics (ACMG) poskytujících pro jednotnou klasifikaci variant obecný rámec a srovnání s databází ClinVar (viz dále).

Základem současné klasifikace variant je tedy pětiletá klasifikace dle

Tab. 1. Klasifikace identifikovaných variant dle biologického významu.

Třída	Biologický význam	Pravděpodobnost patogenity varianty	Zpráva indikujícímu lékaři
třída 1	benigní	< 0,1 %	nereportovány
třída 2	pravděpodobně benigní	0,1–9,9 %	nereportovány
třída 3	nejasný význam (VUS)	10–89,9 %	reportovány u genů vyžádaných indikujícím lékařem
třída 4	pravděpodobně patogenní	90–99,9 %	reportovány
třída 5	patogenní	> 99,9 %	reportovány

VUS – varianta s nejasným klinickým významem

ACMG (tab. 1), která rozděluje varianty na základě pravděpodobnosti patogenity – příčinné souvislosti přítomnosti varianty se vznikem konkrétního fenotypu (v našem případě s rozvojem konkrétního typu onkologického onemocnění) [18,19].

Varianty třídy 4 a 5 zahrnují varianty s pravděpodobností patogenity $\geq 90\%$ resp. $\geq 99,9\%$. Varianty třídy 4 a 5 v klinicky relevantních nádorových predispozičních genech (geny s vysokou až střední penetrancí) jsou zodpovědné za riziko vzniku konkrétního onkologického onemocnění a jsou vždy reportovány indikujícímu lékaři. Z klinického úhlu pohledu není žádný rozdíl mezi nosičem varianty třídy 4 a třídy 5. Na základě mezinárodních a národních doporučení by měly být reportovány varianty třídy 4/5 i v některých dalších klinicky významných testovaných genech, které nesouvisí s primárním účelem testování (tzv. neočekávaný nález). Jedná se o varianty, jejichž přítomnost ovlivňuje péči o nosiče těchto variant či jejich rodiny, kteří z této znalosti mohou profitovat. Reportování neočekávaných nálezů je předmětem živých diskuzí a proto zatím neprobíhá zcela konsenzuálním způsobem (box 2).

Varianty třídy 3 představují VUS. Pravděpodobnost jejich patogenity se pohybuje v rozmezí 10–90 %. S ohledem na velmi široký interval patogenity, tedy i vysokou míru neurčitosti, nejsme schopni u VUS určit jejich klinický význam pro péči u pacientů a jejich příbuzných. Obvykle jsou VUS reportovány pouze v genech s jasným vztahem k fenotypu testovaného jedince.

(Pozn. odlišný přístup k významu VUS variant mohou mít analýzy somatických variant, protože jejich přítomnost ve vyšetřovaných vzorcích nádoru může reprezentovat přítomnost varianty pro cílenou léčbu).

Varianty třídy 1 a 2 (pravděpodobnost patogenity < 10 % pro třídu 2, < 0,1 % pro třídu 1) nemají žádný klinický význam a reportovány nejsou.

Varianty v genech, jejichž proteinové produkty se podílejí na metabolismu léčiv (např. *DPYD*) [20], jsou klasifikovány jako „drug response“. Varianty, které poškozují funkci takového kódovaného proteinu a mají vliv na vznik závažné toxicity po podání příslušného léku, jsou reportovány indikujícímu lékaři.

Box 2.

U nosičů varianty třídy 4/5 v klinicky relevantních nádorových predispozičních genech je možné se vyjádřit pouze k riziku (rizikům) vzniku onkologického onemocnění, která jsou prokazatelně spojena s jejich s nosičstvím, a která jsou ovlivněna penetrancí dané varianty:

*Přítomnost varianty třídy 5 v genu *BRCA1* znamená pro nosičku > 99,9% pravděpodobnost, že její celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu dosáhne 80 %.*

*Přítomnost varianty třídy 5 v genu *CHEK2* znamená pro nosičku > 99,9% pravděpodobnost, že její celoživotní riziko vzniku karcinomu dosáhne 30 %.*

*Přítomnost varianty třídy 5 v genu *DPYD* vypovídá s > 99,9% pravděpodobností o riziku vzniku toxicity po podání fluoropyrimidinů, ale nevypovídá*

nic o riziku onkologického onemocnění, tedy není z hlediska karcinomu prsu klinicky významná, ale může ovlivnit péči o pacienta (v případě jeho léčby).

*Přítomnost varianty třídy 5 v genu *BLM* znamená, že nosič dvou takovýchto variant (homozygot nebo složený heterozygot) vyvine s > 99,9% pravděpodobností Bloomův syndrom (vzácné autozomálně recesivní onemocnění), ale podíl nosičství jedné této varianty na vzniku karcinomu prsu je zcela nejasný a s onemocněním nemusí souviset vůbec.*

ACMG doporučení zohledňují řadu parametrů (např. vliv varianty na strukturu a funkci kódovaného proteinu, frekvence varianty v populaci, *in silico* predikce, funkční analýzy, databáze, publikace), přičemž váha těchto parametrů pro konečnou klasifikaci varianty se liší [18]. Pro některé geny byla vytvořena modifikovaná ACMG doporučení, jež zohledňují jejich specifika (např. *TP53*, *ATM*) [21,22]. Jakkoliv jsou ACMG kritéria pro klasifikaci variant jednotlivými platformami se snahou o objektivizaci klasifikace genetických nálezů, subjektivní hodnocení klasifikačních parametrů může vést k diskrepantnímu hodnocení variant mezi jednotlivými pracovišti.

Nejpoužívanějším podkladem pro klasifikaci je veřejně dostupná databáze ClinVar shromažďující varianty identifikované různými klinickými a výzkumnými laboratořemi z celého světa doplněné o komentář k jejich klasifikaci. Při využití hodnocení variant z databáze ClinVar je však potřeba mít na zřeteli spolehlivost hodnocení vyjádřenou

Tab. 2. Význam označení relevance (počet *) klasifikace variant v databázi ClinVar.

Počet *	Způsob hodnocení
žádná	varianta bez uvedení rozhodovacích kritérií klasifikace
*	varianta hodnocená jediným pracovištěm, nebo více pracovišti s konfliktní klasifikací
**	varianta hodnocená více pracovišti, s konsenzní klasifikací a poskytnutými kritérii klasifikace
***	varianta hodnocená více pracovišti, s konsenzní klasifikací a přezkoumáním expertním panelem
****	viz *** vč. uvedení praktických pokynů pro klinická doporučení

počtem hvězdiček (*). Počet hvězdiček vyjadřuje míru relevance, která vzniká v poměrně složitém procesu hodnocení variant expertními panely nebo odbornými společnostmi/konzorcii (tab. 2).

Existují další zdroje, např. iniciativa ClinGen, jako nadstavba databáze ClinVar, poskytující navíc informaci o relevanci testovaných genů k fenotypu pacienta. Řada dalších databází a platform (BRCA Exchange, LOVD, IARC) shromažďuje informace o nalezených variantách vč. jejich klasifikace nejen u pacientů s dědičnými nádorovými onemocněními.

Klasifikace variant dle jejich vlivu na funkci kódovaného proteinu je pouze první úroveň při interpretaci výsledků genetického vyšetření. Pro výslednou interpretaci varianty je vždy nutné individuálně zohlednit nejen vliv dané varianty na biologickou funkci proteinu, ale také vztah varianty k fenotypu, zahrnující penetranci, riziko (OR) a konkordanci (souvislost výskytu patogenní varianty s přítomností typického onkologického onemocnění). Penetrance variant třídy 4/5 se mezi geny výrazně liší (viz výše). Ovšem může se lišit i v rámci jednoho genu. Příkladem je „missense“ varianta v genu *BRCA1*:c.5096G>A, p.(Arg1699Gln), která je v databázi ClinVar vedena jako patogenní, nicméně celoživotní riziko vzniku karcinomu prsu u jejích nosičů dosahuje ~20 % (spadá do kategorie variant se střední penetrancí) [23] a je tak významně nižší než riziko spojené s ostatními jasně patogenními (a vysoce penetrantními) variantami v genu *BRCA1* s celoživotním rizikem vzniku karcinomu prsu 60–80 % [24]. Rovněž je potřeba brát v potaz typ dědičnosti. Zatímco bíalelické patogenní varianty v genu *MUTYH* jsou spojeny s vysokým

rizikem (70–90 %) vzniku kolorektálního karcinomu (colorectal cancer – CRC), heterozygotní mutace v tomto genu zvyšují riziko CRC pouze mírně (6–13 %) [25]. Management nosičů se následně odvíjí od výše rizik spojených s nosičstvím identifikované varianty v kontextu osobní a rodinné anamnézy.

Tvorba národního konsenzu klasifikace germinálních variant

Klasifikace variant do tříd má zásadní dopad na péči o pacienty. Pro dosažení společného národního konsenzu v rámci konzorcia CZEKANCA byla stanovena pevná pravidla. Varianty ve společné databázi jsou nejprve individuálně hodnoceny jednotlivými (osmi) pracovišti. Pro dosažení konsenzuální klasifikace je nutné, aby byly varianty hodnoceny alespoň třemi centry v rámci konzorcia. Konsenzus je stanoven přímo pokud: 1) varianta získá hodnocení s úplnou shodou, alespoň od 3 center; 2) pokud u varianty převažuje shodné hodnocení, alespoň od 4 center, a přitom s rozdílem klasifikace maximálně o 1 třídu ve smyslu 1/2 nebo 4/5. V případě diskrepantních hodnocení jsou varianty postoupeny k diskusi komisi složené ze tří vybraných zástupců hodnotitelů variant z různých pracovišť, která se snaží dosáhnout společného konsenzu v hodnocení. Výsledný konsenzus u takových variant je podroben zpětné opo-
nentuře všemi centry. V případě neshody v rámci komise a v případě diskrepantních hodnocení s rozdílem dvou a více tříd s hodnocením přecházející přes třídu 3, tedy rozdíl ovlivňující klinickou péči (např. třídy 2–4, 3–5) jsou varianty diskutovány plénem v rámci setkání konzorcia (schéma 1).

Výsledky národní klasifikace jsou pravidelně (~ 1× ročně) porovnávány s da-

tabází ClinVar a rozdílná hodnocení jsou posouzena komisí. V případě změny klasifikace na základě nejnovějších poznatků jsou informována všechna pracoviště a nové hodnocení upraveno v nejnovější verzi frekvenční databáze. V případě změny klasifikace varianty vedoucí ke změně péče o nosiče (reklasifikace variant třídy 3 na varianty třídy 4/5 nebo obráceně) je dodatečně vydána zpráva lékaři, který indikoval nosiče takovéto varianty ke genetickému testování. V současné době jsou konsenzuálně klasifikované varianty v rámci konzorcia CZEKANCA vkládány do databáze ClinVar pouze epizodicky, kompletní sdílení variant je připravováno.

CZEKANCA databáze verze 5.0 obsahuje výsledky vyšetření 10 480 pacientů s nádorovými onemocněními a 791 osob ze skupiny nenádorových kontrol. Celkem bylo nalezeno 77 812 různých sekvencí variant zárodečné DNA. Z nich se 26 874 vyskytovalo v kódujících exonových a přilehlých intronových oblastech. Pro tvorbu konsenzu bylo doposud (k 31. 5. 2023) klasifikováno 20 genů asociovaných se syndromem hereditárního karcinomu prsu a ovaria a genů Lynchova syndromu: *ATM*, *BARD1*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRIP1*, *CDH1*, *EPCAM*, *CHEK2*, *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *MUTYH*, *NBN*, *PALB2*, *PMS2*, *PTEN*, *RAD51C*, *RAD51D*, *STK11* a *TP53*. Hodnocení se účastnilo 8 pracovišť.

Ve výše uvedených genech bylo celkem přítomno 9 797 variant. Z nich se 3 428 vyskytovalo v kódujících exonových a přilehlých intronových oblastech. Alespoň jedním pracovištěm bylo hodnoceno 3 190 (93,1 %) variant. Alespoň třikrát bylo hodnoceno 2 017 (58,8 %) variant a 1 411 variant bylo hodnoceno pouze nedostatečným počtem pracovišť (graf 1).

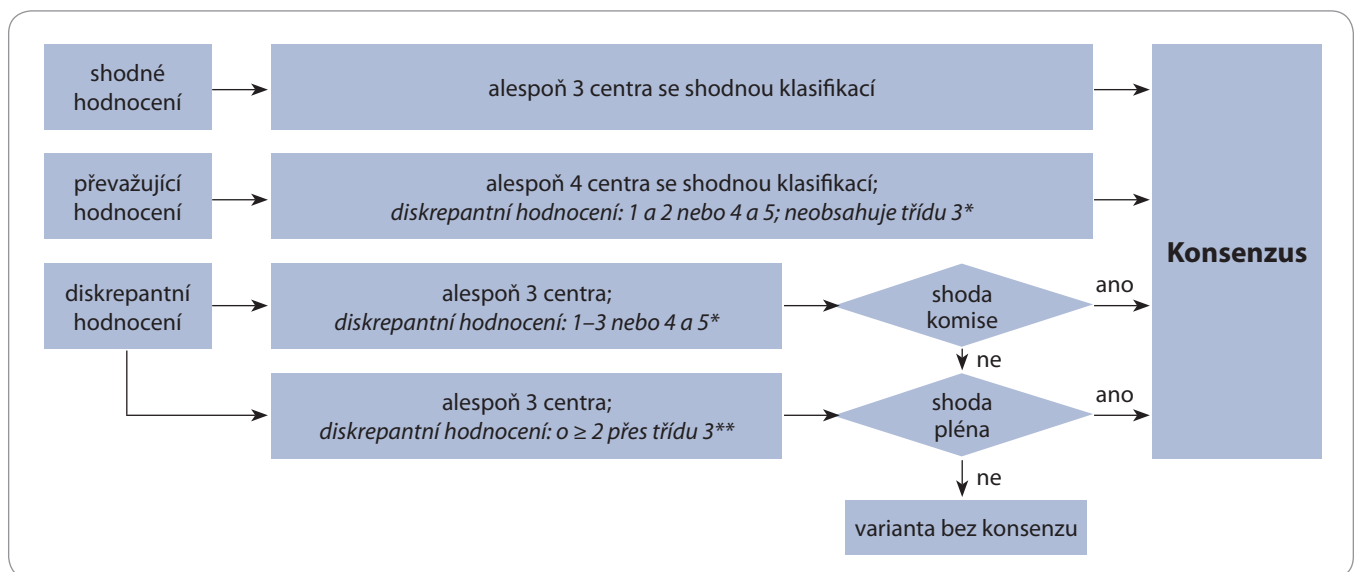
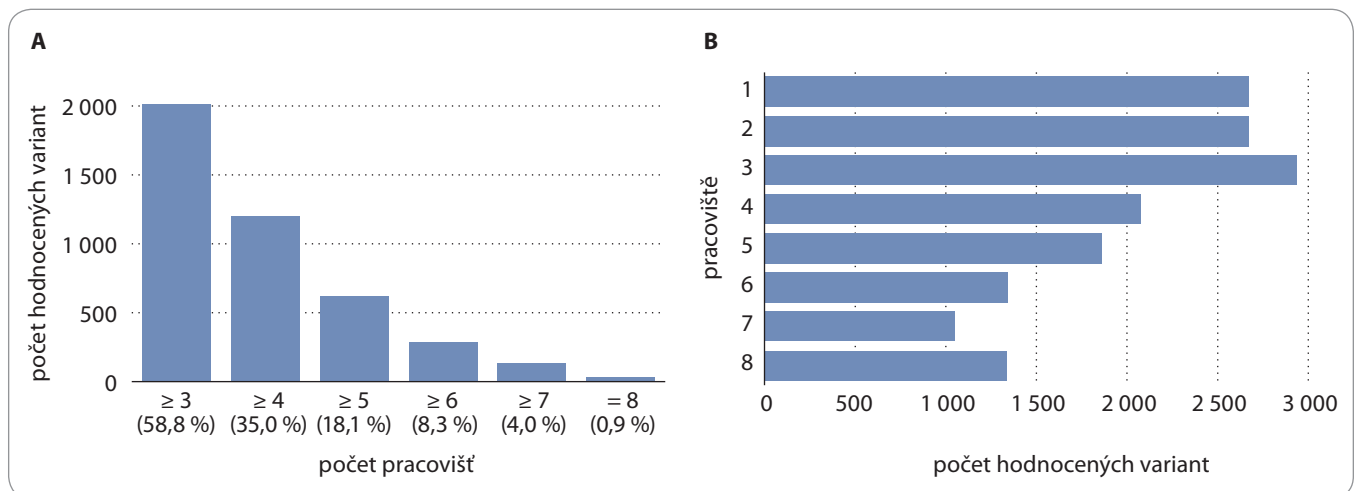


Schéma 1. Schéma tvorby společného konsenzu klasifikace nalezených germinálních variant v rámci všech spolupracujících laboratoří konzorcia Czech Cancer Panel for Clinical Application (CZECANCA).

* bez vlivu na péči o pacienta (a jeho příbuzné); ** ovlivňuje péči o pacienta (a jeho příbuzné)



Graf 1. Celkový počet hodnocených variant byl 3 428. A) Procentuální zastoupení variant dle počtu hodnotících pracovišť; B) počet hodnocených variant jednotlivými pracovišti. (Databáze CZE v.5.0; květen 2023).

Konsenzu bylo dosaženo přímo u 1 858 z 2 017 variant (92,1 %). Ke komisionálnímu hodnocení konsenzu bylo postoupeno 159 variant (7,9 %). Většinou se jednalo o nesouhlasné hodnocení ve smyslu tříd 1–2, 2–3, 1–3, nebo 4–5, které řešilo jednání hodnotící komise. V osmi případech se hodnocení lišilo o více než dvě třídy a přesahovalo třídu 3. Celkem jedenáct variant (osm přes třídu 3, tři bez shody v rámci komise) bylo diskutováno na společném setkání uživatelů.

V konečném konsenzu bylo klasifikováno 2 005 z 2 017 variant hodnocených dostatečným počtem členů (spolupa-

cujících pracovišť) národního konzorcia. Dvanáct „missense“ variant nebylo zatím klasifikováno, vzhledem k diskordantním výsledkům funkčních analýz [16,17] a klasifikaci v databázi ClinVar.

V konečném konsenzu se podařilo přiřadit hodnocení s jasným klinickým významem (bez VUS) u 1 170 (58,4 %) variant. Z toho 771 (38,5 %) zařadit do tříd 1/2 a 399 (19,9 %) do tříd 4/5. Po zvážení všech dostupných informací ovšem stále zůstává 835 (41,6 %) variant klasifikovaných do třídy 3 (VUS) (graf 2).

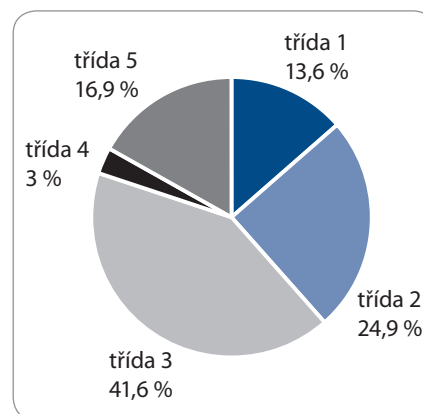
Nejčastěji se hodnocení s nejasným klinickým významem vyskytují u vzác-

ných „missense“ variant a dále u variant v přilehlých intronových oblastech mimo konsenzní sestřihová místa $\pm 1/2$, u nichž vliv na sestřih mRNA bez její analýzy lze na základě nepřesných predikčních algoritmů hodnotit pouze orientačně. Mezi geny s nejmenším zastoupením VUS patří geny *BRCA1* (21,2 %) a *BRCA2* (26,9 %), které jsou nejdéle spojovány s hereditární nádorovou predispozicí a jimž hodnocení je dlouhodobě věnováno velké úsilí. Naopak největší zastoupení VUS se vyskytuje v genech velkých (*ATM* – 58,1 %) a v genech, kterým je v rámci nádorové

predispozice pozornost věnována kratší dobu (*RAD51D* – 63,2 %, *CHEK2* – 58,2 %, *NBN* – 55,2 % a *BARD1* – 54,2 %) (graf 3). Takové varianty představují problém v klinické interpretaci nálezů. V rámci spolupráce s mezinárodními konzorciemi panuje obrovská snaha VUS varianty funkčně charakterizovat a následně klasifikovat do jasně klinicky interpretovatelných tříd 1/2 (bez klinického významu) nebo 4/5 (s jasným klinickým dopadem) [16,26,27].

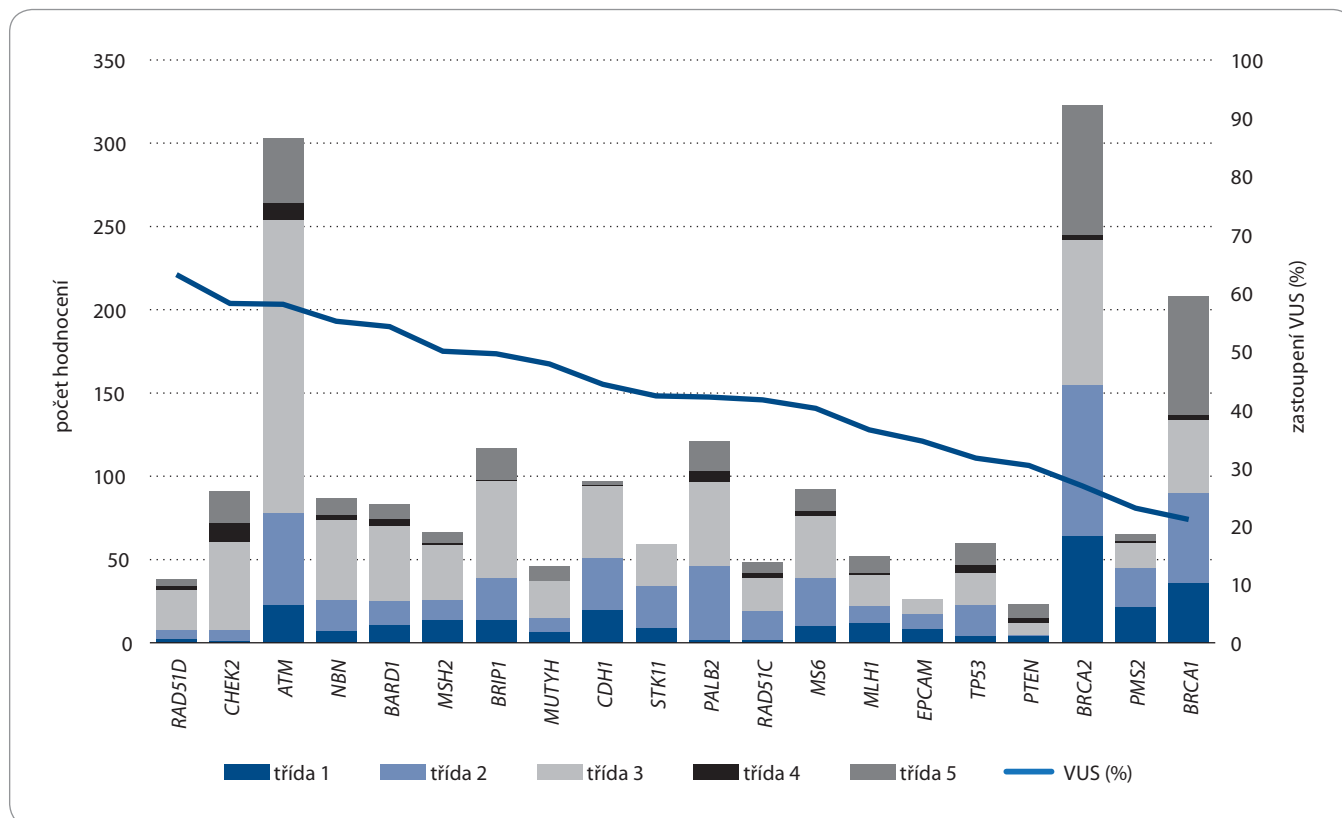
Z 2 005 variant klasifikovaných CZE-CANCA konzorciem není přítomno v databázi ClinVar 284 variant (k 31. 5. 2023), vč. 80 klinicky významných variant klasifikovaných do tříd 4/5. Další 353 variant má konfliktní hodnocení, vč. 18 klinicky významných variant klasifikovaných do tříd 4/5. Ze zbylých 1 370 variant s jasnou klasifikací v databázi ClinVar jsme ve velké většině (99 %) dospěli ke stejné klasifikaci, pouze u 17 variant se klasifikace liší, v 15 případech na úrovni změny mezi třídami 2 a 3, tedy bez vlivu na péči o pacienta (graf 4).

Ve dvou případech se jednalo o klinicky významnou změnu mezi třídami 3 a 4: varianta v genu *MLH1:c.1897-2A>G* je hodnocena jako třída 4 expertní skupinou International Society for Gastrointestinal Hereditary Tumours (InSiGHT) z roku 2019 pouze na základě postižení konsenzního sestřihového místa, ovšem bez provedené analýzy RNA. Databáze ale obsahuje dalších 5 záznamů hodnotících variantu jako třída 3. To podporuje i naše analýza RNA, která sice potvrdila alteraci sestřihu *MLH1* mRNA, avšak vedoucí k retenci tří nukleotidů způsobujících vložení jedné aminokyseliny do oblasti proteinu neobsahující žádnou známou funkční ani interakční doménu. Naopak, varianta *MLH1:c.2252_2253dup* je hodnocena skupinou InSiGHT z roku 2019 jako třída 3 bez dodatečných komentářů. Nicméně, databáze dále obsahuje další čtyři hodnocení jako třída 4 vč. odkazů na funkční analýzy potvrzující dopad na strukturu a funkci proteinu. Tyto příklady naznačují nezbytnost pečlivé kontroly hodnocení v databázi ClinVar.



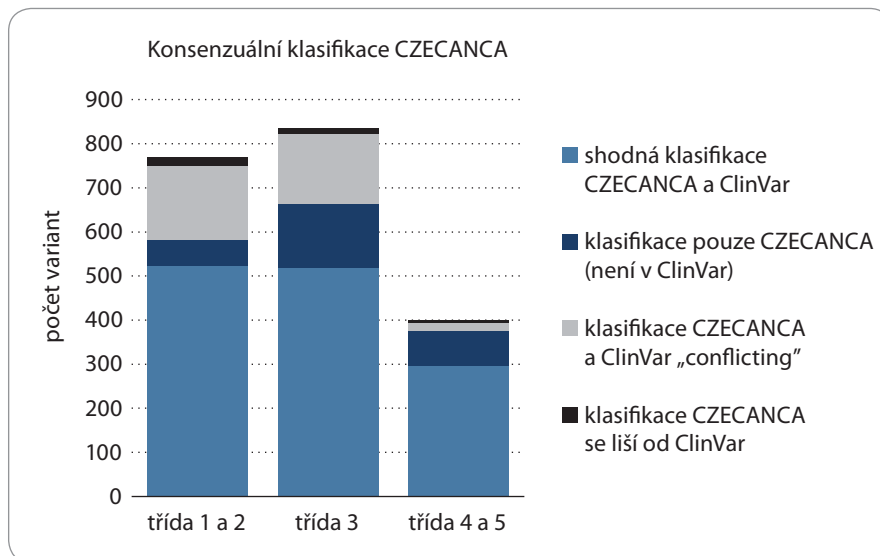
Graf 2. Zastoupení jednotlivých hodnocení dle tříd v konečném konsenzu v databázi CZE v.5.0 (květen 2023).

Při klasifikaci variant je z hlediska frekvence variant v populaci nejčastěji využívaným zdrojem databáze GnomAD (The Genome Aggregation Database) databáze zahrnující exomová a genomová data z mezinárodních rozsáhlých sekvenčních projektů. V této frekvenční databázi není přítomno 688 dosud námi



Graf 3. Zastoupení jednotlivých hodnocení dle genů (sloupcový graf) a zastoupení variant třídy 3 (VUS, %) v jednotlivých genech v databázi CZE v.5.0 (květen 2023).

VUS – varianty s nejasným klinickým významem



Graf 4. Srovnání počtů hodnocení v databázi ClinVar a v rámci konsenzu v databázi CZE v.5.0 (květen 2023). CZEKANCA – Czech Cancer Panel for Clinical Application

klasifikovaných variant, vč. 254 klinicky významných variant klasifikovaných jako třídy 4/5. Naopak frekvence některých populačně-specifických patogenních variant může být v GnomAD poměrně vysoká. Např. jasně patogenní varianta v genu *CHEK2*:c.1100del má v této databázi frekvenci > 0,2 % (databáze je obohacena o populace, kde je tato varianta nejčastější). Frekvence řady variant se tedy mezi populacemi může významně lišit, příkladem může být patogenní (founder) varianta v genu *NBN*:c.657_661del (označovaná také jako c.657del5), jejíž maximální frekvence v databázi GnomAD je v evropské populaci (mimo finské) 0,04 %, zatímco frekvence této varianty v české kontrolní populaci je 0,2 %.

Společný konsenzus je tak důležitým nástrojem i pro klasifikaci populačně-specifických variant, které nelze najít v mezinárodních multipopulačních databázích nebo jsou v jednotlivých populacích zastoupeny s různou frekvencí.

Klasifikace variant v rámci konzorcia CZEKANCA neustále probíhá, s každou další verzí frekvenční databáze přibývají hodnocení nových genů a variant. Změna klasifikací a následně i klinického významu bude jistě procházet dynamickým vývojem i nadále dle neustálého posouvání nejnovějšího poznání. Proto je nezbytná i průběžná zpětná kontrola již hotových hodnocení.

Závěr

Národní spolupráce v rámci konzorcia CZEKANCA umožňuje komplexní přístup k vyšetření nádorové predispozice u nejčastějších solidních nádorů dospělého věku. Společný postup a sdílení výsledků při hodnocení germinálních variant zvyšuje uniformitu výsledků genetických analýz a snižuje výskyt chyb napříč diagnostickými centry v ČR a současně šetří čas hodnotících pracovníků. Konsenzuální přístup ke klasifikaci nálezů variant zkvalitňuje reportování laboratorních nálezů, které je nezbytné pro efektivní a optimální péči o pacienty s nádorovými onemocněními a jejich příbuzné.

Dalším cílem konzorciální spolupráce bude vytvořit národní konsenzus týkající se rozsahu genů reportovaných při vyšetření nádorové predispozice laboratořemi indikujícím klinickým genetikům. V rámci konzorcia shoda zatím nepanuje, nicméně je nezbytná pro další zlepšení a sjednocení genetického testování v rámci celé ČR. V procesu je také tvorba konsenzu týkajícího se klinických doporučení v péči o nosiče patogenních variant v nádorových predispozičních genech, jehož tvorba probíhá v rámci široké platformy klinických lékařů z různých oborů, kteří se podílejí na péči o tyto vysoce rizikové osoby. Jakkoliv došlo v oblasti genetického testování

nádorové predispozice v ČR k obrovskému pokroku a v mezinárodním měřítku je naprosto srovnatelné, obrovskou výzvou bude naprosto nedostatečná kapacita ambulancí poskytujících péči nosičům patogenních variant v nádorových predispozičních genech.

Poděkování

Rádi bychom poděkovali všem členům konzorcia CZEKANCA.

Podporující agentury a sponzoři:

Práce byla realizována za podpory grantů Agentury pro zdravotnický výzkum MZČR NU20-03-00285, NU20-03-00016, NU20-09-00355, projektu MŠMT LM2023067 a projektů Karlovy Univerzity SVV260631 a COOPERATIO.

Literatura

- Kulkarni A, Carley H. Advances in the recognition and management of hereditary cancer. *Br Med Bull* 2016; 120(1): 123–138. doi: 10.1093/bmb/ldw046.
- Lhotova K, Stolarova L, Zemankova P et al. Multigene panel germline testing of 1333 Czech patients with ovarian cancer. *Cancers (Basel)* 2020; 12(4): 956. doi: 10.3390/cancers12040956.
- Turnbull C, Sud A, Houliston RS. Cancer genetics, precision prevention and a call to action. *Nat Genet* 2018; 50(9): 1212–1218. doi: 10.1038/s41588-018-0202-0.
- Bewicke-Copley F, Kumar EA, Palladino G et al. Applications and analysis of targeted genomic sequencing in cancer studies. *Comput Struct Biotechnol J* 2019; 17: 1348–1359. doi: 10.1016/j.csbj.2019.10.004.
- Walsh T, Lee MK, Casadei S et al. Detection of inherited mutations for breast and ovarian cancer using genomic capture and massively parallel sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107(28): 12629–12633. doi: 10.1073/pnas.1007983107.
- Plon SE, Eccles DM, Easton D et al. Sequence variant classification and reporting: recommendations for improving the interpretation of cancer susceptibility genetic test results. *Hum Mutat* 2008; 29(11): 1282–1291. doi: 10.1002/humu.20880.
- Fokkema IFAC, van der Velde K, Slofstra MK et al. Dutch genome diagnostic laboratories accelerated and improved variant interpretation and increased accuracy by sharing data. *Hum Mutat* 2019; 40(12): 2230–2238. doi: 10.1002/humu.23896.
- Garrett A, Callaway A, Durkie M et al. Cancer Variant Interpretation Group UK (CanVIG-UK): an exemplar national subspecialty multidisciplinary network. *J Med Genet* 2020; 57(12): 829–834. doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106759.
- Wappenschmidt B, Hauke J, Faust U et al. Criteria of the German consortium for hereditary breast and ovarian cancer for the classification of germline sequence variants in risk genes for hereditary breast and ovarian cancer. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2020; 80(4): 410–429. doi: 10.1055/a-1110-0909.
- Tudini E, Andrews J, Lawrence DM et al. Shariant platform: enabling evidence sharing across Australian clinical genetic-testing laboratories to support variant interpretation. *Am J Hum Genet* 2022; 109(11): 1960–1973. doi: 10.1016/j.ajhg.2022.10.006.
- Acmg Board Of Directors. Laboratory and clinical genomic data sharing is crucial to improving genetic health care: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med* 2017; 19(7): 721–722. doi: 10.1038/gim.2016.196.

12. Soukupová J, Zemánková P, Kleiblová P et al. CZE-CANCA: CZEch CAncer paNel for Clinical Application – design and optimization of the targeted sequencing panel for the identification of cancer susceptibility in high-risk individuals from the Czech Republic. *Klin Onkol* 2016; 29(Suppl 1): S46–54. doi: 10.14735/amko2016s46.
13. Soukupová J, Zemanková P, Lhotová K et al. Validation of CZE-CANCA (CZEch CAncer paNel for Clinical Application) for targeted NGS-based analysis of hereditary cancer syndromes. *PLoS One* 2018; 13(4): e0195761. doi: 10.1371/journal.pone.0195761.
14. Hovhannisyan M, Kleiblová P, Nehasil P et al. Polygenic risk score (PRS) and its potential for breast cancer risk stratification. *Klin Onkol* 2023; 36(3): 198–205. doi: 10.48095/ccko2023198.
15. Stolarova L, Kleiblova P, Janatova M et al. CHEK2 germline variants in cancer predisposition: stalemate rather than checkmate. *Cells* 2020; 9(12): 2675. doi: 10.3390/cells9122675.
16. Stolarova L, Kleiblova P, Zemankova P et al. ENIGMA CHEK2gether project: a comprehensive study identifies functionally impaired CHEK2 germline missense variants associated with increased breast cancer risk. *Clin Cancer Res* 2023; 29(16): 3037–3050. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-23-0212.
17. Kleiblova P, Stolarova L, Krizova K et al. Identification of deleterious germline CHEK2 mutations and their association with breast and ovarian cancer. *Int J Cancer* 2019; 145(7): 1782–1797. doi: 10.1002/ijc.32385.
18. Richards S, Aziz N, Bale S et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association of Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17(5): 405–424. doi: 10.1038/gim.2015.30.
19. Spurdle AB, Greville-Heygate S, Antoniou AC et al. Towards controlled terminology for reporting germline cancer susceptibility variants: an ENIGMA report. *J Med Genet* 2019; 56(6): 347–357. doi: 10.1136/jmedgenet-2018-105872.
20. Wörmann B, Bokemayer C, Burmeister T et al. Dihydropyrimidine dehydrogenase testing prior to treatment with 5-fluorouracil, capecitabine, and tegafur: a consensus paper. *Oncol Res Treat* 2020; 43(11): 628–636. doi: 10.1159/000510258.
21. Fortuno C, Lee K, Olivier M et al. Specifications of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for germline TP53 variants. *Hum Mutat* 2021; 42(3): 223–236. doi: 10.1002/humu.24152.
22. Feliubadalo L, Moles-fernandez A, Santamarina-Pena M et al. A collaborative effort to define classification criteria for ATM variants in hereditary cancer patients. *Clin Chem* 2021; 67(3): 518–533. doi: 10.1093/clinchem/hvaa250.
23. Moghadasi S, Meeks HD, Vreeswijk MP et al. The BRCA1 c. 5096G>A p.Arg1699Gln (R1699Q) intermediate risk variant: breast and ovarian cancer risk estimation and recommendations for clinical management from the ENIGMA consortium. *J Med Genet* 2018; 55(1): 15–20. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-104560.
24. King MC. “The race” to clone BRCA1. *Science* 2014; 343(6178): 1462–1465. doi: 10.1126/science.1251900.
25. Curia MC, Catalano T, Aceto GM. MUTYH: not just polyposis. *World J Clin Oncol* 2020; 11(7): 428–449. doi: 10.5306/wjco.v11.i7.428.
26. Federici G, Soddu S. Variants of uncertain significance in the era of high-throughput genome sequencing: a lesson from breast and ovary cancers. *J Exp Clin Cancer Res* 2020; 39(1): 46. doi: 10.1186/s13046-020-01554-6.
27. Monteiro AN, Bouwman P, Kousholt AN et al. Variants of uncertain clinical significance in hereditary breast and ovarian cancer genes: best practices in functional analysis for clinical annotation. *J Med Genet* 2020; 57(8): 509–518. doi: 10.1136/jmedgenet-2019-106368.

Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané 17. 10. 2023 ve FN Motol v Praze naleznete na www.linkos.cz.

Nový cíl specifické protinádorové léčby mnohočetného myelomu – endoplazmatické retikulum a jeho signální dráhy

The endoplasmic reticulum and its signaling pathways – a novel target for multiple myeloma treatment

Dostálová A.¹, Vlachová M.¹, Gregorová J.¹, Moráň L.^{2,3}, Pečinka L.¹, Gabrielová V.², Vaňhara P.^{2,4}, Ševčíková S.^{1,5}

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

² Ústav histologie a embryologie, LF MU Brno

³ Výzkumné centrum aplikované molekulární onkologie (RECAMO), MOÚ Brno

⁴ Mezinárodní centrum klinického výzkumu, LF MU (ICRC) a FN u sv. Anny v Brně

⁵ Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Souhrn

Východiska: Endoplazmatické retikulum (ER), organela tvořená soustavou cisteren a tubulů, je esenciální pro řadu buněčných dějů, mj. pro syntézu a transport proteinů. Pokud se chybně složené proteiny hromadí v lumen ER, dochází k rozvoji stresu ER, přičemž následnou odpovědí na narušení homeostázy je aktivace signální dráhy UPR (z angl. unfolded protein response, tj. odpověď na přítomnost nesbalených proteinů). Cílem procesu je obnovit homeostázu zvyšováním kapacity ER a jeho schopnosti skládat proteiny. K aktivaci homeostatické UPR dochází prostřednictvím některého ze tří transmembránových proteinů, kterými jsou enzym vyžadující inositol 1 α (inositol-requiring enzyme 1 α – IRE1 α), kináza ER podobná R kináze (proteine kinase R-like ER kinase – PERK) a aktivující transkripční faktor 6 (activating transcription factor 6 – ATF6). V případě selhání pokusu o obnovu homeostázy naopak dochází prostřednictvím hyperaktivace těchto proteinů k rozvoji terminální UPR a apoptóze. Aktivace různých větví UPR byla popsána u mnoha nádorových onemocnění vč. mnohočetného myelomu (MM), který se vyznačuje maligní transformací plazmatických buněk a zvýšenou syntézou monoklonálního imunoglobulinu, kdy je role ER zvláště podstatná. Navzdory pokrokům v léčbě MM zůstává onemocnění jen obtížně léčitelné a cílení na signální dráhy spojené s UPR by mohlo např. podpořit účinek inhibitorů proteazomu. **Cíl:** Tato práce si klade za cíl představit molekulární odpověď na stres ER za fyziologických okolností i v kontextu nádorových onemocnění, a to zejména s přihlédnutím k potenciálním terapeutickým cílům u MM.

Klíčová slova

mnohočetný myelom – endoplazmatické retikulum – signální dráha UPR

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

The authors declare that 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 Brno
Kamenice 5
625 00 Brno
e-mail: sevcik@med.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 13. 6. 2023

Přijato/Accepted: 13. 10. 2023

doi: 10.48095/ccko2023440

Summary

Background: The endoplasmic reticulum (ER), an organelle composed of a system of cisternae and tubules, is essential for many cellular processes, including protein synthesis and transport. When misfolded proteins accumulate in the ER lumen, ER stress is induced, and the subsequent response to the disruption of homeostasis is the activation of the unfolded protein response (UPR). The purpose of this process is to restore homeostasis by increasing the capacity of the ER and its ability to fold proteins. Activation of the homeostatic UPR occurs via one of three transmembrane proteins, inositol-requiring enzyme 1 α (IRE1 α), protein kinase R-like ER kinase (PERK) and activating transcription factor 6 (ATF6). Failure of the attempt to restore homeostasis, on the other hand, leads to the development of terminal UPR and apoptosis via hyperactivation of the same proteins. Activation of UPR has been described in many malignancies, including multiple myeloma (MM), which is characterized by malignant transformation of plasma cells and increased monoclonal immunoglobulin synthesis, where the role of the ER is of particular importance. Despite advances in the treatment of MM, the disease remains difficult to treat and targeting signaling pathways associated with the UPR could, for example, enhance the effect of proteasome inhibitors. **Purpose:** This review intends to present the molecular response to ER stress under physiological circumstances and in the context of cancer, particularly with regard to potential therapeutic targets in MM.

Key words

multiple myeloma – endoplasmic reticulum – unfolded protein response

Úvod

Mnohočetný myelom (MM) je hematologické onemocnění způsobené maligní transformací plazmatických buněk v kostní dřeni [1].

Endoplazmatické retikulum (ER) tvoří složitý systém membrán a tubulů soustředěných kolem jádra (obr. 1). Strukturně lze rozlišit dva typy ER, drsné a hladké. Drsné ER je tvořeno převážně plochými cisternami, na jejichž povrch je navázáno velké množství ribozomů. Tyto

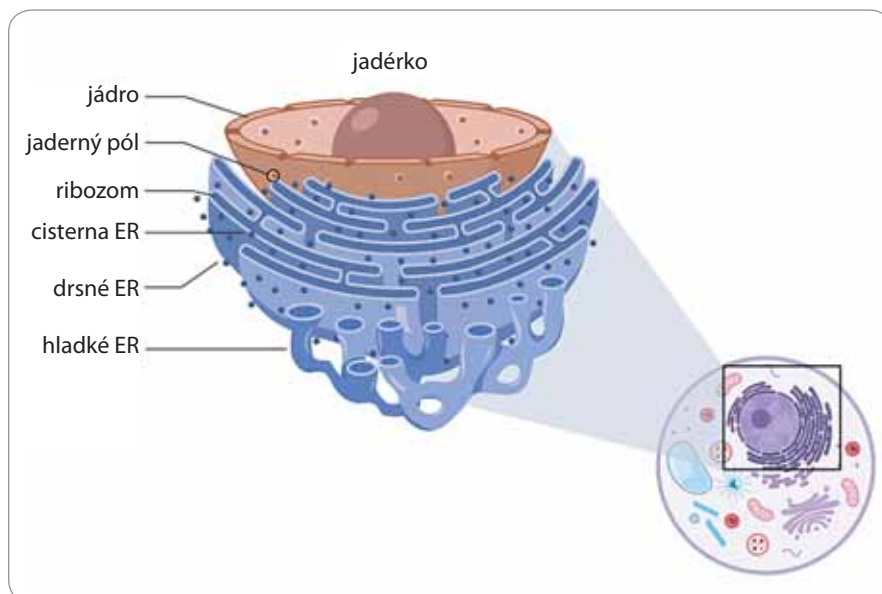
ribozomy překládají proteiny do cisteren ER prostřednictvím signální sekvence, která slouží jako ligand pro translokon [2–5]. V lumen ER jsou nascentní polypeptidy pomocí chaperonů a enzymů skládány a modifikovány (N-glykosylace), a získávají správnou terciární strukturu [6]. Hladké ER je tvořeno převážně tubuly a na rozdíl od drsného ER na něj nenasedají ribozomy, jeho funkce spočívá zejména v syntéze lipidů [2,3]. V plazmatických buňkách převládá

drsné ER, často v podobě dilatovaných a vakuolizovaných cisteren. Primární funkcí ER plazmatických buněk je proteosyntéza, skládání a kontrola kvality imunoglobulinů. Podobně maligní plazmatické buňky vytvářejí stejným mechanismem paraprotein [7].

Správný průběh proteosyntézy a skládání proteinů a jejich průchod ER je komplikovaný biochemický děj. Chybně syntetizované nebo poskládané proteiny jsou degradovány prostřednictvím ER-asociované degradace. Pokud vzniká nesprávně složených proteinů velké množství, začnou se hromadit v lumen ER, dochází k selhání homeostázy ER a nastalý stav je označován jako stres ER. Buňka na něj reaguje zvýšením kapacity a schopnosti ER skládat proteiny. K tomu slouží signální a metabolický proces souhrnně označovaný jako odpověď na přítomnost nesbalených proteinů (unfolded protein response – UPR) [8].

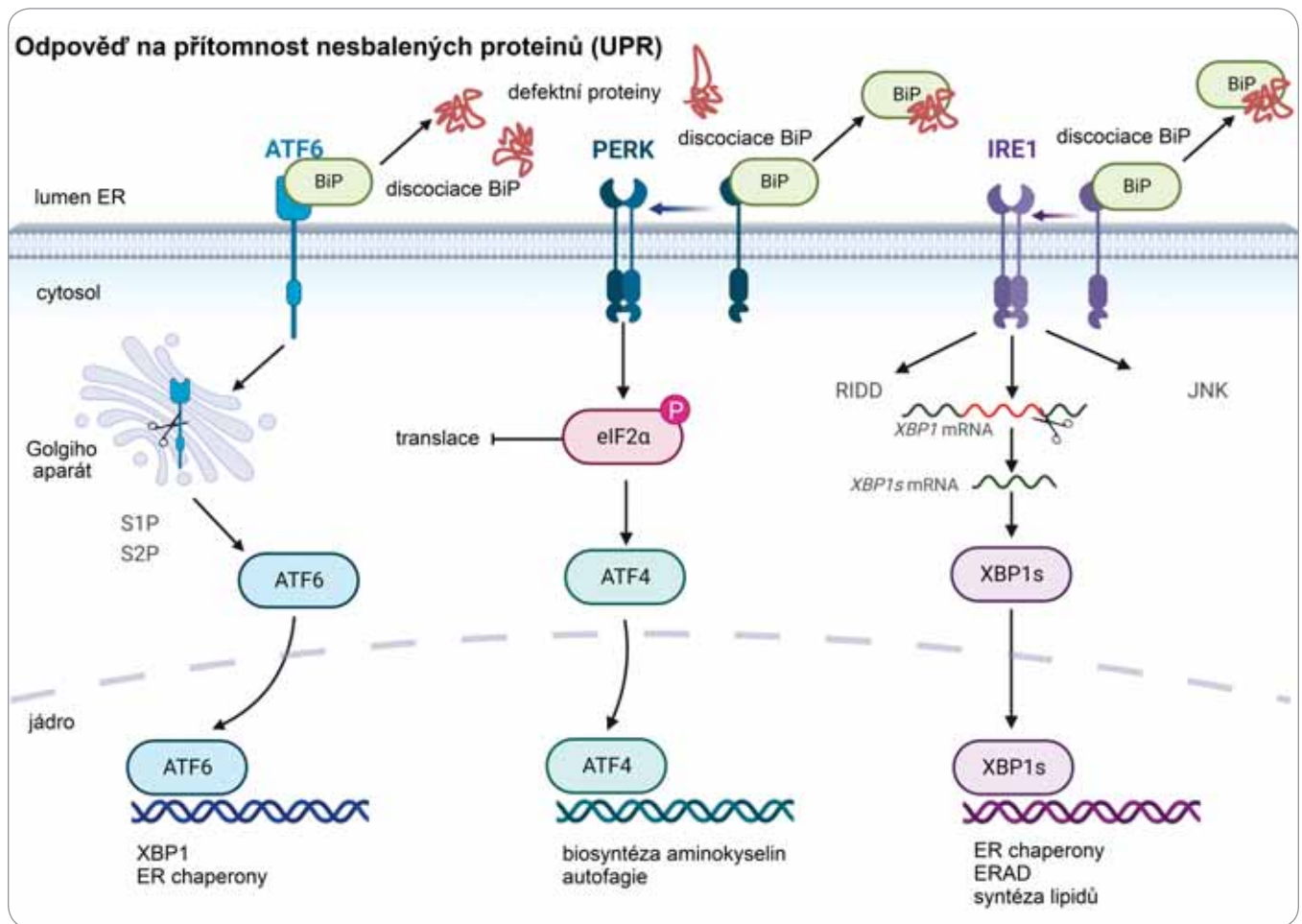
Molekulární odpověď na stres ER

UPR je molekulárním nástrojem buňky, jak kompenzovat narušení homeostázy ER a proteosyntézy. K aktivaci UPR dochází třemi cestami, prostřednictvím tří transmembránových proteinů, které fungují jako senzory nahromaděných nesprávně poskládaných proteinů v ER. Jedná se o tyto transmembránové proteiny: enzym vyžadující inositol 1 α (inositol-requiring enzyme 1 α – IRE1 α), kináza ER podobná R kináze (protein kinase R-like ER kinase – PERK) a aktivující transkripční faktor 6 (activating transcription factor 6 – ATF6) [9]. Pokud se



Obr. 1. Endoplazmatické retikulum. Tato organela je umístěna v těsné blízkosti buněčného jádra a je tvořena membránami, cisternami a tubuly. Strukturně se dělí na drsné ER s plochými cisternami, k jejichž vnějšímu povrchu jsou navázány ribozomy, a hladké ER tvořené tubuly bez ribozomů. Dvojí morfologie ER podtrhuje odlišnou roli v buněčných procesech, kdy v drsném ER dochází k syntéze proteinů, naproti tomu v hladkém ER se odehrává např. metabolismus lipidů.

ER – endoplazmatické retikulum



Obr. 2. Hlavní mechanismy odpovědi na přítomnost nesbalených proteinů. Transmembránové proteiny se aktivují v reakci na akumulaci defektních proteinů v lumen ER. ATF6, membránově vázaný transkripční faktor, je při stresu ER disociován od chaperonu BiP a následně je transportován do Golgiho aparátu. Tam je zpracován proteázami S1P a S2P, což uvolní jeho cytosolickou doménu, která migruje do jádra a reguluje transkripci cílových genů. PERK, transmembránová proteinkináza, se po disociaci od BiP aktivuje a fosforyluje podjednotku eIF2 α , čímž dochází k redukci proteosyntézy; zároveň umožňuje zvýšenou expresi např. ATF4. IRE1 je transmembránová ribonukleáza, která po disociaci od BiP umožňuje sestřih XBP1 mRNA, což vede k tvorbě aktivního transkripčního faktoru XBP1s. Aktivovaná forma IRE1 α je schopna také degradovat některé mRNA procesem RIDD.

ATF4 – aktivující transkripční faktor 4, ATF6 – aktivující transkripční faktor 6, BiP – protein vázající imunoglobulin, ER – endoplazmatické retikulum, ERAD – ER-asociovaná degradace, eIF2 α – eukaryotický iniciační faktor 2 α , IRE1 α – enzym vyžadující inositol 1 α , JNK – c-Jun N-terminální kináza, PERK – kináza ER podobná R kináze, RIDD – regulovaný rozklad závislý na IRE1 α , S1P – site-1 proteáza, S2P – site-2 proteáza, UPR – odpověď na přítomnost nesbalených proteinů, XBP1 – X-box vázající protein 1

ER nachází v homeostatickém stavu (nedochází k hromadění nesprávně poskládaných proteinů v lumen ER), jsou transmembránové proteiny inaktivní díky interakci s chaperonem označovaným jako protein vázající imunoglobulin (binding Ig protein – BiP). BiP selektivně váže aminokyselinové zbytky typické pro nesbalené nebo chybně sbalené proteiny. Pokud je kapacita ER dostatečná, nesbalené proteiny se nevytvářejí ve zvýšeném množství, BiP vytváří komplex s IRE1 α , PERK a ATF6 a inaktivuje je. Naopak, v případě akumulace nesbalených

proteinů se BiP z komplexu s transmembránovými proteiny uvolňuje a umožňuje tak jejich aktivaci (obr. 2) [10].

IRE1 α je transmembránový protein v membráně ER. V inaktivní formě se vyskytuje ve formě monomeru. K jeho aktivaci dochází navázáním nesprávně poskládaného proteinu na jeho lumenální doménu a oligomerizací. Je-li ER v homeostatickém stavu, je na lumenální doménu vázán chaperon BiP, např. GRP78 nebo HSPA5. Jeho funkcí je s využitím ATP podporovat skládání proteinů nebo bránit jejich agregaci. Při na-

hromadění abnormálně poskládaných proteinů nebo přetížení kapacity ER se BiP uvolní z vazby s IRE1 α . Po uvolnění BiP dochází k oligomerizaci IRE1 α a tím také k jeho aktivaci [10,11]. Aktivovaná forma IRE1 α má RNázovou aktivitu, která umožňuje alternativní sestřih transkriptu X-box vázajícího proteinu 1 (X-box binding protein 1 – XBP1), čímž vzniká variantní transkripční faktor XBP1s, který selektivně podporuje transkripci genů podílejících se na biogenezi ER a skládání a sekreci proteinů [8]. Aktivovaná forma IRE1 α také dokáže štěpit a tím de-

gradovat některé mRNA, které tak nemohou být překládány do polypeptidového řetězce a nevstupují do cisteren ER. Tato schopnost IRE1 α se nazývá regulovaný rozklad závislý na IRE1 α (regulated IRE1 α -dependent decay – RIDD) [12].

Transmembránový protein PERK je ve své inaktivní formě (stejně jako IRE1 α) monomer. Také způsob jeho aktivace je stejný jako u IRE1 α , regulovaný prostřednictvím vazby BiP [9]. V aktivované formě má schopnost fosforylovat translační iniciační faktor eIF2 α , a tlumit tak translaci velkého množství mRNA. Zároveň ale umožňuje translaci specifických mRNA, označovaných jako „integrated stress response“ (ISR) mRNAs, kódujících např. transkripční faktor ATF4 nebo protein QRICH1 s dosud ne zcela zřejmou funkcí. ATF4 reguluje expresi dalších chaperonů, QRICH1 je zřejmě zapojený do regulace programované buněčné smrti [9,13].

ATF6 je třetí z transmembránových proteinů. Způsob jeho aktivace je odlišný než ve dvou předchozích případech. Po disociaci BiP je proteolyticky aktivován S1P a S2P proteázami v Golgiho aparátu. Jeho aktivovaná forma translokuje do jádra, kde společně s XBP1s indukuje expresi genů, jejichž regulační oblasti obsahují specifické sekvence označované jako „ER stress specific elements“ (ERSE) [9,10].

Souhrnně lze tedy říct, že ať už je UPR aktivována jakoukoliv ze zmíněných cest, vede ve výsledku ke zvýšení schopnosti ER skládat proteiny a obnovit homeostázu. V takovém případě se jedná o tzv. homeostatické UPR. Když se však homeostázu obnovit nedaří a ER je vystaveno trvalému stresu, přechází homeostatické UPR v UPR terminální, kdy aktivace transmembránových proteinů vede k destrukci buňky. Děje se tak např. prostřednictvím proteinů ze skupiny BCL-2, které ovlivňují integritu mitochondriální membrány a mohou mít jak antiapoptotický, tak i proapoptotický účinek [14]. Hyperaktivace transmembránového proteinu PERK pak může pomocí zvýšené exprese transkripčního faktoru CHOP/GADD153 inhibovat expresi antiapoptotických a naopak iniciovat expresi proapoptotických BCL-2, což vede k buněčné smrti [15]. Dalším z mechanismů terminální UPR je zvý-

šená exprese či aktivace prozánětlivých a proapoptotických proteinů iniciovaná hyperaktivovaným oligomerizovaným IRE1 α . Ten pak pomocí své RNázové aktivity může degradovat specifické mikroRNA, které by se podílely na represi proapoptotických faktorů, jako je např. protein TXNIP. To vede k nárůstu koncentrace těchto proteinů, které pak pomocí aktivace dalších prozánětlivých a proapoptotických faktorů způsobí apoptózu buňky [16].

UPR v patogenezi nádorových onemocnění

U nádorových buněk může být stav ER stresu vyvolán různými vnitřními i vnějšími příčinami [10]. Mezi ty vnitřní patří aktivace onkogenů nebo ztráta tumor supresorových genů, přetížení proteosyntézy a chyby ve skládání proteinů či oxidativní stres. Navíc samotné nádorové mikroprostředí může vyvolat ER stres v důsledku hypoxie, nedostatku živin, působení prozánětlivých signálních molekul nebo cytotoxického působení protinádorové terapie [17–19]. V odpovědi na tento stav dochází s různou intenzitou k aktivaci různých větví UPR, jak bylo prokázáno u různých typů hematologických malignit, jako je MM, leukemie a lymfomy [20–22], i u solidních nádorů, např. nádoru prsu, tlustého střeva, ledvin, jater, plic či slinivky břišní [23–28].

UPR tedy integruje působení řady faktorů a její pronádorový či protinádorový příspěvek k patogenezi tumoru závisí na konkrétním buněčném a molekulárním kontextu, příp. genotypu pacienta. Existují studie poukazující na jeho protinádorové působení [29]. Více je však těch, které dokládají, že aktivace UPR ovlivňuje různé buněčné procesy ve prospěch nádorových buněk, jak bude uvedeno dále.

Jedním ze způsobů pronádorového působení UPR je jeho vliv na angiogenezi. UPR podporuje angiogenezi u solidních nádorů, což jim umožňuje přežít v prostředí, kde jsou vystaveny nedostatku živin a kyslíku. Děje se tak prostřednictvím proangiogenního růstového faktoru VEGF-A, jehož exprese je indukována pomocí ATF4 [10,30].

Důležitou cestou pronádorového působení UPR je také jeho propojení s au-

tofagií – buněčným procesem zodpovědným za degradaci proteinů a organel [31]. Autofagie dokáže zmírnit akumulaci reaktivních forem kyslíku a zabránit tak poškození DNA, čímž může bránit vzniku nádoru. Na druhou stranu však mohou buňky díky autofagii získávat energii a recyklovat organelové komponenty, což může u nádorových buněk vystavených hypoxii a nedostatku živin zajistit přísun potřebné energie a tím přežití [32]. Bylo prokázáno, že složky všech tří aktivačních cest UPR mohou indukovat aktivaci autofagie [10,31].

UPR má dále vliv na schopnost nádorových buněk migrovat a tvořit metastázy. Např. aktivace transmembránového proteinu PERK může vést k expresi proteinu LAMP3, který je asociován s tvorbou metastáz [33].

Nádorové buňky mohou také využít aktivace UPR k pozměnění metabolických drah, což jim zajistí přežití v případě, že se nachází v prostředí s nedostatkem živin. Např. XBP1s i ATF4 indukuje produkci enzymu GFAT1, který je prvním enzymem hexosaminové biosyntetické dráhy. Ta produkuje UDP-N-acetylglukosamin, důležitý substrát v glykosylaci proteinů a lipidů [34,35].

Dalším ze způsobů, jak může UPR modulovat progresi nádoru je vliv na odpověď na chemoterapeutika [36]. Zvýšená exprese UPR transmembránových proteinů a dalších komponent UPR koreluje u nádoru prsu s rezistencí nádorových buněk k tamoxifenu [37]. Dále byla pozorována spojitost mezi zvýšenou hladinou BiP a rezistencí k léčivům indukujícím apoptózu, jako je doxorubicin. BiP dokáže např. inhibovat aktivaci kaspázy 7, čímž zabrání apoptóze buňky [38,39]. Aktivovaný transmembránový protein PERK fosforyluje nukleární transkripční faktor Nrf2, který indukuje expresi efluxního transportéru MRP1, vylučujícího cytotoxické léčivo z buňky. Buňky, u nichž byla pozorována zvýšená exprese PERK, vykazovaly rezistenci k léčivům oxaliplatinu, 5-fluorouracil a doxorubicin [40]. Jiná studie popisuje vliv ATF6 a proteinu PDIA5, podílejícího se na jeho aktivaci, na rezistenci leukemických buněk vůči léčivu imatinib. Inhibice PDIA5/ATF6 vedla u zkoumaných buněk k obnovení citlivosti k léčivům [41].

Vzhledem ke všem výše uvedeným zjištěním je UPR předmětem dalšího výzkumu jako potenciální cíl specifických cytostatických léčiv [42]. Zkoumány jsou tak např. inhibitory IRE1 α a jeho RNázové aktivity či inhibitory transmembránového proteinu PERK [43]. Inhibitor RNázové aktivity IRE1 α – STF-083010 – vykazoval schopnost cytotoxického působení na buňky MM [44]. A-I06, produkt hydrolýzy STF-083010, taktéž inhibuje RNázovou aktivitu IRE1 α , což vede ke snížené expresi XBP1 a indukcí apoptózy nádorových buněk u chronické lymfocytární leukemie [45]. Na myších modelech triple negativního nádoru prsu byly pozorovány účinky MKC8866, dalšího z inhibitorů RNázové aktivity IRE1 α , jehož vlivem došlo k potlačení růstu nádoru [46]. Inhibitor transmembránového proteinu PERK – GSK2606414 – inhiboval u myší růst xenograftu lidského nádoru [47].

UPR u mnohočetného myelomu

MM tvoří cca 1 % ze všech nádorových onemocnění. Je charakterizovaný klonální proliferací maligních plazmatických buněk (PB) v kostní dřeni, která vede k nadprodukci monoklonálních imunoglobulinů; typickými projevy onemocnění jsou osteolytická ložiska, selhání ledvin, anemie a hyperkalcemie. V ČR je medián věku pacientů při diagnóze 68 let u mužů a 70 let u žen [1,48].

Signální dráhy asociované s ER jsou klíčové pro diferenciaci, mezibuněčné interakce i fyziologickou funkci plazmatických buněk. Bylo prokázáno, že ke správnému vývoji B lymfocytů a jejich diferenciaci v plazmatické buňky je potřeba transmembránový protein IRE1 α a XBP1 protein [49]. Jiná studie poukázala na dysregulaci XBP1s u pacientů s MM. Byla porovnána hladina XBP1s v normálních PB a PB pacientů s MM. Zatímco u normálních PB byla hladina XBP1s velmi nízká nebo nedetekovatelná, u myelomových PB byla výrazně zvýšená, a to až v 70 % zkoumaných vzorků [50].

V současné době jsou k léčbě MM využívány inhibitory proteazomu. Tyto látky působí inhibicí antiapoptotického transkripčního faktoru NF- κ B a mimoto brání

proteazomu degradovat nesprávně poskládané proteiny, v důsledku čehož se proteiny hromadí, dochází ke vzniku stresu ER, aktivaci terminální UPR a indukcí apoptózy myelomových buněk [51,52]. Kromě toho, že působí proti nádorovým buňkám, dokáží inhibitory proteazomu redukovat resorpci a zvýšit novotvorbu kostní tkáně u pacientů s MM. Hlavní roli v tomto mechanismu má XBP1s, které vzniká jako produkt aktivace IRE1 α v odpovědi na stres ER způsobený inhibitory proteazomu. XBP1s reguluje diferenciaci osteoblastů a podporuje osteogenezi [53].

Zavedení zmíněných léčiv přineslo významné zlepšení v léčbě pacientů s MM, přesto může dojít k relapsu onemocnění spojenému s rezistencí k inhibitorům proteazomu [54,55]. Proto se testují látky, jejichž použití by mohlo účinek stávajících léčiv podpořit. Zkoumány jsou např. GGS1 inhibitory geranylgeranyl difosfát syntázy (GGDPS). GGDPS se podílí na regulaci transportu proteinů. Je-li tento mechanismus pomocí GGS1 narušen, dochází k hromadění proteinů uvnitř buňky, indukcí stresu ER, aktivaci UPR a apoptóze. V kombinaci s inhibitory proteazomu (bortezomib, karfilzomib) dochází ke zpomalení růstu nádoru [56]. Další studie se zaměřuje na inhibitory histonové deacetylázy. Jedním z nich je selektivní inhibitor TMP269. Ten v kombinaci s karfilzomibem indukoval expresi proapoptotického faktoru CHOP a také expresi ATF4, která vedla ke stresu ER a apoptóze. Tento účinek byl pozorován pouze při využití obou léčiv, TMP269 ani karfilzomib samostatně tuto schopnost neměly [57]. Při léčbě proteazomovým inhibitorem bortezomibem dochází k indukcí stresu ER u myelomových buněk. Buňky však mohou využít autofagii, jako alternativní způsob vypořádání se s akumulovanými proteiny. Antibiotikum bafilomycin A1 působí jako inhibitor autofagie a v kombinaci s bortezomibem tak zvyšuje jeho účinnost [58]. Jiný inhibitor histonové deacetylázy, SAHA, zabraňuje degradaci nesprávně poskládaných proteinů, které jsou ve formě agregátů za pomoci histonové deacetylázy degradovány. To vede k jejich hromadění v buňce a SAHA v kombinaci s bortezomibem a klaritromycinem (makro-

lidovým antibiotikem zabraňujícím autofagii) tak indukuje stres ER a apoptózu [59]. Další studie se zaměřuje na P13K/Akt cestu, která má důležitou roli v patogenezi MM a podporuje růst nádoru. Inhibice Akt pomocí selektivního inhibitoru TAS-117 vede k aktivaci PERK a IRE1 α , indukcí UPR a apoptóze. V kombinaci s inhibitory proteazomu, bortezomibem a karfilzomibem, zvyšuje jejich toxicitu vůči myelomovým buňkám [60]. Další studovanou látkou je verapamil, který blokuje vápníkové kanály a brání přísunu kalciových iontů do buňky. Indukuje tak produkci reaktivních forem kyslíku, autofagii a přispívá k tvorbě proapoptotických stresových signálů a aktivaci terminální UPR u buněk vystavených bortezomibu [61]. Dále bylo zjištěno, že v důsledku stresu ER způsobeného bortezomibem dochází ke zvýšení exprese DR5 receptoru, a naopak snížení exprese HLA-E na povrchu myelomových buněk. Snížená exprese HLA-E vede k senzitivizaci těchto buněk k degradaci NK buňkami, které mají receptor NKG2A. Infuze takovýchto NK buněk, následující po léčbě bortezomibem, by mohla zajistit degradaci i těch buněk, které unikly běžnému mechanismu působení bortezomibu, což by mohlo vést ke zlepšení účinnosti léčby [55]. Dalším ze způsobů, jak podpořit účinek inhibitorů proteazomu je prostřednictvím mutací genů *KRAS*, *NRAS* a *BRAF*, které se často vyskytují u pacientů s MM a podílejí se na rezistenci myelomových buněk k léčivům. Tyto mutace aktivují dráhu mitogenem aktivované protein kinázy (MAPK) a podporují expresi proteazomových podjednotek a chaperonů podílejících se na proteazomové aktivitě, čímž aktivitu proteazomu podporují. Dále mají vliv na aktivaci UPR, kterou snižují. Využití inhibitorů MAPK kinázy (MEK) vedlo k snížení proteazomové aktivity a senzitivizaci myelomových buněk k inhibitorům proteazomu [62]. Podobně Besse et al. popsali masivní změny v metabolismu buněk MM rezistentních k inhibitorům proteazomu, a identifikovali klíčové molekulární dráhy vč. UPR jako potenciální terapeutické cíle [63]. ER a jeho molekulární signalizace může představovat vhodný cíl i pro terapii komplikací MM, jako je např. AL amyloidóza,

pro kterou je typická produkce abnormálních lehkých řetězců, které agregují do amyloidových fibril a deponují v různých orgánech. Cytostatikum melflufen (melphalanflufenamid) je kandidátním léčivem právě pro AL amyloidózu asociovanou s MM. Flanagan et al. identifikovali buněčný cíl pro melflufen, kterým je právě ER a ATF-4 dependentní větev UPR [64].

Závěr

Léčiva cílená na endoplazmatické retikulum plazmatických buněk a s ním související signální dráhy mohou přispět k léčbě pokročilého MM a k pochopení jeho etiopatogeneze a rozvoje chemorezistence.

Podporující agentury

Publikace vznikla díky podpoře AZV NU21-03-00076 a LF MUNI/A/1370/2022.

Literatura

- Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2020 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol* 2020; 95(5): 548–567. doi: 10.1002/ajh.25791.
- Shibata Y, Shemesh T, Prinz WA et al. Mechanisms determining the morphology of the peripheral ER. *Cell* 2010; 143(5): 774–788. doi: 10.1016/j.cell.2010.11.007.
- Shibata Y, Voeltz GK, Rapoport TA. Rough sheets and smooth tubules. *Cell* 2006; 126(3): 435–439. doi: 10.1016/j.cell.2006.07.019.
- Watson ML. The nuclear envelope. *J Biophys Biochem Cytol* 1955; 1(3): 257–270. doi: 10.1083/jcb.1.3.257.
- Hetzler MW. The nuclear envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(3): a000539. doi: 10.1101/cshperspect.a000539.
- Hartl FU, Hayer-Hartl M. Converging concepts of protein folding in vitro and in vivo. *Nat Struct Mol Biol* 2009; 16(6): 574–581. doi: 10.1038/nsmb.1591.
- Ricci D, Gidalevitz T, Argon Y. The special unfolded protein response in plasma cells. *Immunol Rev* 2021; 303(1): 35–51. doi: 10.1111/immr.13012.
- Oakes SA, Papa FR. The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology. *Annu Rev Pathol* 2015; 10: 173–194. doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104649.
- Hetz C, Zhang K, Kaufman RJ. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2020; 21(8): 421–438. doi: 10.1038/s41580-020-0250-z.
- Oakes SA. Endoplasmic reticulum stress signaling in cancer cells. *Am J Pathol* 2020; 190(5): 934–946. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.01.010.
- Gardner BM, Walter P. Unfolded proteins are Ire1-activating ligands that directly induce the unfolded protein response. *Science* 2011; 333(6051): 1891–1894. doi: 10.1126/science.1209126.
- Hollien J, Weissman JS. Decay of endoplasmic reticulum-localized mRNAs during the unfolded protein response. *Science* 2006; 313(5783): 104–107. doi: 10.1126/science.1129631.
- Han J, Back SH, Hur J et al. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nat Cell Biol* 2013; 15(5): 481–490. doi: 10.1038/ncb2738.
- Hetz C, Papa FR. The unfolded protein response and cell fate control. *Mol Cell* 2018; 69(2): 169–181. doi: 10.1016/j.molcel.2017.06.017.
- Urra H, Dufey E, Lisboa F et al. When ER stress reaches a dead end. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833(12): 3507–3517. doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.07.024.
- Lerner AG, Upton JP, Praveen PVK et al. IRE1α induces thioredoxin-interacting protein to activate the NLRP3 inflammasome and promote programmed cell death under irremediable ER stress. *Cell Metab* 2012; 16(2): 250–264. doi: 10.1016/j.cmet.2012.07.007.
- Koumenis C, Naczi C, Koritzinsky M et al. Regulation of protein synthesis by hypoxia via activation of the endoplasmic reticulum kinase PERK and phosphorylation of the translation initiation factor eIF2α. *Mol Cell Biol* 2002; 22(21): 7405–7416. doi: 10.1128/MCB.22.21.7405-7416.2002.
- Zhang A, Zhang J, Sun P et al. EIF2α and caspase-12 activation are involved in oxygen-glucose-serum deprivation/restoration-induced apoptosis of spinal cord astrocytes. *Neurosci Lett* 2010; 478(1): 32–36. doi: 10.1016/j.neulet.2010.04.062.
- Yadav RK, Chae SW, Kim HR et al. Endoplasmic reticulum stress and cancer. *J Cancer Prev* 2014; 19(2): 75–88. doi: 10.15430/JCP.2014.19.2.75.
- Nakamura M, Gotoh T, Okuno Y et al. Activation of the endoplasmic reticulum stress pathway is associated with survival of myeloma cells. *Leuk Lymphoma* 2006; 47(3): 531–539. doi: 10.1080/10428190500312196.
- Schardt JA, Mueller BU, Pabst T. Activation of the unfolded protein response in human acute myeloid leukemia. *Methods Enzymol* 2011; 489: 227–243. doi: 10.1016/B978-0-12-385116-1.00013-3.
- Balague O, Colomo L, Lopez-Guillermo A et al. Activation of the endoplasmic reticulum (ER) unfolded protein response (UPR) in aggressive B-cell lymphomas. *Blood* 2006; 108(11): 2038. doi: 10.1182/blood.V108.11.2038.2038.
- Scriven P, Coulson S, Haines R et al. Activation and clinical significance of the unfolded protein response in breast cancer. *Br J Cancer* 2009; 101(10): 1692–1698. doi: 10.1038/sj.bjc.6605365.
- Piton N, Wason J, Colasse É et al. Endoplasmic reticulum stress, unfolded protein response and development of colon adenocarcinoma. *Virchows Arch Int J Pathol* 2016; 469(2): 145–154. doi: 10.1007/s00428-016-1961-6.
- Fu W, Wu X, Li J et al. Upregulation of GRP78 in renal cell carcinoma and its significance. *Urology* 2010; 75(3): 603–607. doi: 10.1016/j.urol.2009.05.007.
- Shuda M, Kondoh N, Imazeki N et al. Activation of the ATF6, XBP1 and grp78 genes in human hepatocellular carcinoma: a possible involvement of the ER stress pathway in hepatocarcinogenesis. *J Hepatol* 2003; 38(5): 605–614. doi: 10.1016/s0168-8278(03)00029-1.
- Wang Q, He Z, Zhang J et al. Overexpression of endoplasmic reticulum molecular chaperone GRP94 and GRP78 in human lung cancer tissues and its significance. *Cancer Detect Prev* 2005; 29(6): 544–551. doi: 10.1016/j.cdp.2005.09.010.
- Niu Z, Wang M, Zhou L et al. Elevated GRP78 expression is associated with poor prognosis in patients with pancreatic cancer. *Sci Rep* 2015; 5: 16067. doi: 10.1038/srep16067.
- Niederreiter L, Fritz TMJ, Adolph TE et al. ER stress transcription factor Xbp1 suppresses intestinal tumorigenesis and directs intestinal stem cells. *J Exp Med* 2013; 210(10): 2041–2056. doi: 10.1084/jem.20122341.
- Wang Y, Alam GN, Ning Y et al. The unfolded protein response induces the angiogenic switch in human tumor cells through the PERK/ATF4 pathway. *Cancer Res* 2012; 72(20): 5396–5406. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0474.
- Yan MM, Ni JD, Song D et al. Interplay between unfolded protein response and autophagy promotes tumor drug resistance. *Oncol Lett* 2015; 10(4): 1959–1969. doi: 10.3892/ol.2015.3508.
- Jiang X, Overholtzer M, Thompson CB. Autophagy in cellular metabolism and cancer. *J Clin Invest* 2015; 125(1): 47–54. doi: 10.1172/JCI73942.
- Nagelkerke A, Bussink J, Mujic H et al. Hypoxia stimulates migration of breast cancer cells via the PERK/ATF4/LAMP3-arm of the unfolded protein response. *Breast Cancer Res* 2013; 15(1): R2. doi: 10.1186/bcr3373.
- Chaveroux C, Sarcinelli C, Barbet V et al. Nutrient shortage triggers the hexosamine biosynthetic pathway via the GCN2-ATF4 signalling pathway. *Sci Rep* 2016; 6: 27278. doi: 10.1038/srep27278.
- Wang ZV, Deng Y, Gao N et al. Spliced X-box binding protein 1 couples the unfolded protein response to hexosamine biosynthetic pathway. *Cell* 2014; 156(6): 1179–1192. doi: 10.1016/j.cell.2014.01.014.
- Avril T, Vauléon E, Chevet E. Endoplasmic reticulum stress signaling and chemotherapy resistance in solid cancers. *Oncogenesis* 2017; 6(8): e373. doi: 10.1038/oncogenesis.2017.72.
- Andruska N, Zheng X, Yang X et al. Anticipatory estrogen activation of the unfolded protein response is linked to cell proliferation and poor survival in estrogen receptor α-positive breast cancer. *Oncogene* 2015; 34(29): 3760–3769. doi: 10.1038/onc.2014.292.
- Reddy RK, Mao C, Baumeister P et al. Endoplasmic reticulum chaperone protein GRP78 protects cells from apoptosis induced by topoisomerase inhibitors: role of ATP binding site in suppression of caspase-7 activation. *Biol Chem* 2003; 278(23): 20915–20924. doi: 10.1074/jbc.M212328200.
- Lee E, Nichols P, Spicer D et al. GRP78 as a novel predictor of responsiveness to chemotherapy in breast cancer. *Cancer Res* 2006; 66(16): 7849–7853. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1660.
- Salaroglio IC, Panada E, Moiso E et al. PERK induces resistance to cell death elicited by endoplasmic reticulum stress and chemotherapy. *Mol Cancer* 2017; 16(1): 91. doi: 10.1186/s12943-017-0657-0.
- Higa A, Taojui S, Lhomond S et al. Endoplasmic reticulum stress-activated transcription factor ATF6α requires the disulfide isomerase PDI5 to modulate chemoresistance. *Mol Cell Biol* 2014; 34(10): 1839–1849. doi: 10.1128/MCB.01484-13.
- Marciniak SJ, Chambers JE, Ron D. Pharmacological targeting of endoplasmic reticulum stress in disease. *Nat Rev Drug Discov* 2022; 21(2): 115–140. doi: 10.1038/s41573-021-00320-3.
- Hetz C, Axten JM, Patterson JB. Pharmacological targeting of the unfolded protein response for disease intervention. *Nat Chem Biol* 2019; 15(8): 764–775. doi: 10.1038/s41589-019-0326-2.
- Papandreou I, Denko NC, Olson M et al. Identification of an Ire1α endonuclease specific inhibitor with cytotoxic activity against human multiple myeloma. *Blood* 2011; 117(4): 1311–1314. doi: 10.1182/blood-2010-08-303099.
- Kriss CL, Pinilla-Ibarz JA, Mailloux AW et al. Overexpression of TCL1 activates the endoplasmic reticulum stress response: a novel mechanism of leukemic progression in mice. *Blood* 2012; 120(5): 1027–1038. doi: 10.1182/blood-2011-11-394346.
- Zhao N, Cao J, Xu L et al. Pharmacological targeting of MYC-regulated IRE1/XBP1 pathway suppresses MYC-driven breast cancer. *J Clin Invest* 2018; 128(4): 1283–1299. doi: 10.1172/JCI95873.
- Axten JM, Medina JR, Feng Y et al. Discovery of 7-methyl-5-(1-((3-(trifluoromethyl)phenyl)acetyl))-2,3-dihydro-1H-indol-5-yl)-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-amine (GSK2606414), a potent and selective first-in-class inhibitor of protein kinase R (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase (PERK). *J Med Chem* 2012; 55(16): 7193–7207. doi: 10.1021/jm300713s.

48. Maluskova D, Svobodová I, Kucerova M et al. Epidemiology of multiple myeloma in the Czech Republic. *Klin Onkol* 2017; 30 (Suppl 2): 35–42. doi: 10.14735/amko20172S35.
49. Zhang K, Wong HN, Song B et al. The unfolded protein response sensor IRE1 α is required at 2 distinct steps in B cell lymphopoiesis. *J Clin Invest* 2005; 115(2): 268–281. doi: 10.1172/JCI21848.
50. Carrasco DR, Sukhdeo K, Protopopova M et al. The differentiation and stress response factor XBP-1 drives multiple myeloma pathogenesis. *Cancer Cell* 2007; 11(4): 349–360. doi: 10.1016/j.ccr.2007.02.015.
51. Obeng EA, Carlson LM, Gutman DM et al. Proteasome inhibitors induce a terminal unfolded protein response in multiple myeloma cells. *Blood* 2006; 107(12): 4907–4916. doi: 10.1182/blood-2005-08-3531.
52. Hideshima T, Chauhan D, Richardson P et al. NF- κ B as a therapeutic target in multiple myeloma. *J Biol Chem* 2002; 277(19): 16639–16647. doi: 10.1074/jbc.M200360200.
53. Zhang D, De Veirman K, Fan R et al. ER stress arm XBP1s plays a pivotal role in proteasome inhibition-induced bone formation. *Stem Cell Res Ther* 2020; 11(1): 516. doi: 10.1186/s13287-020-02037-3.
54. Kumar SK, Callander NS, Alsina M et al. NCCN Guidelines Insights: Multiple Myeloma, Version 3.2018. *J Natl Compr Canc Netw* 2018; 16(1): 11–20. doi: 10.6004/jncn.2018.0002.
55. Carlsten M, Namazi A, Reger R et al. Bortezomib sensitizes multiple myeloma to NK cells via ER-stress-induced suppression of HLA-E and upregulation of DR5. *Oncoimmunology* 2019; 8(2): e1534664. doi: 10.1080/2162402X.2018.1534664.
56. Haney SL, Varney ML, Williams JT et al. Geranylgeranyl diphosphate synthase inhibitor and proteasome inhibitor combination therapy in multiple myeloma. *Exp Hematol Oncol* 2022; 11(1): 5. doi: 10.1186/s40164-022-00261-6.
57. Kikuchi S, Suzuki R, Ohguchi H et al. Class IIa HDAC inhibition enhances ER stress-mediated cell death in multiple myeloma. *Leukemia* 2015; 29(9): 1918–1927. doi: 10.1038/leu.2015.83.
58. Kawaguchi T, Miyazawa K, Moriya S et al. Combined treatment with bortezomib plus bafilomycin A1 enhances the cytotoxic effect and induces endoplasmic reticulum stress in U266 myeloma cells: crosstalk among proteasome, autophagy-lysosome and ER stress. *Int J Oncol* 2011; 38(3): 643–654. doi: 10.3892/ijo.2010.882.
59. Moriya S, Komatsu S, Yamasaki K et al. Targeting the integrated networks of aggresome formation, proteasome, and autophagy potentiates ER stress-mediated cell death in multiple myeloma cells. *Int J Oncol* 2015; 46(2): 474–486. doi: 10.3892/ijo.2014.2773.
60. Mimura N, Hideshima T, Shimomura T et al. Selective and potent Akt inhibition triggers anti-myeloma activities and enhances fatal endoplasmic reticulum stress induced by proteasome inhibition. *Cancer Res* 2014; 74(16): 4458–4469. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-3652.
61. Meister S, Frey B, Lang VR et al. Calcium channel blocker verapamil enhances endoplasmic reticulum stress and cell death induced by proteasome inhibition in myeloma cells. *Neoplasia* 2010; 12(7): 550–561. doi: 10.1593/neo.10228.
62. Shirazi F, Jones RJ, Singh RK et al. Activating KRAS, NRAS, and BRAF mutants enhance proteasome capacity and reduce endoplasmic reticulum stress in multiple myeloma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2020; 117(33): 20004–20014. doi: 10.1073/pnas.2005052117.
63. Besse L, Besse A, Mendez-Lopez M et al. A metabolic switch in proteasome inhibitor-resistant multiple myeloma ensures higher mitochondrial metabolism, protein folding and sphingomyelin synthesis. *Haematologica* 2019; 104(9): e415–e419. doi: 10.3324/haematol.2018.207704.
64. Flanagan K, Kumari R, Miettinen JJ et al. The peptide-drug conjugate melflufen modulates the unfolded protein response of multiple myeloma and amyloidogenic plasma cells and induces cell death. *Hemasphere* 2022; 6(3): e687. doi: 10.1097/H59.0000000000000687.

Investigating changes in the post-transcriptional pattern of *VEGF* and *CD146* genes carrying *miR-573* in breast cancer cells treated with tamoxifen

Zkoumání změn posttranskripčního úprav genů *VEGF* a *CD146* nesoucích *miR-573* v buňkách karcinomu prsu ošetřených tamoxifenem

Abyar M., Kavousi M., Jamshidian F.

Department of Biology, East Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Summary

Background: Recent developments regarding the contribution of microRNAs (miRNAs) to tumor angiogenesis and the oncogenic effects of miRNAs point to their potential role in breast cancer angiogenesis. Tumor-derived exosomes are considered a rich source of miRNAs that can regulate the function of other cells in the tumor microenvironment, including vascular endothelial cells. This study analyzes the effect of tamoxifen chemotherapy on the expression of a key miRNA, *miR-573*, involved in the angiogenesis of the tumor exosomes and introduces a regulatory link between this miRNA and the *CD146* gene associated with the vascular endothelial growth factor (*VEGF*) messaging pathway. **Materials and methods:** MCF-7 breast cancer cells were purchased and cultured in a complete culture medium. These cells were treated with tamoxifen and then their exosomes were extracted from the culture medium. The RNAs of the exosomes were isolated and the expression of *miR-573*, *VEGF*, and *CD146* genes in the exosomes was investigated using the real-time polymerase chain reaction (PCR) method. **Results:** The results of this study showed that tamoxifen treatment increased the expression of *miR-573* in exosomes derived from MCF-7 cancer cells. The expression of *CD146* and *VEGF* genes in drug-treated cell exosomes had a downward pattern. **Conclusion:** The results of this experiment demonstrated that the treatment of breast cancer cells with tamoxifen reduces the expression of *VEGF* and *CD146* by increasing *miR-573*. Thus, angiogenesis is reduced and, therefore, its anti-tumor effects are applied.

Keywords

breast cancer – tamoxifen – tumor angiogenesis – exosome – miR-573

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

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

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

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



Dr. Faranak Jamshidian
Department of Biology
East Tehran Branch
Islamic Azad University
Tehran, Iran
Postal Code: 1477893855
e-mail:
faranak.jamshidian@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 20. 1. 2023

Accepted/Přijato: 20. 7. 2023

doi: 10.48095/ccko2023447

Souhrn

Východiska: Nejnovější výzkumy týkající se podílu microRNA (miRNA) na nádorové angiogenezi a onkogenních účinků miRNA ukazují na jejich potenciální roli při angiogenezi karcinomu prsu. Exozomy získané z nádoru jsou považovány za bohatý zdroj miRNA, které regulují funkce ostatních buněk v nádorovém mikroprostředí, vč. endoteliálních buněk cév. Tato studie analyzuje účinek chemoterapie tamoxifenem na expresi klíčové miRNA, *miR-573*, která se účastní angiogeneze v exozomech nádoru a působí jako regulační spojka mezi miRNA a genem *CD146*, který je součástí dráhy vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (vascular endothelial growth factor – *VEGF*). **Materiál a metody:** Byly zakoupeny buňky karcinomu prsu MCF-7 a kultivovány v kompletním médiu. Tyto buňky byly ošetřeny tamoxifenem a z média byly následně extrahovány jejich exozomy. Byla izolována RNA exozomů a pomocí metody polymerázové řetězové reakce (PCR) v reálném čase byla vyhodnocena exprese genů *miR-573*, *VEGF* a *CD146* v exozomech. **Výsledky:** Výsledky této studie ukázaly, že ošetření buněk tamoxifenem zvýšilo expresi *miR-573* v exozomech získaných z nádorových buněk MCF-7. Exprese genů *CD146* a *VEGF* v exozomech buněk ošetřených léčivem měla klesající tendenci. **Závěr:** Výsledky tohoto pokusu prokázaly, že ošetření nádorových buněk tamoxifenem snižuje expresi genů *VEGF* and *CD146* zvýšením *miR-573*. Dochází tedy k omezení angiogeneze a tím k protinádorovému působení léčiva.

Klíčová slova

karcinom prsu – tamoxifen – nádorová angiogeneze – exozom – miR-573

Introduction

Breast cancer occurs as a result of the abnormal growth of cells in the breast. That growth pattern stops at a certain stage in benign tumors, whereas the malignancy development continues uncontrollably in malignant tumors that if left untreated, affect and disable all parts of the body [1]. Tamoxifen is a drug used to reduce or stop the effects of the female hormone, estrogen, in the body and is one of the drugs used in breast cancer treatment [2]. MicroRNAs (miRNAs) are a new class of endogenous non-coding RNA molecules that regulate gene expression at the post-transcriptional level by mRNA degradation and/or translation inhibition. There exist more than 2,000 miRNA-encoding genes in the human genome, which make up about one percent of the whole genome [3]. The essential role of miRNA in the processes of carcinogenesis and oncogenesis is obvious. Available evidence suggests that abnormal levels of expression in some specific miRNAs can cause misalignment of cancer cells. MiRNA molecules can play an important role in disease control at the biological stages. These miRNAs can act as oncogenes or tumor suppressor genes. The study of the expression of total genome miRNAs in recent years has shown more detailed information about the intervening role of these small regulatory molecules in human cancers [4].

Exosomes are small vesicles (50–100 nm) that have recently been known as intercellular communication linkers.

Exosomes can transfer lipids, proteins, mRNAs, and miRNAs to the receptor cell when moving to other cells. Cancer cells have been shown to secrete far more exosomes than normal cells, thus transmitting tumor-dependent signaling molecules to surrounding cells [5].

MiRNAs are among the molecules being transferred by exosomes and regulate most of the cell's biological functions. They regulate translation and transcription programs and coordinate pathological as well as physiological processes such as development, cell differentiation, proliferation, apoptosis, and tumor growth [6]. MiRNAs act as small guide molecules in RNA silencing and negatively regulate the expression of various genes, both at the miRNA level and the protein level, by degrading the target miRNA and silencing the translation. One of the recent developments in this field of study is the understanding of their role in oncogenesis. The number of miRNA genes is increasing, and changes in the level of miRNAs play a role in the initiation, progression, and metastasis of various tumors. Biochemical and genetic evidence confirms the role of miRNAs in tumor development. The abnormal expression of miRNAs in cancer cells is a well-known phenomenon, the cause of which is yet unidentified [7]. The exact mechanism by which tumor cell-derived exosomes affect their constituent microenvironmental cells, including endothelial cells, has not yet been determined, and the biological function of exosomal miRNAs in receptor cells is not well

understood. Therefore, this study investigates the effect of tamoxifen chemotherapy drug on the expression of a key miRNA involved in angiogenesis, *miR-573*, in tumor exosomes and introduces a regulatory relationship between this miRNA and *CD146* gene, associated with vascular endothelial growth factor (*VEGF*) messaging pathway.

Materials and methods

Cell preparation and culture

The MCF-7 breast tumor cell line with NCBI CODE 135 and HUVEC cell line were both purchased from the Iranian Genetic Resources Center. Subsequently, the cells were cultured in a full culture medium containing FBS and trypsin (GibCo). The flasks were kept inside an incubator with CO₂ saturation rate 5% and a temperature of 37 °C.

Tamoxifen treatment

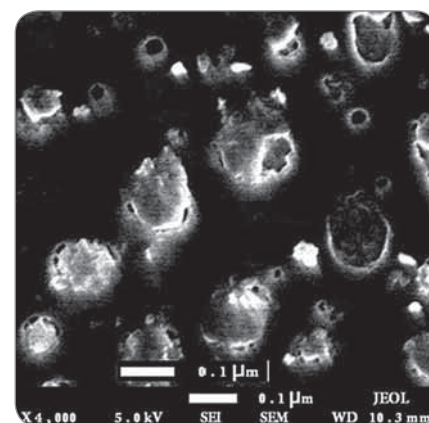
Based on the results of various experiments and resource reviews [8], tamoxifen IC₅₀ was a concentration between 54 μM (equivalent to 20 μg/mL) and 68 μM (equivalent to 25 μg/mL). Hence, the concentration of 60 μM (as a concentration close to IC₅₀) was considered for the treatment in this study.

Exosome isolation

Exosomes were isolated from the culture medium of MCF-7 cells. For this purpose, the culture medium was first centrifuged at 3,000 g for 10 minutes to separate the dead cells from the culture medium. Exoquick solution (System

Tab. 1. The sequence of forward and reverse primers used to study gene expression.

Genes	Primers	Primer sequences
<i>VEGF</i>	forward	5-TGCAGATTATGCGGATCAAACC-3
	reverse	5-TGCATTACATTTGTTGTGCTGTAG-3
<i>CD146</i>	forward	5-GGGTACCCCATTCCTCAAGT-3
	reverse	5-CAGTCTGGGACGACTGAATG-3
<i>U6snRNA</i>	forward	5-CTCGCTTCGGCAGCACATATACT-3
	reverse	5-ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC-3
<i>GAPDH</i>	forward	5-ACCCACTCTCCACCTTTGA-3
	reverse	5-CTGTTGCTGTAGCCAAATTCGT-3


Fig. 1. Exosomes isolated from MCF-7 breast cancer cells' supernatant. As can be seen in the figure, these exosomes are spherical and have a size in the range of 30–150 nm.

Biosciences) was then added to the supernatant. Vortex binds the exoquick solution to exosomes. Then it was incubated for 20 minutes at 4 °C. The centrifugation was afterwards performed at a speed of 1,500 g for 15 minutes. 50 μL PBS was then added to the solution and pipetting was performed. The content was transferred to a microtube and placed on a heater for 5 minutes at 70 °C and then at –20 °C. Exosome isolation was performed from the supernatants of both treated and control cell groups, confirmation of which was done by microscopic examination, digital electron microscope (Digital FESEM, KYKY-EM3200, China), evaluating the size and morphology of the exosomes.

Exosome labeling

PKH26 (PKH26 Red fluorescent – Mini26-1, Sigma) was used to label the exosomes. One mL of the exosome was transferred to a microtube, and 1 mL of diluent C was added to it and gently pipetted. From the diluted paint PKH26, 1 mL was added into the microtube which contained the exosome, and then incubated at room temperature for 5 min. To stop the labeling, 2 mL of diluent C was again added into the microtube and placed at room temperature for 5 more minutes. Then the exoquick solution was added with a ratio of 3 : 1 and kept at 4 °C for 20 minutes. Later, the solution was centrifuged for 20 minutes at 15,000 g. After centrifugation, the top solution was removed and the exosome-containing precipitate was dissolved in 30 μB PBS.

The endothelial cell was then treated with stained exosomes, followed by incubation at room temperature for 12 hours. Due to the presence of miRNAs in exosomes, the exosomal transmission of *miR-206* to fibroblast cells was investigated. In this regard, fibroblast cells were treated by 100 μg/mL tumor exosomes and 50 μg/mL alpha-amanitine. The rate of *miR-206* transferring to fibroblast cells was evaluated at 0, 24, and 48 hours post-treatment. The reason for using alpha-amanitine is to inhibit any transcription activity that can be induced by exosomal treatment in cells.

RNA isolation

RNA isolation from cells and exosomes was performed using the Trizol (Invitrogen) agent. After centrifuging the cells and adding 50 μL of Trizol solution, 15 μL of chloroform was added to it and incubated at room temperature for 2–3 minutes. After centrifugation at 12,000 g, the upper phase was removed and isopropanol was added and then the whole solution was incubated on ice for 10 minutes. The centrifugation was performed another time at 12,000 g for 10 minutes. Subsequently, 1 mL of ethanol 75% was added to the residual precipitate, and centrifugation was performed again at 7,500 g at 4 °C for 5 min. The RNA sample was stored in a freezer at –80 °C. The quantitative analysis of the isolated RNA was done using spectrophotometry (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA).

Investigating the expression level of *CD146*, *VEGF*, and *miR-573*

cDNA was generated using the 1st strand cDNA Synthesis kit (Thermo Fisher Scientific), Oligo dT, and random hexamer primers. In order to perform the real-time PCR reaction, the forward and reverse primers (Tab. 1), cDNA, DEPC water, Mastermix, and CybrGreen dye were all added and the solution was placed in a thermocycler. Data analysis was performed using the threshold cycle comparison method according to the table below. Normalization of changes in miRNA expression level was done in comparison with the endogenous *U6 snRNA* expression level, while the expression level of other genes was compared with *GAPDH*. Data analysis was performed using ABI step one Real-Time PCR Software v2.0.2 (Applied Biosystems, UK), Excel software (Microsoft, 2010), and GraphPad software.

Statistical analysis

Statistical analysis of the obtained data was performed using the SPSS v.20 software, Anova test and Tukey follow-up test. $P < 0.05$ was considered significantly meaningful in this study.

Results

Exosome isolation confirmation

The size and morphology of the exosomes were evaluated by electron microscopy. The results showed that the

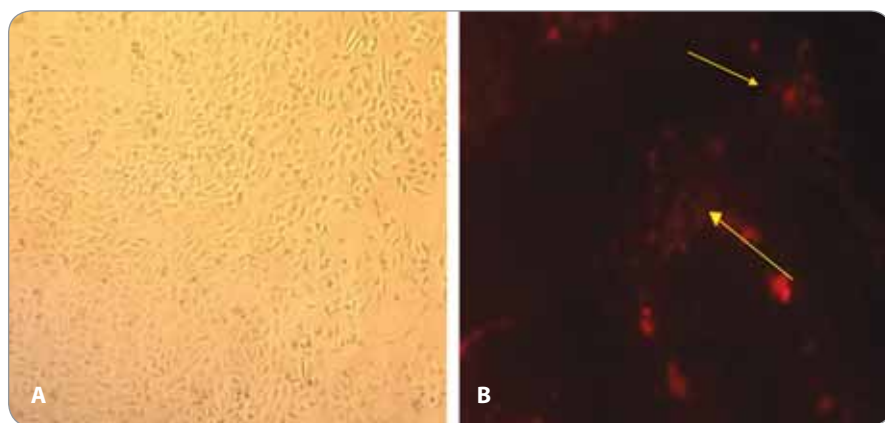
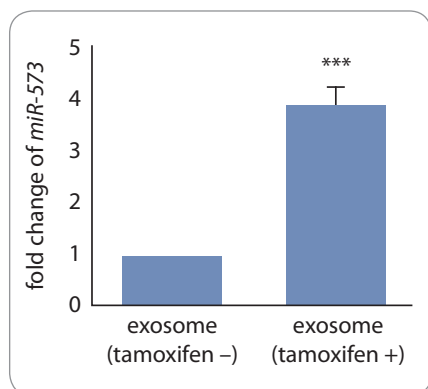


Fig. 2. A) HUVEC endothelial cell line (magnification 90 \times); B) locating PKH26-labeled tumor exosomes in the cytoplasm of endothelial cells.

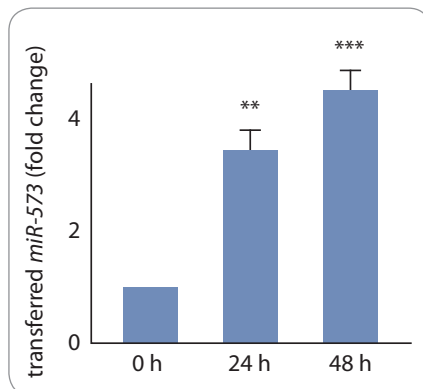


Graph 1. The expression level of *miR-573* in MCF-7 cancer cell-derived exosomes treated by tamoxifen compared with the control untreated group. Expression of *miR-573* is significantly higher in exosomes derived from tamoxifen-treated cells than the control group.

isolated exosomes had a spherical appearance with a size range of 30–150 nm (Fig. 1).

Measurement of endothelial cells' ability to absorb PKH26 fluorescent-labeled tumor exosomes

In order to determine the ability of endothelial cells to absorb tumor exosomes, HUVEC endothelial cells were treated by PKH26-labeled fluorescent colored exosomes. They were then incubated for 12 hours. Fluorescent microscopic analysis showed that PKH26 fluorescent-labeled exosomes are located in the cytoplasm of endothelial cells (Fig. 2). This indicates the ability of HUVECs to absorb exosomes derived from breast tumor cells.



Graph 2. Exosomal transfer of *miR-573* to endothelial cells has a time-dependent manner. Over time, the exosomal transfer has increased significantly.

Examination of *miR-573* expression level in exosomes isolated from MCF-7 breast cancer cells

According to Graph 1, the *miR-573* expression level in tumor cell-derived exosomes treated with tamoxifen has a higher expression than exosomes derived from the control cell group. This result suggests that tamoxifen treatment may alter the expression profile of miRNAs which have tumor suppressor activities such as *miR-573* in tumor cell-derived exosomes. The expression level of *miR-573* being treated by tamoxifen has up-regulation.

Transferring *miR-573* from MCF-7 breast tumor cell-line to HUVEC endothelial cells

Initially, the exosomal transfer of *miR-573* to endothelial cells was investigated due to the presence of miRNAs in the

exosomes. For this reason, HUVEC endothelial cells were first treated by 100 μ g/mL alpha-amanitin, and then the rate of *miR-573* transfer to endothelial cells was assessed at 0, 24, and 48 hours post-treatment. The reason lying behind using alpha-amanitin is to inhibit any transcription activity that can be induced by exogenous exosomes in the endothelial cells. As it is seen in Graph 2, the level of *miR-573* transcripts in endothelial cells treated by exosomes and alpha-amanitin increased significantly over time.

Effects of breast tumor cells-derived exosomes on the expression level of *CD146* and *VEGF* genes: tumor-derived exosomes that have been left untreated induced the expression level of *CD146* and *VEGF* genes time-dependently. Much to our surprise, in contrast, tamoxifen-treated tumor exosomes reduced *CD146* and *VEGF* expression levels over time. Therefore, given the greater presence of *miR-573* in tamoxifen-treated tumor exosomes, it is comprehended that the *miR-573* exosomal transfer reduces the expression level of *CD146* and *VEGF* in endothelial cells after 24 and 48 hours significantly and time-dependently. Therefore, it is assumed that the exosomal transfer of *miR-573*, which is a tumor suppressor, from the mammary tumor cells being treated by tamoxifen may have an inhibitory effect on angiogenesis through decreasing the activity and expression level of *CD146* and *VEGF* pro-angiogenic genes (Graphs 3,4).

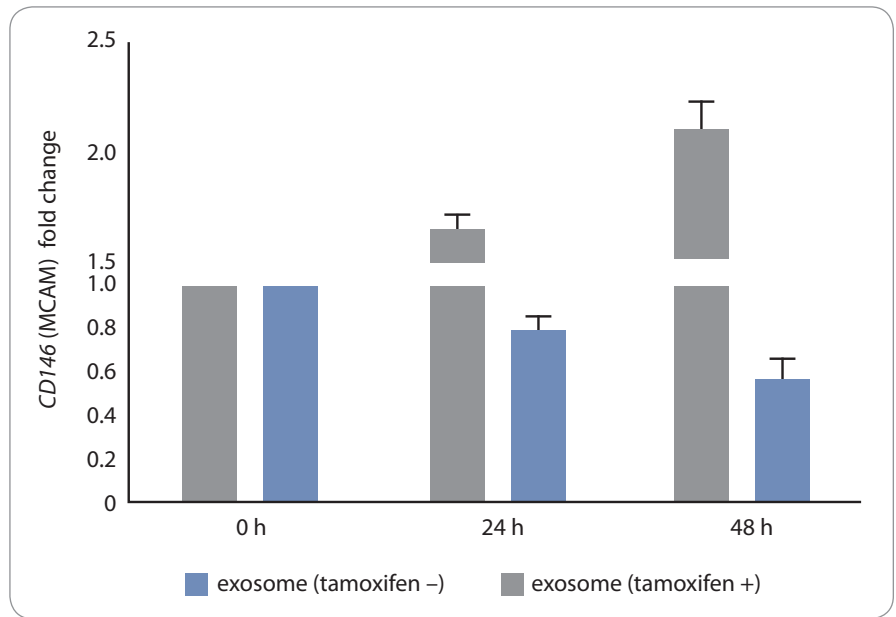
Discussion

Cancer cells seek to activate regulatory pathways for survival and development, as well as to obtain the metabolites and growth factors they need [9]. Since angiogenesis is developed by microenvironmental changes in cancer cells through tumor exosomes, it appears that inhibiting angiogenesis is mediated by the anti-angiogenic chemotherapy drug, tamoxifen, through modulating related miRNAs' expression. Therefore, it is assumed that tumor cell exosomes should be targeted to inhibit angiogenesis [10]. Tumor-derived exosomes are considered as a rich source of miRNAs

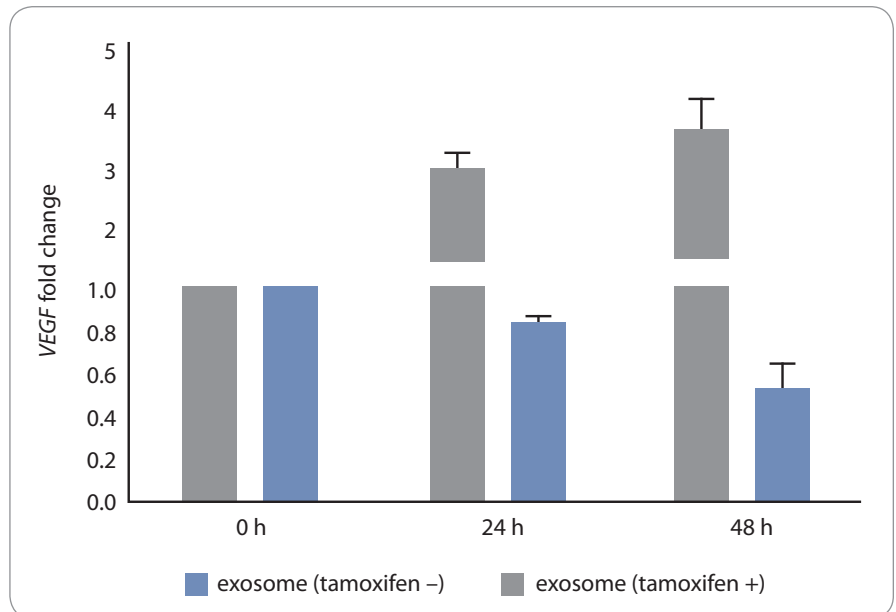
that could regulate the function of other cells in the tumor microenvironment, including vascular endothelial cells. However, the exact mechanisms by which tumor cell-derived exosomes affect their microenvironmental cells, as well as the biological function of exosomal miRNAs in cells, have not been well established [11]. Therefore, this study evaluated the effect of one of the chemotherapy drugs, tamoxifen, on the expression level of a key miRNA involved in angiogenesis, *miR-573*, and tried to introduce a regulatory relationship between this miRNA and *CD146* gene associated with the VEGF messaging pathway. The results showed that the expression of *miR-573* in the exosomes derived cells treated by tamoxifen increased significantly and time-dependently. On the other hand, the expression of *CD146* and *VEGF* genes in drug-treated cell exosomes had a downward pattern.

In 2015, Tahakashi et al. investigated the breast tumor-derived miRNAs and introduced these miRNAs as a diagnostic biomarker in the treatment of breast cancer [12]. The result of the presented study, in line with the research of Tahakashi et al., confirmed the role of *miR-573* as a diagnostic biomarker in breast cancer. In 2015, Hanafen et al. concluded that the use of the anti-cancer drug docosahexaenoic acid (DHA) changes the exosomal secretions of breast cancer cells. They isolated MCF7 and MDA-MB-231 breast cancer cell exosomes after treatment with DHA and observed an increase in the secretion of exosomes and the content of miRNAs of DHA-treated exosomes. The expression level of *miRNA-83* in MCF7-treated exosomes had changed. The group concluded that DHA alters the exosomal secretions of breast cancer cells and their miRNA content, thereby inhibiting angiogenesis [13]. Although the chemotherapy drug used in the present study, tamoxifen, is different from that of Hanafen et al., the results are in line with each other in terms of diminishing the expression level of genes targeting the angiogenesis and cancer development.

The *CD146* molecule belongs to the family of immunoglobulins. Recent research suggests that *CD146* is an endo-



Graph 3. inhibitory effect of mammary tumor cell-derived exosomes treated by tamoxifen in comparison with the progressive effect of the control group which has been left untreated on *CD146* gene expression after 24 and 48 hours of treatment (gene expression is normalized by the *GAPDH* gene).



Graph 4. Inhibitory effect of mammary tumor cell-derived exosomes treated by tamoxifen in comparison with the progressive effect of the control group which has been left untreated on *VEGF* gene expression after 24 and 48 hours of treatment (gene expression is normalized by the *GAPDH* gene).

thelial biomarker that promotes angiogenesis. The antibody against *CD146*, called AA98, prevents the migration of endothelial cells and subsequently prohibit angiogenesis and the growth of human tumors, and plays an important

role in cell migration, especially in invasive intermediate trophoblast cells. It has recently been discovered that the *CD146* is a transferring inducer between the epithelium and the mesenchymal tissue, thus expanding the in-

vasion of breast cancer cells. *CD146* is known as a receptor on endothelial cells. Tumor secretions stimulate the dimerization of *CD146* molecules, activation of p38 MAPKs / NF- κ B, and activation of many gene-producing genes including *VEGF*, *MMP-9*, and *IL-8*. AA98, which is the anti-molecular antibody of *CD146*, interferes with this signaling. The association of *CD146* with tyrosine kinase P59, phosphorylase P125, and paxillin promotes the migration of endothelial cells. *CD146* promotes angiogenesis in both laboratory and somatic cell conditions [14].

Increasing the expression level of *CD146* facilitates the endothelial response to the kinase SRC stimulated by VEGF or VEGF-induced SRC kinase family (SKF), p38 mitogen-activated protein kinase (MAPKs) and NF-kappaB activation, and subsequently increases the migration of endothelial cells and tube formation. *CD146* is a co-receptor for VEGFR-2; therefore, suppression of *CD146* by *miR-329* impairs signaling and angiogenesis induced by VEGF [15].

The expression level of *miR-573* decreases in various tumors and its re-expression in the cell prevents the growth and development of melanoma. Characteristics of rheumatoid arthritis, which is a chronic autoimmune disease, is angiogenesis and cartilage decay in which *miR-573* has a role [16]. *MiR-578* and *miR-573* play a role in the process of angiogenesis in breast cancer associated with *BRCA* gene. Laboratory evaluations on HEK293, MCF-7, and SUM149PT cells to investigate the role of *miR-578* and *miR-573* have shown that these miRNAs have been suppressed in breast cancer associated with *BRCA 1/2*. *MiR-578* and *miR-573* are associated with the central connection, or focal adhesion, VEGF, and the signaling pathway of hypoxia inducible factor-1 (HIF-1). *MiR-578* and *miR-573* control angiogenesis in breast cancer associated with *BRCA 1/2*, and do so by regulating VEGF and inducing HIF-1 [17]. In line with this research, the present study showed that when the ta-

moxifen-treated exosomes were transferred to the endothelial cell line, the expression of *VEGF* gene had a decreasing pattern.

Conclusion

Based on the results of the present study on the MCF-7 breast cancer cell line, it was found that there was a significant relationship between 60 μ M dose of tamoxifen and MCF-7 cell supernatant exosomes, in a way that the expression level of exosomal *miR-573* showed a significant increase. In this study, the effect of tamoxifen-treated tumor-derived exosomes was evaluated on the HUVEC endothelial cell line to assess the process of angiogenesis and treatment of breast cancer in its early stages. Applying the experiment group to the endothelial cell line reduces the expression of *CD146* gene in endothelial cells significantly over time. The second gene studied in this study was *VEGF*, the result of which was the same as *CD146*. Ultimately, this paper could conclude that the exosomal transfer of *miR-573* to endothelial cells reduces the expression of genes responsible for the angiogenesis process, including *VEGF* and *CD146*, identification of which could mitigate the tumor process.

When breast cancer cells are treated with tamoxifen, the level of *miR-573* which is a tumor suppressor miRNA in the exosomes of these cells, is much higher than in untreated cancer cells. In contrast, when tamoxifen-treated tumor-derived exosomes are transferred to endothelial cells, the expression level of *CD146* and *VEGF* genes declines in a time-dependent manner. This achievement brings us to the idea that the therapeutic effect of tamoxifen on breast cancer lies behind its relationship with the expression level of exosomal miRNAs that regulate the cancer microenvironment.

Acknowledgments

This study was conducted at the cellular and molecular laboratory of Islamic Azad University, thus appreciating the spiritual support of these centers is admitted.

Availability of data and materials

The data used in this study are available from the corresponding author upon request.

References

1. Albeshan SM, Mackey MG, Hossain SZ et al. Breast cancer epidemiology in gulf cooperation council countries: a regional and international comparison. *Clin Breast Cancer* 2018; 18(3): e381–e392. doi: 10.1016/j.clbc.2017.07.006.
2. Rondón-Lagos M, Villegas VE, Rangel N et al. Tamoxifen resistance: emerging molecular targets. *Int J Mol Sci* 2016; 17(8): 1357. doi: 10.3390/ijms17081357.
3. Dragomir MP, Knutsen E, Calin GA. SnapShot: unconventional miRNA functions. *Cell* 2018; 174(4): 1038–e1038. doi: 10.1016/j.cell.2018.07.040.
4. Fasoulakis Z, Daskalakis G, Diakosavvas M et al. MicroRNAs determining carcinogenesis by regulating oncogenes and tumor suppressor genes during cell cycle. *Microna* 2020; 9(2): 82–92. doi: 10.2174/2211536608666190919161849.
5. Thind A, Wilson C. Exosomal miRNAs as cancer biomarkers and therapeutic targets. *J Extracell Vesicles* 2016; 5(1): 3129. doi: 10.3402/jev.v5.31292.
6. Yang F, Ning Z, Ma L et al. Exosomal miRNAs and miRNA dysregulation in cancer-associated fibroblasts. *Mol Cancer* 2017; 16(1): 148. doi: 10.1186/s12943-017-0718-4.
7. Jansson MD, Lund AH. MicroRNA and cancer. *Mol Oncol* 2012; 6(6): 590–610. doi: 10.1016/j.molonc.2012.09.006.
8. Moheghi N, Afshari JT, Brook A. The cytotoxic effect of zingiber officinale in breast cancer (MCF7) cell line. *Horizon Med Sci* 2011; 17(3): 28–34.
9. Paduch R. The role of lymphangiogenesis and angiogenesis in tumor metastasis. *Cell Oncol* 2016; 39(5): 397–410. doi: 10.1007/s13402-016-0281-9.
10. Jia Y, Chen Y, Wang Q et al. Exosome: emerging biomarker in breast cancer. *Oncotarget* 2017; 8(25): 41717–41733. doi: 10.18632/oncotarget.16684.
11. Sun Z, Shi K, Yang S et al. Effect of exosomal miRNA on cancer biology and clinical applications. *Mol Cancer* 2018; 17(1): 147. doi: 10.1186/s12943-018-0897-7.
12. Takahashi R-U, Miyazaki H, Ochiya T. The roles of microRNAs in breast cancer. *Cancers* 2015; 7(2): 598–616. doi: 10.3390/cancers7020598.
13. Hannafon BN, Carpenter KJ, Berry WL et al. Exosome-mediated microRNA signaling from breast cancer cells is altered by the anti-angiogenesis agent docosahexaenoic acid (DHA). *Mol Cancer* 2015; 14(1): 133. doi: 10.1186/s12943-015-0400-7.
14. Jiang M, Huang Q, Zhang X et al. Curcumin induces cell death and restores tamoxifen sensitivity in the antiestrogen-resistant breast cancer cell lines MCF-7/LCC2 and MCF-7/LCC9. *Molecules* 2013; 18(1): 701–720. doi: 10.3390/molecules18010701.
15. Wang P, Luo Y, Duan H et al. MicroRNA 329 suppresses angiogenesis by targeting *CD146*. *Mol Cell Biol* 2013; 33(18): 3689–3699. doi: 10.1128/MCB.00343-13.
16. Wang L, Song G, Zheng Y et al. MiR-573 is a negative regulator in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Cell Mol Immunol* 2016; 13(6): 839–849. doi: 10.1038/cmi.2015.63.
17. Danza K, De Summa S, Pinto R et al. MiR-578 and miR-573 as potential players in BRCA-related breast cancer angiogenesis. *Oncotarget* 2015; 6(1): 471–483. doi: 10.18632/oncotarget.2509.

The effect of demographic and clinical data on anxiety and depression levels in breast cancer patients receiving radiotherapy

Vliv demografických a klinických údajů na úzkost a depresi u pacientek s karcinomem prsu léčených radioterapií

Benderli Cihan Y.¹, Ozturk O.²

¹ Department of Radiation Oncology, Kayseri City Education and Research Hospital, Turkey

² Department of Statistics, Hacettepe University, Turkey

Summary

Purpose: The aim of this study is to investigate the effects of sociodemographic and clinical data on depression and anxiety levels in patients who undergoing radiotherapy for breast cancer. **Materials and methods:** A total of 111 patients with breast cancer treated in the Radiation Oncology Department of Kayseri City Education and Research Hospital were included in this study. The study was planned prospectively as a survey research based study. Ethics committee approval was obtained. After obtaining the necessary consent for voluntary participation, patients were interviewed face-to-face. The research survey included the Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS), as well as demographic and clinical information. Statistical analysis was performed with the collected data. **Results:** According to the results of repeated measures analysis of variance, the mean difference between the 3-month and 6-month measurements of the depression scale values on the first day of radiotherapy was statistically significant ($P < 0.001$). Mean differences were statistically notable for age and marital status variables in anxiety and for age, education level, marital status, employment status, family history of cancer, menopause, surgery, chemotherapy and hormone therapy variables in depression. When the change in the presence (> 10 depression scale) or absence (< 10 depression scale) of depression at three different times of radiotherapy (first day, 3 and 6 months) was examined, a statistically notable difference was found between the depression scale values of patients receiving radiotherapy on the first day, 3 months after radiotherapy and 6 months after radiotherapy ($P < 0.05$). **Conclusion:** According to the results of our study, the psychological health of women with breast cancer was affected during and after radiotherapy. As a response, psychiatric counseling should be considered as a part of the treatment for depression and anxiety that occur during and after treatment in breast cancer patients.

Keywords

breast cancer – radiotherapy – depression – anxiety – Hospital Anxiety and Depression Scale

The authors declare that 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.



Yasemin Benderli Cihan

Department of Radiation Oncology
Kayseri City Education and Research
Hospital
Şeker District, Muhsinyazicioğlu
Boulevard, No: 77
38080 Kocasinan/Kayseri, Turkey
e-mail: cihany@erciyes.edu.tr

Submitted/Obdrženo: 28. 10. 2022

Accepted/Přijato: 28. 3. 2023

doi: 10.48095/ccko2023453

Souhrn

Cíl: Cílem této studie je prozkoumat vliv sociodemografických a klinických dat na míru deprese a úzkosti u pacientek s karcinomem podstupujících radioterapii. **Materiál a metody:** Do této studie bylo zahrnuto 111 pacientek s karcinomem prsu léčených na oddělení radiační onkologie nemocnice Kayseri City Education and Research Hospital. Studie byla plánována prospektivně jako studie založená na průzkumu. Byl získán souhlas etické komise. Po získání potřebného souhlasu s dobrovolnou účastí ve studii byly s pacientkami vedeny individuální („face-to-face“) rozhovory. Průzkum zahrnoval škálu Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) a také demografické a klinické informace. U shromážděných dat byla provedena statistická analýza. **Výsledky:** Podle výsledků analýzy rozptylu opakovaných měření byl zjištěn statisticky významný průměrný rozdíl mezi hodnotami na škále deprese zjištěnými po 3 a 6 měsících a hodnotami získanými v první den radioterapie ($p < 0,001$). V případě úzkosti byly zjištěny statisticky významné průměrné rozdíly u proměnných jako je věk a rodinný stav a v případě deprese u proměnných jako je věk, dosažené vzdělání, rodinný stav, zaměstnání, výskyt rakoviny v rodinné anamnéze, menopauza, operace, chemoterapie a hormonální terapie. Když byla zkoumána změna ve výskytu (škála deprese > 10) nebo absenci (škála deprese < 10) deprese ve třech různých časech radioterapie (první den, 3 měsíce a 6 měsíců), mezi hodnotami na škále deprese u pacientek léčených radioterapií zjištěných první den radioterapie a 3 a 6 měsíců po radioterapii byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,05$). **Závěr:** Podle výsledků naší studie bylo psychické zdraví žen s karcinomem prsu ovlivněno během radioterapie i po ní. U pacientek, u kterých se během léčby karcinomu prsu vyskytne úzkost nebo deprese, by tedy mělo být zvaženo začlenění psychiatrického poradenství do léčby.

Klíčová slova

karcinom prsu – radioterapie – deprese – úzkost – škála Hospital Anxiety and Depression Scale

Introduction

Cancer is a very serious health problem that affects people physically and emotionally. Some side effects can be seen depending on both the disease and the treatments applied. This causes reactions in the patient that can be defined as a crisis. A crisis is a period of transition from a healthy life to a new life, illness and being under constant threat. Emotional reactions such as anxiety and depression may be observed in the patient after the crisis [1–3].

In patients with breast cancer, there will be reasons such as deterioration in body image, inadequacy in social support, feeling of helplessness against cancer, inability to meet the needs in the disease process on time, negative experiences in the past, negative perceptions about the disease, isolation due to the disease, prolonged treatment, side effects of the treatment, activity limitation. It increases the uncertainty about the situation and leads to hopelessness. This hopelessness may facilitate the emergence of anxiety and depression (AD) in sick individuals. Both anxiety and depression are among the most common mental disorders in cancer patients [4–6]. The rate of anxiety disorders seen in cancer patients has been reported in a very wide range, ranging from 0.9–49% and for the frequency of depression 4.5–58%. Possible reasons for this difference in prevalence rates are social or demo-

graphic factors, differences in cancer types and treatment [4–11].

Compared to the general population, the rate of pathological AD was found to be higher in patients with breast cancer. Failure to properly diagnose and follow-up AD reduces the quality of life of patients. In patients with poor quality of life, compliance with the treatment plan decreases and the length of hospital stay is prolonged. For this reason, it is important for physicians to know the prevalence of psychiatric disorders such as anxiety and major depression that may occur in patients with breast cancer. Physicians should have a high awareness of the psychosocial changes that these emerging psychological disorders can cause in the patient. It is known that AD in cancer patients negatively affects the prognosis because it harms the patient mentally [12–15].

Some scales have been prepared for the examination of symptoms related to general medical condition for AD. One of the most commonly used of these scales is the „Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)“. The purpose of this scale is to determine the risk group by scanning AD in a short time in patients with physical diseases, not making a diagnosis. In addition, the scale is also used to evaluate the change in the emotional state of the patient. Therefore, the scale does not include any physical symptoms. When patients scored 0–10 for anxiety, patients were defined

as no anxiety, 11 or more anxiety, and 0–7 points for depression as no depression, 8 or more depression. The HADS scale was used in comparison with other scales and it was found to be sufficient in terms of evaluating AS in patients with physical illness [13–18].

In this context, we aimed to determine the effects of sociodemographic and clinical data on AS in breast cancer patients receiving radiotherapy (RT).

Materials and method

Purpose of the study

This study was conducted to evaluate the effects of sociodemographic and clinical data on AS in stage 1–3 breast cancer patients receiving RT.

Ethical aspect of the study and Ethics Committee approval

Permission was obtained from the Erciyes University Non-Interventional Clinical Research Ethics Committee before starting the study. After informing each participant about the purpose of the study, its implementation, the volunteering of participating in the study and that they can leave at any time, their verbal and written consents were obtained by giving a voluntary consent form to those who wanted to participate.

Conduct of the study

In our study, each patient filled in forms containing informed consent form, de-

mographic and clinical information before the study. In addition, the HADS scale was applied to each patient three times, on the first day of RT, at the end of the 3rd month and at the end of the 6th month. Patients with a history of metastatic, cerebrovascular events and a known cardiac, orthopedic, neurologic, or serious psychiatric illness were excluded from the study.

Data collection tools

Before the study, a questionnaire prepared by the researcher containing the demographic characteristics of the patients and the HADS scale were used to collect the data.

Demographic characteristics questionnaire

This form, which was prepared by scanning the literature, consists of questions that include patients’ socio-demographic characteristics, treatment and disease information. It consists of 13 questions to obtain information about the participants’ age, education level, marital status, employment status, comorbidity, family history of cancer, tumor stage, and treatment.

Hospital anxiety and depression scale

Developed by Zigmond and Snaith in 1982, the scale addresses the cognitive and emotional symptoms of AD. The scale consists of 14 questions. The scale has 2 subscales with 7 items assessing depression and 7 items evaluating anxiety. The 1st, 3rd, 5th, 7th, 9th, 11th, and 13th questions of the scale describe anxiety; Questions 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 measure depression. Responses are evaluated in a three-point Likert format and scored between 0–3. A change was made in order to prevent repetitions of responses, while the first response in one item reflects the severity, the last response in the next item contains direct and reverse expressions, reflecting the highest severity. Reverse statements are included in questions 1, 3, 5, 6, 8, 10, 11, 13.

In Zigmond’s study, the cut-off point of the scale was determined as 7 for anxiety and depression. Scoring of the scale was expressed as 0–7 normal, 8–10 suspicious, and 11 or more pa-

Tab. 1. Sociodemographic data and clinical findings of the patients participating in the study.

Quantitative variables	$\bar{X} \pm SD$	stages	
age	55.05 ± 12.14 median (min–max) 56.0 (24.0–84.0)	1	1 (0.9)
		2	14 (12.7)
		3	95 (86.4)
Qualitative variables	N (%)	surgery	
age		MRM	38 (34.2)
< 63 years	79 (71.2)	BCS	73 (65.8)
> 64 years	32 (28.8)	chemotherapy	
working status		no	3 (2.7)
no	101 (91.0)	yes	108 (97.3)
yes	10 (9.0)	hormonal therapy	
marital status		no	16 (14.4)
single	16 (15.0)	yes	95 (85.6)
married	91 (85.0)	anxiety measurement 1	
education status		no	50 (45.0)
no	27 (24.3)	yes	61 (55.0)
yes	84 (75.7)	anxiety measurement 2	
family history of cancer		no	58 (52.3)
no	85 (76.6)	yes	53 (47.7)
yes	26 (23.4)	anxiety measurement 3	
menopause status		no	55 (49.5)
pre	41 (36.9)	yes	56 (50.5)
post	70 (63.1)	depression measurement 1	
additional illness		no	30 (27.0)
no	74 (66.7)	yes	81 (73.0)
yes	37 (33.3)	depression measurement 2	
tumor stages (AJCC 2009 stage)		no	8 (7.2)
1	11 (9.9)	yes	103 (92.8)
2	39 (35.1)	depression measurement 3	
3	53 (47.8)	no	11 (9.9)
4	8 (7.2)	yes	100 (90.1)
lymphnode (AJCC 2009 stage)		BCS – breast conserving surgery, MRM – modified radical mastectomy, SD – standard deviation, \bar{X} – arithmetic mean	
0	11 (9.9)		
1	6 (5.4)		
2	44 (39.6)		
3	50 (45.1)		

tients. When patients score 0–10 for anxiety, patients do not have anxiety; if it is eleven and above, it has anxiety. When

patients scored 0–7 for depression, they were defined as having no depression and having depression of 8 or more [18].

Tab. 2. Comparison of the Hospital Anxiety and Depression Scale mean scores of the patients participating in the study. According to the multiple comparison test result (Bonferroni), the difference in alphabetical (a, b) exponents indicates statistically significant.

Variables	Radiotherapy time			P
	first day (N = 111) $\bar{X} \pm SD$	3 months later (N = 111) $\bar{X} \pm SD$	6 months later (N = 111) $\bar{X} \pm SD$	
anxiety	10.31 ± 3.35	9.97 ± 3.25	10.86 ± 3.30	0.136
depression	8.75 ± 2.60 ^a	10.29 ± 2.21 ^b	9.93 ± 2.16 ^b	< 0.001

SD – standard deviation, \bar{X} – arithmetic mean

Its validity and reliability study was carried out by Aydemir et al. In 1996 and adapted to Turkish society. In this study, it was determined as 7 for anxiety and 10 for depression for the Turkish population [17].

Limitations of the study

The findings of the study are limited to a department in a hospital in the province of Kayseri, where the application was made, and the accuracy of the information obtained from the questionnaires.

Statistical analysis

The study was originally designed to enroll 111 individuals for a 6-month follow-up. Levene's test was used for the assumption of homogeneity of variance of the data. Shapiro-Wilk test and (q-q and histogram) graphs were used for the assumption of normal distribution of the data. The Cochran Q test was used to compare the change in anxiety and depression status of the patients included in the study on the first day, 3 months and 6 months later, and the McNemar test was used for pairwise comparisons when it was significant according to the Cochran Q test. The independent sample t test was used to compare the means of quantitative variables in two-group variables. One-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) was used to compare the means of quantitative variables in comparisons of data between three times (first day, 3 months later, 6 months later). The Bonferroni method was used for multiple compar-

ison. The Pearson correlation analysis was used to determine the direction and strength of the relationship between the scales ($0.0 < r < 0.20$ very weak, $0.20 < r < 0.40$ weak, $0.40 < r < 0.60$ normal, $0.60 < r < 0.80$ strong and $0.80 < r < 1.00$ very strong).

The analysis of the data was carried out in the statistical cloud software of TURCOSA (Turcosa Statistical Solutions Ltd. Sti). The significance level was accepted as $P < 0.05$.

Results

Sociodemographic and clinical data results of the patients are presented in Tab. 1. The mean age was 55.05 (24.0–84.0). A total of 70 patients were postmenopausal, 74 patients were operated on for breast conserving surgery (BCS). A total of 47.8% received stage 3, 97.3% received chemotherapy and 85.6% received hormone therapy.

According to the results of analysis of variance in repeated measurements, the mean differences of the anxiety ($P = 0.136$) variable at three different times (first day, 3 months later, 6 months later) when he received RT were not statistically significant while the mean differences of the depression scale were found to be significant ($P < 0.001$). According to the multiple comparison test, the mean of depression scale 3 months and 6 months after RT was found to be statistically significantly higher than the mean depression scale on the first day of RT ($P < 0.05$) (Tab. 2).

According to the analysis of variance in repeated measurements, the differ-

ences in the mean of age and marital status variables for anxiety scale at three different times (first day, 3 months later, 6 months later) were found to be statistically significant ($P < 0.05$) (Tab. 3). For depression scale, the difference was statistically significant in age groups, education, marital status, employment, family history of cancer and menopause ($P < 0.05$). According to the Student's t test results, for each measurement (first day, 3 months, 6 months) for working and unemployed patients, literate and illiterate patients, patients with pre- and post-menopausal status, and patients with and without additional disease conditions. While the mean differences of the AD scales were not statistically significant, the mean difference in the anxiety scale ($P = 0.039$) 3 months after RT was found to be statistically significantly higher in patients aged 64 and over compared to patients aged 63 and younger. In addition, the average of depression scale ($P = 0.004$) 3 months after radiotherapy was different in patients aged 63 years and younger compared to patients aged 64 years and older.

According to the results of analysis of variance in repeated measurements, patients with surgically modified radical mastectomy and BCS, patients receiving and not receiving chemotherapy, patients receiving and not receiving hormone therapy for each measurement (first day, 3 months later, 6 months later) anxiety scale mean differences were not found significant ($P > 0.05$). According to the results of analysis of variance in repeated measurements, the mean differences of depression scale ($P < 0.001$) in patients with surgical status of BCS, depression scale in patients receiving chemotherapy ($P < 0.001$), and depression scale in patients receiving hormone therapy ($P < 0.001$) were statistically significant. According to the multiple comparison test, the mean depression scale levels of patients with BCS, patients receiving chemotherapy, and patients receiving hormone therapy, 3 months after RT and 6 months after RT, were statistically significantly higher than the mean depression scale on the first day of RT (Tab. 4).

According to the Cochran'Q test, there was no statistically significant difference when comparing the state of anxiety

Tab. 3. Comparison of patients' sociodemographic data information according to the Hospital Anxiety and Depression Scale. According to the multiple comparison test result (Bonferroni), the difference in alphabetical exponents (a, b) indicates statistically significant.

Variables	Anxiety			P*	Depression			P*
	first day $\bar{X} \pm SD$	3 months later $\bar{X} \pm SD$	6 months later $\bar{X} \pm SD$		first day $\bar{X} \pm SD$	3 months later $\bar{X} \pm SD$	6 months later $\bar{X} \pm SD$	
age group								
63 years and under (N = 79)	10.11 ± 3.44 ^{ab}	9.57 ± 3.30 ^a	10.99 ± 3.21 ^b	0.030	8.58 ± 2.73 ^a	10.67 ± 2.23 ^b	9.77 ± 2.10 ^c	< 0.001
64 years and older (N = 32)	10.78 ± 3.11	10.97 ± 2.91	10.56 ± 3.56	0.884	9.16 ± 2.24	9.34 ± 1.86	10.31 ± 2.29	0.109
P#	0.344	0.039	0.542		0.295	0.004	0.234	
working status								
no (N = 101)	10.34 ± 3.29	10.01 ± 3.27	10.86 ± 3.30	0.182	8.85 ± 2.51 ^a	10.30 ± 2.23 ^b	9.82 ± 2.09 ^b	< 0.001
yes (N = 10)	10.00 ± 4.08	9.60 ± 3.10	10.90 ± 3.54	0.767	7.70 ± 3.37	10.20 ± 2.10	11.00 ± 2.71	0.079
P#	0.763	0.705	0.972		0.183	0.895	0.100	
marital status								
single (N = 16)	8.69 ± 3.65 ^a	10.00 ± 2.68 ^{ab}	11.81 ± 3.02 ^b	0.015	8.88 ± 4.03	9.19 ± 1.94	10.13 ± 2.19	0.476
married (N = 91)	10.59 ± 3.24	9.88 ± 3.37	10.76 ± 3.31	0.173	8.70 ± 2.32 ^a	10.53 ± 2.22 ^b	9.89 ± 2.17 ^b	< 0.001
P#	0.035	0.892	0.237		0.810	0.026	0.691	
education status								
no (N = 27)	9.56 ± 3.45	10.44 ± 3.03	10.22 ± 3.70	0.624	8.70 ± 2.87 ^a	9.63 ± 1.71 ^{ab}	10.41 ± 2.19 ^b	0.032
yes (N = 84)	10.55 ± 3.30	9.82 ± 3.32	11.07 ± 3.16	0.050	8.76 ± 2.53 ^a	10.50 ± 2.32 ^b	9.77 ± 2.14 ^b	< 0.001
P#	0.181	0.388	0.247		0.920	0.075	0.186	
family history of cancer								
no (N = 85)	10.15 ± 3.49	9.86 ± 3.17	10.71 ± 3.28	0.243	8.75 ± 2.82 ^a	10.53 ± 2.15 ^b	9.71 ± 2.00 ^c	< 0.001
yes (N = 26)	10.81 ± 2.83	10.35 ± 3.52	11.38 ± 3.38	0.566	8.73 ± 1.73 ^a	9.50 ± 2.25 ^{ab}	10.65 ± 2.51 ^b	0.006
P#	0.385	0.505	0.362		0.970	0.037	0.050	
menopause status								
pre (N = 41)	10.34 ± 3.37	10.10 ± 3.42	10.44 ± 3.26	0.903	8.15 ± 2.53 ^a	10.66 ± 2.44 ^b	9.59 ± 2.00 ^b	< 0.001
post (N = 70)	10.29 ± 3.36	9.90 ± 3.16	11.11 ± 3.33	0.082	9.10 ± 2.60 ^a	10.07 ± 2.05 ^b	10.13 ± 2.24 ^b	0.020
P#	0.933	0.759	0.301		0.062	0.178	0.202	
additional disease								
no (N = 74)	10.49 ± 3.29	9.76 ± 3.30	10.91 ± 3.20	0.102	8.77 ± 2.55 ^a	10.39 ± 2.04 ^b	9.76 ± 1.96 ^b	< 0.001
yes (N = 37)	9.95 ± 3.47	10.41 ± 3.13	10.78 ± 3.54	0.586	8.70 ± 2.75 ^a	10.08 ± 2.53 ^b	10.27 ± 2.51 ^b	0.034
P#	0.425	0.323	0.856		0.898	0.487	0.240	

P* – repeated measure analysis of variance, P# – independent sample t test, SD – standard deviation, \bar{X} – arithmetic mean

scale at three different times (first day, 3 months later, 6 months later); a statistically significant difference was found in depression (P < 0.001). According to the McNemar test, the difference between the measurement values of the patients

who received RT on the first day with 3 months after RT and 6 months after RT was found to be statistically significant (P < 0.05) (Tab. 5).

In Tab. 6, at the second measurement time of the patients (3 months later), the

relationship between age and depression was negatively very weakly a significant (r = -0.1924). There is a weakly significant negative relationship between anxiety and depression (r = -0.3425). At the third measurement time of the pa-

Tab. 4. Comparison of patients' sociodemographic data information according to the Hospital Anxiety and Depression Scale. According to the multiple comparison test result (Bonferroni), the difference in alphabetical exponents (a, b) indicates statistically significant.

Variables	Anxiety			P*	Depression			P*
	first day $\bar{X} \pm SD$	3 months later $\bar{X} \pm SD$	6 months later $\bar{X} \pm SD$		first day $\bar{X} \pm SD$	3 months later $\bar{X} \pm SD$	6 months later $\bar{X} \pm SD$	
surgery								
MRM (N = 38)	10.63 ± 2.89	10.21 ± 3.16	10.76 ± 3.22	0.750	9.18 ± 2.31	10.00 ± 2.54	10.24 ± 2.20	0.162
BCS (N = 73)	10.14 ± 3.57	9.85 ± 3.31	10.92 ± 3.37	0.146	8.52 ± 2.73 ^a	10.44 ± 2.02 ^b	9.77 ± 2.14 ^b	< 0.001
P#	0.462	0.580	0.816		0.204	0.323	0.279	
chemotherapy								
no (N = 3)	9.33 ± 4.93	10.67 ± 1.15	13.33 ± 2.08	0.478	9.33 ± 2.31	9.00 ± 2.65	7.67 ± 1.53	0.422
yes (N = 108)	10.33 ± 3.32	9.95 ± 3.29	10.80 ± 3.31	0.181	8.73 ± 2.62 ^a	10.32 ± 2.20 ^b	9.99 ± 2.15 ^b	< 0.001
P#	0.612	0.709	0.191		0.695	0.308	0.066	
hormone therapy								
no (N = 16)	10.00 ± 3.56	10.25 ± 3.57	11.44 ± 3.41	0.515	8.63 ± 3.03	10.13 ± 2.22	10.00 ± 2.00	0.223
yes (N = 95)	10.36 ± 3.33	9.93 ± 3.21	10.77 ± 3.30	0.214	8.77 ± 2.54 ^a	10.32 ± 2.22 ^b	9.92 ± 2.20 ^b	< 0.001
P#	0.694	0.714	0.456		0.839	0.751	0.886	

BCS – breast conserving surgery, MRM – modified radical mastectomy, P* – repeated measure analysis of variance, P# – independent sample t test, SD – standard deviation, \bar{X} – arithmetic mean

tients, the relationship between anxiety and depression was negatively weakly a significant ($r = -0.2739$). There was a very weakly negative relationship between the depression scale values of the patients at 3 months and 6 months later times ($r = -0.1975$), and a very weak positive relationship between the anxiety scale values ($r = 0.1877$).

Discussion

AD is more common in breast cancer patients compared to both normal population and psychiatric patients. However, it is a psychological disorder that can be effectively treated with the support of specialists. In fact, AD is a normal reaction to many stressful situations in life, such as cancer [1–3]. Anxiety usually increases with noticing the tumor. Anxiety is a fear-like emotion that is synonymous with anxiety, boredom, anxiety, and worry. Along with anxiety, anger, sleep, loss of appetite and concentration, failure in daily activities, and fear of the future may develop [1]. It peaks during the diagnostic period, the pre-operative pe-

riod, or the RT and chemotherapy period. It decreases within one year after the treatment and the patient calms down [13–15]. The incidence of anxiety in cancer patients is over 50%. Approximately 30% of them have chronic anxiety [1,2]. Anxiety increases again during crisis periods such as hospitalization, initiation of a new treatment, and relapse. Discharge from the hospital or discontinuation of the treatment may be seen with the feeling of helplessness and hopelessness [19–23].

When a cancer diagnosis is made, another reaction other than anxiety is depression. The most common initial response to cancer is shock and disbelief. Seen in this period, the reflection of the diagnosis, the feelings of anxiety and helplessness created by the hard-to-bearing reality appear as a counter-defense. After this, anger and depression may develop [1]. Many studies in the literature have reported that some types of cancer are frequently associated with depression. Again, as seen in many publications, it has been observed that de-

pression increases in cases where the duration of the treatment is prolonged and the treatment becomes more difficult [1–4]. The fact that the incidence of depression is so variable was found to be related to the fact that studies were conducted with different cancer types, different diagnostic methods and patient groups. In the etiology of depression in cancer patients, factors such as cancer type, cancer course and stage, time elapsed after the diagnosis of the disease, hospitalization time, side effects of antineoplastics, treatment stage, treatment success, education level, gender, and ability to cope with the disease have a great impact [5–10].

In the study conducted by Tsaras et al., it is reported that 38.2% of the patients with breast cancer had depression and 32.2% had anxiety [4]. In another study, it was reported that the rate of depression in cases with recurrent breast cancer was 45.5% [22]. Vodermaier et al. looked at the prevalence of anxiety and depression in patients with advanced or advanced cancer with a poor prognosis.

Female patients and younger patients reported more anxiety and depressive symptoms compared to males and healthy subjects. They also reported that the stage of the disease in breast cancer was not directly related to emotional distress [2]. In a study conducted with RT patients, in 70 patients for whom consultation was requested, 38% had major depression, 43% had adjustment disorder. In the control group of 30 patients, 13% had adjustment disorder and 7% major depression [8]. In the study by Park et al., patients diagnosed with breast cancer at a young age (< 40 years) were evaluated using the HADS scale. The mean HADS depression score was 4.4 and the anxiety score was 7.9. As a result, it has been reported that a significant proportion of young women with newly diagnosed breast cancer experience anxiety [3]. In the study conducted by Maraste et al. on 133 breast cancer patients who were referred for adjuvant RT following surgical treatment, anxiety was recorded in 18 patients (14%) and significant depression in patients (1.5%). They reported that at the beginning of adjuvant RT, emotional distress is characterized by anxiety rather than depression, and the risk of morbid anxiety is more common in women with mastectomy, especially in their fifties [13]. Both anxiety and depression rates were found to be high in our study.

In cancer patients, it is expected that attempts to determine the level of AD and reduce AD will positively affect the

Tab. 5. Evaluation of anxiety and depression at three different times.

Variables	First day		3 months later		6 months later		P
	no	yes	no	yes	no	yes	
anxiety	50	61	58	53	55	56	0.580
depression	30	81	8	103	11	100	< 0.001

patient’s adherence to treatment and quality of life. Environmental and physical causes trigger AD attacks. Physical and treatment-related causes in cancer patients include infections, metabolic disorders, brain metastases, and especially the treatment (chemotherapy, RT, steroids, antiemetics, etc.) [10–18]. In a review, it was reported that anxiety was seen in all kinds of treatment (chemotherapy, surgery, RT) for breast cancer (stage 0–3A breast cancer, ages 21–65, receiving limited treatment). It was stated that anxiety was highest in patients with mastectomy and before the first chemotherapy infusion. It has been stated that RT regimens do not affect anxiety [11]. In our study, we found that it was seen at the highest level in the 63 years old and younger group and in singles. On the other hand, we found that age, education level, marital status, employment, family history of cancer, menopause, surgery, chemotherapy and hormone therapy variables affected depression. In the study of Tsaras et al. in which they evaluated the prevalence of AD and related factors in

breast cancer patients, they found depression at the rate of 38.2% and anxiety at the rate of 32.2%. According to the results of univariate and multivariate analysis, they reported that age, marital status, education level, cancer stage and place of residence, religion, and symptom load are factors associated with depression and anxiety [4]. Kim et al. reported that young breast cancer patients receiving radiotherapy had higher levels of anxiety and depression in the married, non-religious, and high-income group [5]. Hong et al. looked at AD levels in different types of cancer and gave this rate as 57.9% for breast cancer. While the factors affecting the depression of the patients were performance status, pain, age and education level, risk factors for anxiety were reported as performance status, age and gender [20]. It is seen that there are many factors affecting AS, both in our study and in the studies presented in the literature.

Over time, the adaptation process begins when the patient accepts the truth and directs his energy and spiritual power to his new life. It shows that pa-

Tab. 6. Relationship matrix between variables of the Hospital Anxiety and Depression Scale (Spearman Rho).

	Age	Anxiety measurement 1	Anxiety measurement 2	Anxiety measurement 3	Depression measurement 1	Depression measurement 2	Depression measurement 3
Age	1	0.0332	0.0452	-0.0565	0.1069	-0.1924*	0.1315
Anxiety measurement 1		1	-0.0043	-0.1483	0.0163	0.0482	-0.0849
Anxiety measurement 2			1	0.0683	-0.0159	-0.3425***	0.1877*
Anxiety measurement 3				1	-0.0727	0.0901	-0.2739**
Depression measurement 1					1	-0.1248	-0.0194
Depression measurement 2						1	-0.1975*
Depression measurement 3							1

*P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.00

tients' AD levels decrease if information is provided and psychological assistance services are provided. When we focus on the consequences of depression, which is such a common psychological disorder in cancer patients, we see that it has very serious consequences and its effect on treatment is undeniable. Kawase et al. formed two groups were formed to examine the effect of RT on AD levels in breast cancer patients receiving RT. They gave only an information booklet to the control group, and both an information booklet and training to the experimental group. Anxiety and Depression Scale was administered before and after RT in both groups. As a result, it was seen that the general average AD scores of the control group did not show a significant difference. As a result, they reported that informing the patient and relieving their anxiety were effective in reducing AD [10]. In our study, it was seen that anxiety was high in the questionnaire study conducted on the first day of RT. In subsequent measurements, it was observed that the scores decreased. This may be due to the fact that the patient was informed about RT.

In our study, when all three measures were examined, it was seen that anxiety scores did not change significantly. We saw that depression increased in the second and third measurements. This difference was statistically significant. It was observed that depression continued in the patients even after the treatment was completed. In their study, Burgess et al. reported that anxiety and/or depression rates are 50% in the first year after breast cancer diagnosis; 25% in the second, third and fourth years, 15% in the fifth year. While the point prevalence was 33% at the time of diagnosis, it decreased to 15% one year later. It has been reported that relapses occur especially in the first three years or up to 45% of this rate [14]. Ho et al. evaluated the HADS scale on 269 women receiving adjuvant treatment for breast cancer and on 148 women who had completed their treatment in the last year. It was observed that AD was at a higher level during the treatment. According to the linear regression results, they stated that both anxiety and depression

were significantly associated with physical and functional well-being [12]. Hopwood et al. followed up patients who received adjuvant RT for breast cancer for 5 years. Anxiety and/or depression levels were 35% before RT. There was no change in these rates over time. It has been seen that young age affects anxiety negatively, chemotherapy affects depression and education level affects negatively both. As a result, it has been reported that the risk factors are effective in AS [15]. Gregorowitsch et al. prospectively performed the HADS scale in patients with ductal carcinoma *in situ* and early stage invasive breast cancer before (beginning) and at 3, 6, 12, 18, and 24 months after the initiation of adjuvant radiotherapy. They found similar anxiety rates in both groups. Depression scores were found to be significantly higher in the group with ductal carcinoma *in situ* at the 6th, 12th and 18th months [21].

Conclusion

The psychological health of women with breast cancer is affected during and after the treatment. Depending on the depressive effect of radiation in people who receive RT, the frequency of depression may increase in people. Comparisons can be made by considering these patients in the post-treatment period. In AD that occurs during and after the treatment in patients with breast cancer, getting psychiatric opinion should be considered as a part of the treatment when necessary. The fact that the sample was selected from a certain region in the study and the limited number of participants may cause problems in the interpretation of the results. For this reason, studies to be conducted with more sample groups and from different regions will strengthen the reliability of the studies.

Declarations

Ethics approval and consent to participate
Yes, applicable.

Availability of data and materials

The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request. The authors had permission to use the anonymized database by the national statistics agency, Statistics Turkey.

Funding

None.

Authors' contributions

YBC and OO contributed to designing the study, statistical analyses, and writing the report, including the first draft of the manuscript. All authors have read and approved the final manuscript.

References

- Pitman A, Suleman S, Hyde N et al. Depression and anxiety in patients with cancer. *BMJ* 2018; 361: k1415. doi: 10.1136/bmj.k1415.
- Vodermaier A, Linden W, Mackenzie R et al. Anxiety and depression after cancer diagnosis: prevalence rates by cancer type, gender, and age. *J Affect Disord* 2012; 141(2–3): 343–351. doi: 10.1016/j.jad.2012.03.025.
- Park EM, Gelber S, Rosenberg SM et al. Anxiety and depression in young women with metastatic breast cancer: a cross-sectional study. *Psychosomatics* 2018; 59(3): 251–258. doi: 10.1016/j.psyc.2018.01.007.
- Tsaras K, Papatathanasiou IV, Mitsi D et al. Assessment of depression and anxiety in breast cancer patients: prevalence and associated factors. *Asian Pac J Cancer Prev* 2018; 19(6): 1661–1669. doi: 10.22034/APJCP.2018.19.6.1661.
- Kim K, Park H. Factors affecting anxiety and depression in young breast cancer survivors undergoing radiotherapy. *Eur J Oncol Nurs* 2021; 50: 101898. doi: 10.1016/j.ejon.2021.101898.
- Li Z, Geng W, Yin J et al. Effect of one comprehensive education course to lower anxiety and depression among Chinese breast cancer patients during the postoperative radiotherapy period – one randomized clinical trial. *Radiat Oncol* 2018; 13(1): 111. doi: 10.1186/s13014-018-1054-6.
- Miranda TPS, Caldeira S, de Oliveira HF et al. Intercessory prayer on spiritual distress, spiritual coping, anxiety, depression and salivary amylase in breast cancer patients during radiotherapy: randomised clinical trial. *J Relig Health* 2020; 59(1): 365–380. doi: 10.1007/s10943-019-00827-5.
- Zaheer S, Gul RB, Bhamani SS et al. The effect of individualized education with support on breast cancer patients' anxiety and depression during radiation therapy: a pilot study. *Eur J Oncol Nurs* 2020; 48: 101826. doi: 10.1016/j.ejon.2020.101826.
- So WK, Marsh G, Ling WM et al. Anxiety, depression and quality of life among Chinese breast cancer patients during adjuvant therapy. *Eur J Oncol Nurs* 2010; 14(1): 17–22. doi: 10.1016/j.ejon.2009.07.005.
- Kawase E, Karasawa K, Shimotsu S et al. Estimation of anxiety and depression in patients with early stage breast cancer before and after radiation therapy. *Breast Cancer* 2012; 19(2): 147–152. doi: 10.1007/s12282-010-0220-y.
- Lim CC, Devi MK, Ang E. Anxiety in women with breast cancer undergoing treatment: a systematic review. *Int J Evid Based Healthc* 2011; 9(3): 215–235. doi: 10.1111/j.1744-1609.2011.00221.x.
- Ho SS, So WK, Leung DY et al. Anxiety, depression and quality of life in Chinese women with breast cancer during and after treatment: a comparative evaluation. *Eur J Oncol Nurs* 2013; 17(6): 877–882. doi: 10.1016/j.ejon.2013.04.005.
- Maraste R, Brandt L, Olsson H et al. Anxiety and depression in breast cancer patients at start of adjuvant radiotherapy. Relations to age and type of surgery. *Acta Oncol* 1992; 31(6): 641–643. doi: 10.3109/02841869209083846.
- Burgess C, Cornelius V, Love S et al. Depression and anxiety in women with early breast cancer: five year observational cohort study. *BMJ* 2005; 330(7493): 702. doi: 10.1136/bmj.38343.670868.D3.
- Hopwood P, Sumo G, Mills J et al. The course of anxiety and depression over 5 years of follow-up and risk

factors in women with early breast cancer: results from the UK Standardisation of Radiotherapy Trials (START). *Breast* 2010; 19(2): 84–91. doi: 10.1016/j.breast.2009.11.007.

16. Brunault P, Toledano A, Aguerre C et al. Impact of late treatment-related radiotherapy toxicity, depression, and anxiety on quality of life in long-term breast cancer survivors. *Bull Cancer* 2012; 99(5): 589–598. doi: 10.1684/bdc.2012.1569.

17. Aydemir Ö, Güvenir T, Küey L et al. Reliability and validity of the Turkish version of hospital anxiety and depression scale. *Turkish J Psychiatry* 1997; 8(4): 280–287.

18. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand* 1983; 67(6): 361–370. doi: 10.1111/j.1600-0447.1983.tb09716.x.

19. Marrs JA. Stress, fears and phobias: the impact of anxiety. *Clin J Oncol Nurs* 2006; 10(3): 319–322. doi: 10.1188/06.CJON.319-322.

20. Hong JS, Tian J. Prevalence of anxiety and depression and their risk factors in Chinese cancer patients. *Support Care Cancer* 2014; 22(2): 453–459. doi: 10.1007/s00520-013-1997-y.

21. Gregorowitsch ML, van den Bongard HJGD, Young-Afat DA et al. Severe depression more common in pa-

tients with ductal carcinoma in situ than early-stage invasive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2018; 167(1): 205–213. doi: 10.1007/s10549-017-4495-y.

22. Mehnert A, Veers S, Howaldt D et al. Effects of a physical exercise rehabilitation group program on anxiety, depression, body image, and health-related quality of life among breast cancer patients. *Onkologie* 2011; 34(5): 248–253. doi: 10.1159/000327813.

23. Jenkins PL, May VE, Hughes LE. Psychological morbidity associated with local recurrence of breast cancer. *Int J Psychiatry Med* 1991; 21(2): 149–155. doi: 10.2190/UU5G-MDJ3-U55G-33GQ.

Extra-cellular exosomes may have the role of a carrier in transferring molecules from the tumor micro-environment to the unaffected cells in breast cancer tumors

Extracelulární exozomy pravděpodobně hrají roli nosiče v přenášení molekul z nádorového mikroprostředí karcinomu prsu do nedotčených buněk

Khani S. A., Kavousi M., Jamshidian F.

Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, East Tehran Branch (Ghiamsdasht), Islamic Azad University, Tehran, Iran

Summary

Background: Breast cancer is recognized as a major clinical challenge in gynecological diseases worldwide. Exosomes are small vesicles derived from multicellular bodies that are secreted by many cells into the extracellular environment and thus participate in intercellular communication through the transfer of genetic information such as encoded and non-encoded RNAs to target cells. Tumor-derived exosomes are thought to be a rich source of microRNAs (miRNAs) that can regulate the function of other cancer cells in the tumor microenvironment. However, the exact mechanisms by which tumor cell-derived exosomes affect their neighboring cells, as well as the biological function of exosomal miRNAs in receptor cells, are not well understood.

Materials and methods: In this study, after overexpression of *miR-205* in breast cancer cells (MDA-MB-231 class), cell-derived exosomes were successfully isolated and characterized by electron microscopy and dynamic light scattering. **Results:** Determination of *miR-205* expression levels in exosomes secreted from engineered cells confirmed the high expression of this miRNA in exosomes. It was also found that treatment of tumor exosomes carrying this miRNA had an apoptotic induction effect and also had a significant effect on reducing the expression of *Bcl-2* gene transcript in a time-dependent manner in breast cancer cells ($P < 0.001$). **Conclusion:** Overall, this study suggests that exosomal transfer of tumor suppressor miRNAs to cancer cells could be a suitable platform for nucleic acid transfer to these cells and be highly effective in cancer treatment.

Key words

breast cancer – exosomes – apoptosis – microRNA – gene therapy

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

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

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

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



Dr. Faranak Jamshidian

Department of Biology

Faculty of Biological Sciences

East Tehran Branch (Ghiamsdasht)

Islamic Azad University

P.O. Box: 33955/16

Tehran, Iran

e-mail:

faranak.jamshidian@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 22. 11. 2022

Accepted/Přijato: 26. 12. 2022

doi: 10.48095/ccko2023462

Souhrn

Východiska: Karcinom prsu je v gynekologických onemocněních celosvětově považován za velkou klinickou výzvu. Exozomy jsou malé vezikuly vzniklé z multiceulárních útvarů, které jsou uvolňovány mnoha buňkami do extracelulárního prostředí a tím se podílí na intercelulární komunikaci prostřednictvím přenosu genetické informace, např. prostřednictvím kódovaných a nekódovaných RNA k cílovým buňkám. Exozomy vytvořené v tumoru jsou považovány za bohatý zdroj microRNA (miRNA), které regulují funkci jiných nádorových buněk v mikroprostředí tumoru. Nicméně přesné mechanismy, prostřednictvím kterých exozomy odvozené od nádorových buněk ovlivňují sousední buňky, a biologická funkce exozomálních miRNA v receptorových buňkách nejsou ještě dobře objasněny. **Materiál a metody:** V této studii byly po overexpresi *miR-205* v buňkách karcinomu prsu (třída MDA-MB-231) úspěšně izolovány exozomy odvozené od buněk a byly charakterizovány elektronovou mikroskopii a metodou dynamického rozptylu světla. **Výsledky:** Stanovení míry exprese *miR-205* v exozomech uvolňovaných z geneticky upravených buněk potvrdily vysokou expresi této miRNA v exozomech. Bylo také zjištěno, že úprava nádorových exozomů, které nesou tuto miRNA, měla v buňkách karcinomu prsu efekt indukce apoptózy a také měla významný účinek na snížení exprese transkriptu genu *Bcl-2* v závislosti na čase ($p < 0,001$). **Závěr:** Tato studie naznačuje, že přenos nádorových supresorových miRNA pomocí exozomů by mohl být vhodnou platformou pro přenos nukleových kyselin do těchto buněk a při léčbě karcinomu prsu by mohl být vysoce účinný.

Key words

karcinom prsu – exozomy – apoptóza – microRNA – genová terapie

Introduction

Exosomes are nano-sized cup-shaped vesicles between 40 and 100 nm, which are released from many cell types into the intercellular space. Pathogens can exploit exosomes to spread their infectivity. The RNA and protein contents of exosomes released from cells into the bloodstream and body fluids are very different in health and disease and can be measured as a diagnostic marker. Exosomes derived from cancer cells have been shown to be rich in tumor marker microRNAs (miRNAs). More recently, messenger RNAs (mRNAs) and miRNAs have been identified in the exosome that can be absorbed by neighboring (near or distant) cells and subsequently regulate receptor cells [1]. Therefore, the examination of these miRNAs in cells can be a criterion for the diagnosis of many diseases.

MiRNAs have recently been found to be closely linked to various diseases, including cancer. Because of the potential of miRNAs to target large numbers of mRNAs, these non-coding-RNAs (ncRNAs) are involved in all biological phenomena, including cell cycle regulation, cell growth, apoptosis, cell differentiation, and the stress response [2]. There is growing evidence that miRNAs play an important role in cancer biology, and recent studies have confirmed the oncogenic and tumor inhibitory role of miRNAs in cancer cells, and also shown that miRNAs can be expressed by oncogenes themselves and regulate tumor inhibitory genes. It is possible that the expres-

sion of miRNAs in both *in vivo* and *in vitro* through the synthesis of pre-miRNA molecules or antisense oligonucleotides can be regulated, which is a promising prospect for cancer treatment. Evidence suggests that miRNAs are stable in body fluids, including saliva, urine, milk, and blood [3]. In addition, extracellular miRNAs for packaging inside exosomes or microvesicles can be loaded into high-density lipoprotein (HDL), or form an AGO2-bonded extracellular protein. The key role of miRNAs has been identified as regulators of various cellular processes such as evolutionary timing, cell proliferation, cell differentiation, organ development and apoptosis. Abnormal expression of miRNAs has been reported in many cancers, and there is strong evidence that miRNAs play a key role as oncogenes or tumor suppressors in the development of many human malignancies [4].

MiR-205 is highly under-expressed in breast tumor cells compared to the normal breast cells. Even *in vivo* analysis reports down regulatory pattern of *miR-205* in breast cancer cell lines including MCF-7 and MDA-MB-231. Additionally, over-expression of *miR-205* inhibits cell proliferation and independent growth as well as cell invasion [5]. Moreover, previous studies have proved that *miR-205* suppresses metastasis. *In vivo* studies have proved the down-regulated condition of *miR-205* in drug-resistant derivatives. ErbB3 and vascular endothelial growth factor A (VEGF-A) are direct targets for *miR-205* and this

miRNA applies its suppressive effect via direct interaction with the *miR-205* binding site in the 3'-untranslated region (3-UTR) of ErbB3 and VEGF-A. Hence, these findings propose *miR-205* as a tumor suppressor in the breast cancer [6]. *MiR-205* enhances chemosensitivity of breast cancer cells to chemotherapy by suppressing VEGF-A and Fibroblast growth factor-2 (FGF-2), (7) resulting in decreased phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt signaling pathway activity and increased apoptosis upon chemotherapy. As a result, *miR-205* may be used as a predictive biomarker and a potential therapeutic target in breast cancer treatment [8].

Apoptosis, programmed cell death, happens when cells are not needed. Apoptosis is caused by a family of proteases called caspases. Caspases are made in the form of inactive precursors called procaspase, which are activated by proteolytic digestion in response to symptoms that induce apoptosis [9]. Members of the Bcl-2 family play a key role in regulating changes in mitochondrial membrane permeability. Some proteins in this family, such as Bcl-2, Bcl-XL, and Mcl-1, are inhibitors of apoptosis or anti-apoptosis and maintain cell survival by binding to mitochondrial ducts. In contrast, the binding of pro-apoptotic proteins of the Bcl-2 family such as Bax, Bid, Bak, Bcl-xs to the outer membrane of the mitochondria increases the permeability of this organ and causes the onset of apoptosis [10]. The balance between pro-apoptotic and anti-apoptotic

activity of members of the Bcl-2 family is highly determinant of whether a cell goes for or survives the apoptosis. Cells induce apoptosis to their adjacent cells via intercellular communication, which happens with the assist of exosomes in microenvironment [11].

Materials and methods

Cell culture

Cell line MDA-MB-231 (cell line derived from invasive breast cancer) was prepared from Pasteur Institute of Iran. These cells were grown in DMEM medium contained 10% of fetal calf serum (FBS), 2 mM L-glutamine, 100 units/mL penicillin and 100 µg/mL streptomycin, in a humid incubator with 5% CO₂ and 37 °C.

Exosome isolation and purification

Exosomes were prepared from the supernatant of the MDA-MB-231 cell line at passage 3 by differential centrifugation and according to the manufacturer's instructions. In short, the culture media was removed when the cells were developed through up to almost 85% of the plate. Firstly, the supernatants were centrifuged at 3,000×g for 10 min for lessening the amount of residual cells. Then, exoquick (System Biosciences) solution was added to the supernatant with a ratio of 5 to 1. Isolation steps were followed as of the manufacturer's instruction, and the last point was to suspend the exosome pellets in 50 µL PBS and stored at -20 °C until use.

Exosome identification

The morphology and size of the purified exosomes were measured by scanning electron microscopy (Digital FESEM, KYKY-EM3200, China). Hence, an aliquot of the above-mentioned exosomes were fixed in 2.5% glutaraldehyde on a microscope slide, washed by PBS, and then the ascending amount of ethanol was used for reaching its critical point dehydration. The slide was then dried on a glass substrate and was coated with gold.

Scanning electron microscopy

For microscopic observation, a small volume of the purified exosome was fixed with 2.5% glutaraldehyde and washed

with PBS. The sample was then dehydrated with ethanol on a dry glass surface. The size and morphology of the exosomes were evaluated by electron microscopy (Digital SEM, KYKY-EM3200, China).

Dynamic light scattering

40 µL of extracted exosome dissolved in 300 µL PBS. The solution was then sonicated. Exosomes were measured by Zetasizer Nano ZS software (Malvern Instruments, UK).

Total RNA isolation and quantitative real-time polymerase chain reaction

Since exosomes are a rich and protected source of miRNAs, it is presumed that exosomal transfer of miRNAs from tumor cells to their adjacent cells may be a factor in modulating target genes' expression and regulating tumor progression. We, therefore, sought to provide a molecular justification for the effect of tumor exosomes on its microenvironment.

Total RNA was isolated with quite similar to manufacturers' instructions, briefly as follows: Trizol (Invitrogen/Life Technologies) was initially admitted and then the sample was treated with RNase-free DNase (Fermentase, Lithuania). Complementary DNA (cDNA) was synthesized by reverse transcription of 2 µg total RNA using random hexamers. Then, poly-(A)-tailed RNAs were reverse-transcribed. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) was performed by ABI Step One Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) using SYBRGreen® Mastermix™ II (TAKARA, Japan). Real-time PCR was used to measure the effect of *miR-205*-containing exosomes of engineered breast cancer cells on the induction of apoptosis in breast cancer cells. The expression level of each gene miRNA were subsequently assessed by using the 2-ΔΔCt method, in which $\Delta\Delta Ct = (CT_{miRNA} - CT_{U6snRNA})_{target} - (CT_{miRNA} - CT_{U6snRNA})_{control}$. The expression level of *miR-205* was normalized to U6 small nuclear RNA (U6snRNA). To calculate the relative fold change values, the Ct value data were normalized to GAPDH. The primer sequence was as follows: 5'-CGG GAT TTC AGT GGA GTG AAG TTC-3' (*miR-205*);

5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATACT-3' (U6snRNA, sense) and 5'-ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC-3' (U6snRNA, antisense); 5'-ACCCACTCCTCCACCTTTGA-3' (GAPDH, sense) and 5'-CTGTTGCTGTAGCCAAATTCGT-3' (GAPDH, antisense).

Over-expression of microRNA

The tube containing the lyophilized miRNA precursor sequence was briefly centrifuged to collect all material at the end of the tube. The precursor sequence was dissolved in 330 µL of nuclease-free water according to the manufacturer's protocol, increasing this amount of water to form a 10 M solution. The tube was placed at room temperature for a few minutes, and then the contents of the tube were mixed with a gentle pipette. The resulting suspension was stored at -20 °C.

Data analysis

Data were presented as mean standard deviation from two or three independent experiments and the t-test was used for statistical analysis of data changes. P values < 0.05 were considered statistically significant.

Results

The size and morphology of the exosomes were assessed by scanning electron microscopy. The results showed that the isolated exosomes have a spherical appearance with a size range of 100 nm which is shown in Fig. 1.

Using dynamic light scattering (DLS) technique, particles' motion was measured and the size of the exosomes was measured by a Zetasizer. The following diagram (Graph 1) is based on two parameters: size and percentage of vesicles. This diagram shows that the maximum vesicle population is about 60 nm. Another short peak is observed, which is between 120–100 nm. As we know, vesicles below 200 nm are evidence of the presence of exosomes.

Exosome size measurements by DLS showed a bell-shaped size distribution with a peak of about 60 nm. What is important at this stage is the determination of *miR-205* levels in engineered exosomes (exosomes derived from transfected breast cancer cells) with the

precursor sequence (*miR-205* compared with the exosomal control group (exosomes derived from uninfected breast cancer cells)). As it can be seen in Graph 2, engineered exosomes showed a much higher expression of *miR-205* compared to control exosomes ($P < 0.001$).

To investigate the effects of exosomal transmission of *miR-205* to breast cancer cells, these cells were compared with engineered exosomes (exosomes derived from cancer cells transfected with the *miR-205* precursor sequence) compared with the control group's exosomes derived from untransfected breast cancer cells. Real-time PCR results as shown in Graph 3 showed that exosomes derived from untransfected breast cancer cells (exosomal control group) had no significant effect on the expression of *Bcl-2* anti-apoptotic gene transcript. In contrast, engineered exosomes containing *miR-205* resulted in a significant reduction in the expression of *Bcl-2* anti-apoptotic gene transcript in a time-dependent manner.

To investigate the effects of exosomal transfer of *miR-205* on the induction of apoptosis in breast cancer cells, these cells were treated with the *miR-205* derived exosomes. As shown in Graph 4, flow cytometry results presented that engineered exosomes containing *miR-205* were able to induce apoptosis in breast cancer cells compared to the control group.

Discussion

A report of the presence of mRNA in the exosomes refers to a study by Anuradha et al. The group showed that human and mouse mast cell lines contain about 1,300 different mRNAs, many of which are not present in the cytoplasm of exosome-secreting primary cells. Translation of these mRNAs *in vitro* showed that they could be converted into functional proteins. This group was also able to prove the presence of miRNAs in the studied exosomes [12]. In 2017, Chen et al. examined microparticles in mesenchymal stem cell secretions and confirmed the presence of RNA in these secretions. They suggested that RNAs in the environment of mesenchymal stem cells are located in phospholipid vesicles and

that these RNAs are often small RNAs, especially miRNAs [13]. In 2004, Bartel et al. examined bone marrow mesenchymal stem cells and tissue-specific stem cells and demonstrated that the secretion of miRNAs has a selective pattern, indicating a dynamic regulation of the presence of miRNAs in microvesicles. Based on their observations, the group stated that stem cells exert at least part of their trophic activity through the exchange of microvesicles between cells [14]. In 2017, Page et al. concluded that the cellular separation of cultured breast cancer cells from the substrate, when rapid, results in the release of exosomes and has significant effects on the cellular process, which clinically leads to the metastasis of cancer [15]. In line with previous findings, this paper found that exosomes' secretion could have a direct effect on its cancer.

Due to the attractive properties of exosomes as carriers of drugs and genes, many studies have been conducted in this regard and very satisfactory results have been obtained. In 2018, Treiber et al. reported that overexpression of miRNA-10b (miR-10b) initiates invasion and metastasis in breast cancer and that overexpression in early breast cancer is associated with clinical progression of the disease [14]. It has been reported that *miR-31* was highly expressed in mouse lung cancer cells [15]. A further study on the relationship between expression mRNAs and the progression of lung cancer have discovered a large number of miRNAs that are closely related to lung cancer. Some of them contained miRNA overexpression in lung cancer, and the rest had less miRNA than normal lung tissue or cells. However, down-regulation and silencing methods are commonly used for overexpression in lung cancers, especially RNA intervention technology (RNAi) [16].

Apoptosis could have been induced to the cells via their adjacent cells, in which many molecular pathways are involved. Exosome transfer in the microenvironment intercellular communication is to name but a few, which has been found in this study. In line with our study, other previous papers also support the idea. The pathway of cell death activation

varies depending on how the death message is transmitted to the cell [17,18]. If the messages are internal, the first activated organ will be the mitochondria, and if the message is expressed through cell surface receptors, the message will be transmitted from the adapter to the caspase cascade through adaptive molecules. The rate of receptor-induced cell death is more severe than the mitochondrial pathway. Apoptosis receptors are cell surface receptors that transmit messages through specific ligands and activate the caspase cascade [19,20].

Conclusion

As presented in the results section, *miR-205* was overexpressed in tumor cells. Interestingly, exosomes derived from the engineered cells, which contained significant amounts of *miR-205*, reduced the expression of the anti-apoptotic *Bcl-2* gene and induced apoptosis in breast cancer cells. Importantly, not only does *miR-205* induce apoptosis by targeting *Bcl-2* gene transcripts, but also exosomal nanocarriers were able to deliver this miRNA to the cell, and so in this study, a platform is proposed that is able to effectively deliver nucleic acid to the cell.

Since the use of exosomes secreted by cells in gene delivery has recently been proposed as a new approach in gene therapy, therefore, the targeted placement of *miR-205* in exosomes of breast cancer cells following the induction of overexpression of this miRNA in cells and the effect of exosomal treatment on the key gene involved in apoptosis, *Bcl-2*, was an innovative and targeted approach to this study.

Alterations in the natural expression of miRNAs are a common feature of cancers, including breast cancers. Because miRNAs can act as oncogenes or tumor suppressors, understanding the biology of miRNAs and modulating their expression and activity could create new opportunities for future cancer treatment. Also, since the anti-apoptotic gene *Bcl-2* acts as the tumor promoter in breast cancer, it can be an attractive target for the treatment of malignancies such as breast cancer.

Overall, the findings of the present study showed that exosomes contain-

ing *miR-205* can significantly reduce the expression of *Bcl-2* anti-apoptotic gene transcript and induce apoptosis in breast cancer cells. However, the tumor exosomes of the control group were not able to produce this feature. The results also show that not only tumor cell-derived exosomes with *miR-205* over-expression can cause cell apoptosis in breast cancer cells, but also this platform delivers nucleic acid to the cell in terms of performance efficiency with minimal necrosis for the cell, and this is very noteworthy in gene therapy.

Availability of data and materials

The data used in this study are available from the corresponding author on request.

Authors' contributions

The corresponding authors of this article justify that all the mentioned individuals in this article are members of this research team and had had substantial contributions to the conception and design, acquisition of data, analysis, and interpretation of data, drafting the article, revising it, and final approval of the version to be published.

References

- Zhang J, Li S, Li L et al. Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2015; 13(1): 17–24. doi: 10.1016/j.gpb.2015.02.001.
- Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol* 2002; 2(8): 569–579. doi: 10.1038/nri855.
- Yeo RW, Lai RC, Zhang B et al. Mesenchymal stem cell: an efficient mass producer of exosomes for drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65(3): 336–341. doi: 10.1016/j.addr.2012.07.001.
- Lai RC, Tan SS, Teh BJ et al. Proteolytic potential of the MSC exosome proteome: implications for an exosome-mediated delivery of therapeutic proteasome. *Int J Proteomics* 2012; 2012: 971907. doi: 10.1155/2012/971907.
- Francken AB, Schouten PC, Bleiker E et al. Breast cancer in women at high risk: the role of rapid genetic testing for BRCA1 and -2 mutations and the consequences for treatment strategies. *Breast* 2013; 22(5): 561–568. doi: 10.1016/j.breast.2013.07.045.
- Wu H, Zhu S, Mo YY. Suppression of cell growth and invasion by miR-205 in breast cancer. *Cell Res* 2009; 19(4): 439–448. doi: 10.1038/cr.2009.18.
- Hu Y, Qiu Y, Yagüe E et al. miRNA-205 targets VEGFA and FGF2 and regulates resistance to chemotherapeutics in breast cancer. *Cell Death Dis* 2016; 7(6): e2291. doi: 10.1038/cddis.2016.194.
- Liu J, Mao Q, Liu Y et al. Analysis of miR-205 and miR-155 expression in the blood of breast cancer patients. *Chin J Cancer Res* 2013; 25(1): 46–54. doi: 10.3978/j.issn.1000-9604.2012.11.04.
- Boya P, Roumier T, Andreau K et al. Mitochondrion-targeted apoptosis regulators of viral origin. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304(3): 575–581. doi: 10.1016/s0006-291x(03)00630-2.
- O'Brien V. Viruses and apoptosis. *J Gen Virol* 1998; 79(Pt 8): 1833–1845. doi: 10.1099/0022-1317-79-8-1833.
- Wooster R, Bignell G, Lancaster J et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene BRCA2. *Nature* 1995; 378(6559): 789–792. doi: 10.1038/378789a0.
- Posner MC, Wolmark N. Non-invasive breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 1992; 21(3): 155–164. doi: 10.1007/BF01974998.
- Kalli S, Semine A, Cohen S et al. American joint committee on cancer's staging system for breast cancer, eighth edition: what the radiologist needs to know. *Radiographics* 2018; 38(7): 1921–1933. doi: 10.1148/rg.2018180056.
- Varadharajan E, Priya S, Prakash G et al. Mucinous carcinoma of the breast with neuroendocrine differentiation. *Iran J Pathol* 2015; 10(3): 231–236.
- Tamimi RM, Hankinson SE, Chen WY et al. Combined estrogen and testosterone use and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 2006; 166(14): 1483–1489. doi: 10.1001/archinte.166.14.1483.
- Toikkanen S, Kujari H. Pure and mixed mucinous carcinomas of the breast: a clinicopathologic analysis of 61 cases with long-term follow-up. *Hum Pathol* 1989; 20(8): 758–764. doi: 10.1016/0046-8177(89)90069-5.
- Shi J, Liang ZY, Meng ZL et al. Tubulolobular carcinoma of breast: a clinicopathologic study of 8 cases. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2012; 41(10): 681–685. doi: 10.3760/cmaj.issn.0529-5807.2012.10.008.
- Joglekar-Javadekar M, Van Laere S, Bourne M et al. Characterization and targeting of platelet-derived growth factor receptor alpha (PDGFRA) in inflammatory breast cancer (IBC). *Neoplasia* 2017; 19(7): 564–573. doi: 10.1016/j.neo.2017.03.002.
- Xin H, Li Y, Buller B et al. Exosome-mediated transfer of miR-133b from multipotent mesenchymal stromal cells to neural cells contributes to neurite outgrowth. *Stem Cells* 2012; 30(7): 1556–1564. doi: 10.1002/stem.1129.
- van den Boorn JG, Dassler J, Coch C et al. Exosomes as nucleic acid nanocarriers. *Adv Drug Deliv Rev* 2013; 65(3): 331–335. doi: 10.1016/j.addr.2012.06.011.

For Fig. 1 and Graphs 1–4, see the online version of the article at www.linkos.cz.

Analyzing the impact of close margins and extra-resection margins on failure rates in postoperative oral cavity cancers

Analýza vlivu těsných a dodatečných resekcčních okrajů na míru selhání léčby karcinomu ústní dutiny po operaci

Shivhare V., Rath S., Rathod H., Dash N. K., Parikh A., Suryanarayan Kunikullaya U.

Department of Radiation Oncology, The Gujarat Cancer and Research Institute, Ahmedabad, Gujarat, India

Summary

Background: Postoperative oral cancers with close margins belong to medium- to high-risk category for local failure. During re-surgery for close margins, there is sufficient doubt as to whether the re-excised tissue is from the same region as the close margin. Therefore, we planned a retrospective review of these cases of close margins that were re-excised with extra-resection margins (ERMs). **Material and methods:** Details of 2011 oral cavity patients resected at our hospital were retrieved. Cases with close margins were segregated and the status of ERMs was noted. The postoperative histopathological details, radiotherapy details, and failure patterns in all these cases were documented. The primary objective of the study was to assess the overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) in cases with ERMs. The secondary objective was to assess the local and regional control rates and variation with the number and status of close and ERMs. OS, DFS, and local failure rates were defined from the date of registration. Statistical analysis was performed with the SPSS statistical software package. All survival analyses were performed using the Kaplan-Meier method. Log-rank test was used to test the statistical significance. A P-value of 0.05 was considered statistically significant. **Results:** Sixty-four cases with a median age of 47 years (range: 29–76) were considered for the final analysis. The median follow-up was 40 months (range: 9.5–56.5). The 2-year OS and DFS rates were 91.5% and 88.5%, respectively. The crude local and regional failure rates were 10.9% and 3.1%, respectively. The 3-year locoregional control rate was 90.2%. The 2-year locoregional control rate for one close margin was significantly better as compared to more than one close margin ($P = 0.049$). No difference in survival and failure rates was found between the number of ERMs resected (one vs. two) and \leq vs. > 3 mm close margin status. Two patients developed bone metastases. **Conclusion:** The survival rates and locoregional control rates did not differ much between the groups that had one or more ERMs. However, the locoregional control rates were better in cases with one close margin as compared to those with more than one close margin. A larger study with longer follow-up is needed to detect statistically significant differences in outcomes and identify the factors that portend poor prognosis in these cases with close margins and ERMs.

Key words

close margin – extra-resection margin – postoperative oral cancer – re-excised – locoregional control rate

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

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

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

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



Dr. Satyajeet Rath
Dept. of Radiation oncology
GCRI, Ahmedabad, Gujarat
India – 380004
e-mail: satyajeetrath@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 11. 3. 2023
Accepted/Přijato: 27. 5. 2023

doi: 10.48095/ccko2023467

Souhrn

Východiska: Karcinomy dutiny ústní s těsnými okraji pooperačně patří do středně až vysoce rizikové kategorie z hlediska selhání léčby. Při reexcizi kvůli těsnému okraji je značná pochybnost o tom, zda reexcidovaná tkáň patří do stejné oblasti jako původní těsný okraj. Proto jsme provedli retrospektivní analýzu případů s těsnými okraji, které byly reexcidovány s následným posouzením dodatečných resekcí okrajů (extra-resection margins – ERM). **Materiál a metody:** Byly získány podrobné údaje o pacientech po resekcích dutiny ústní provedených v naší nemocnici v roce 2011. Byly vyčleněny případy s těsnými okraji a zaznamenán stav ERM. U všech těchto případů byly zdokumentovány pooperační histopatologické údaje, údaje o radioterapii a byla posouzena míra selhání léčby. Primárním cílem studie bylo zhodnotit celkové přežití (overall survival – OS) a přežití bez známek onemocnění (disease-free survival – DFS) u případů s ERM. Sekundárním cílem bylo zhodnotit míru lokální a regionální kontroly a změny v závislosti na počtu a velikosti těsných okrajů a ERM. OS, DFS a míra selhání lokální léčby se počítaly od data registrace pacientů. Statistická analýza byla provedena pomocí statistického softwaru SPSS. Všechny analýzy přežití byly provedeny pomocí Kaplanovy-Meierovy metody. K testování statistické významnosti byl použit log-rank test. Hodnota $p = 0,05$ byla považována za statisticky významnou. **Výsledky:** Do konečné analýzy bylo zařazeno 64 případů s mediánem věku 47 let (rozmezí 29–76 let). Medián doby sledování byl 40 měsíců (rozmezí 9,5–56,5 měsíce). Dvouleté OS a DFS činily 91,5 a 88,5 %. Přibližná míra selhání lokální a regionální léčby byla 10,9 a 3,1 %. Tříletá lokoregionální kontrola byla 90,2 %. Dvouletá lokoregionální kontrola při jednom těsném okraji byla významně lepší než při počtu těsných okrajů > 1 ($p = 0,049$). V přežití a míře selhání léčby nebyl zjištěn žádný rozdíl z hlediska počtu ERM (jeden vs. dva) nebo velikosti těsných okrajů (≤ 3 mm vs. > 3 mm). U dvou pacientů se vyvinuly kostní metastázy. **Závěr:** Míra přežití a lokoregionální kontroly se mezi skupinami, které měly jeden nebo více ERM okrajů, příliš nelišily. Míra lokoregionální kontroly však byla lepší v případech s jedním těsným okrajem ve srovnání s případy s více těsnými okraji. Pro zjištění statisticky významných rozdílů ve výsledcích a pro určení faktorů, které předznamenávají špatnou prognózu v případech s těsnými okraji a ERM, jsou zapotřebí rozsáhlejší studie s delším trváním.

Klíčová slova

těsný resekcí okraj – dodatečný resekcí okraj – karcinom dutiny ústní pooperačně – reexcize – míra lokoregionální kontroly

Introduction

Oral cavity cancers account for one third of all cancers in Southeast Asia [1]. The majority of oral cancers are squamous cell carcinomas [2]. Surgery is the primary treatment modality [3].

Adjuvant radiotherapy after surgery is indicated in cases with pathological tumor size of pT3 or more, pathological node positivity, close margins, lym-

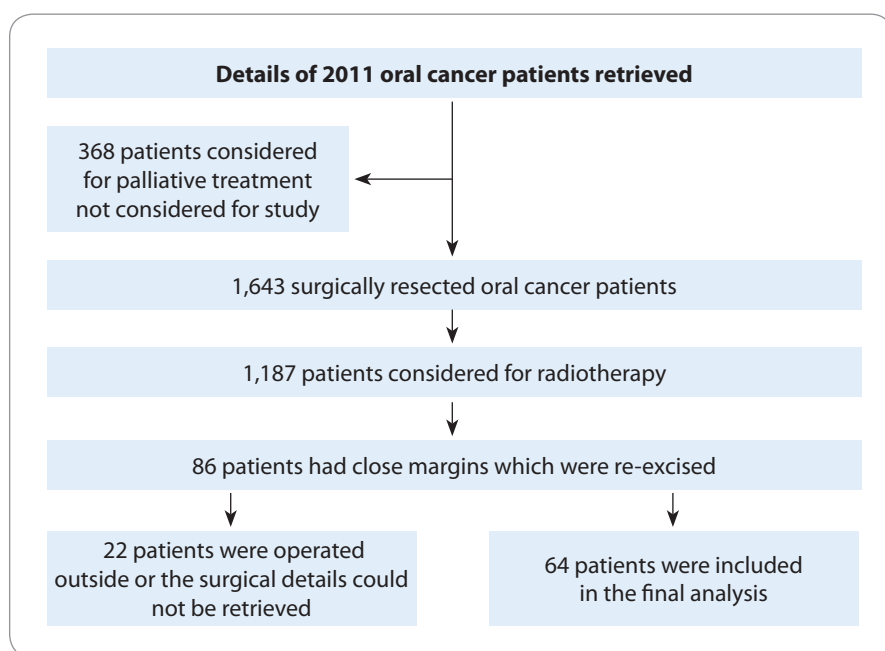
phovascular invasion positive and perineural invasion positive. The cases with positive margins, extranodal extension positivity, or multiple positive nodes require chemoradiotherapy or high doses up to 66 Gy [4]. Patients with close margins represent a medium- to high-risk category of patients, depending on the total number of risk factors present [5]. Often, during resection, if the margin is

close or involved in frozen section, surgeons excise additional tissue (extra-resection margins – ERMs). There is sufficient doubt as to whether the re-excised tissue or specimen is from the same region as the close or positive margin and there is some uncertainty as to whether to consider it a clear margin when re-excised. So, it's prudent to assess whether these cases of close margins who are re-excised can be categorized in the moderate risk category or if they need higher radiotherapy (RT) doses. Thus, we planned a retrospective review of the cases of oral cancers that had close margins during surgery and were re-excised with ERMs, and the outcomes were assessed. The aim of the study was to evaluate the survival and failure outcomes in oral cavity cancer patients with one or multiple resected surgical margins after the initial close margin in frozen section report.

Material and methods

This was a retrospective single-arm observational analysis conducted at a tertiary cancer centre in India.

Data on oral cavity patients surgically resected in the oncology department of the tertiary cancer centre was retrieved. Data from around 2011 surgically resected oral cavity cancer patients



Scheme 1. Consort diagram.

were retrieved. Of these, all the patients who had received RT were evaluated. These patients were then studied in detail to find out which cases had one or more close margins and were re-excised with ERMs. These cases were included in the retrospective analysis. The consort diagram representing the actual number of patient data retrieved has been depicted in Scheme 1. The treatment records of all these patients were thoroughly reviewed. The demographic details (age and gender), surgical details (primary tumour resection and the type of neck dissection), postoperative histopathology (pathologic factors like pathological tumour stage, pathological nodal stage, lymphovascular invasion, perineural invasion, depth of invasion, number of positive lymph nodes, extracapsular extension, margin status-close or positive), the radiotherapy doses, the failure patterns (local, regional, distant, and second primary), and the treatment received in terms of salvage and/or palliation were reviewed. After reviewing all the treatment records, the follow-ups details were assembled. The patients whose complete follow-up details could not be found in the files were telephonically interviewed for a proper assessment of their current condition.

Information regarding the close margins and ERMs was studied in detail. In addition to the determination of the margin status of the original specimen, pathology records were reviewed to identify cases where intraoperative frozen sections or tumour bed margins were sent. The extent and a number of close margins were reviewed. The ERMs for the respective close margins were noted, and their number and extent were studied. The final margin status was considered clear if the sum of the minimum dimension of the resection margin and the ERM was more than 0.5 cm (as per standardized departmental protocol).

Radiotherapy was delivered to a dose of 60–66 Gy using 6-MV photons, using a standard 2-Gy dose per fraction, one fraction per day, 5 days a week, by using linear accelerator (Elekta Compact and Synergy; Elekta, Crawley, UK) with a collimator leaf width of 1 cm at the iso-

center. The patients were treated with either two-dimensional or three-dimensional conformal radiotherapy using either anterior-lateral fields in a single phase to a dose of 60–66 Gy respecting the spinal cord tolerance or using anterior and lateral fields or parallel opposed fields in two phases, in which 46 Gy was delivered in the first phase and a coned-down boost of 14–20 Gy was delivered in the second phase. The median dose of radiotherapy was 60 Gy (range 58–66 Gy). All patients were followed up on a regular basis: monthly once for first 6 months, every 2 months for the next year, every 3 months for the third and fourth years, and then every 6 months to annually thereafter.

The primary objective of the study was to assess the overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) in cases with ERMs. The secondary objective was to assess the local and regional control rates and their variation with the number of close margins, the number of ERMs, and the close margin status.

All the time intervals were calculated from the date of registration in the oncology department to the date of event of interest. OS was measured from the date of registration to the date of death from any cause. DFS was defined as the time from the day of registration to the date of failure (either locoregional, distant, or both) or death. Locoregional failure was defined as the appearance of a tumour in the postoperative bed, cervical node metastasis, or both. Distant metastasis-free survival (DMFS) was defined as the time interval until the development of distant metastasis. Statistical analysis was performed with the SPSS statistical software package for Mac (version 23.0; IBM, Armonk, NY, USA). All survival analyses were performed using the Kaplan-Meier method. The log-rank test was used to test the statistical significance of differences in the survival and control rates. The value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. All potential prognostic factors were analyzed.

Results

Patient Characteristics

Sixty-four patients were included in the final analysis. The median age was

47 years (range 29–76), with a male : female ratio of 4 : 1. All the patients had squamous cell carcinoma of the oral cavity. All the patients underwent ipsilateral neck dissection except one, who underwent ipsilateral modified neck dissection and contralateral supraomohyoid neck dissection. The demographic, clinical, and histopathological features of the cohort are presented in Tab. 1.

Survival rates

The median follow-up was 40 months (range 9.5–56.5). The 2-year OS and DFS were 91.5 and 88.5%, respectively (Graph 1). The crude OS and DFS rates were 89.1 and 82.9%, respectively. There were no statistically significant differences between survival outcomes for the number of ERMs (Tab. 2).

Local control rates

The crude local and regional failure rates were 10.9% and 3.1%, respectively. The 3-year locoregional control rate was 90.2%. The estimated 4-year local and locoregional control rates were 79.6% and 78.3%, respectively (Graph 2). The 2-year locoregional control rate for one close margin was significantly better as compared to more than one close margin ($P = 0.049$) (Graph 3). The local control rate was slightly better for one close margin compared with more than one close margin, albeit statistically insignificant ($P = 0.304$). No difference in local control and locoregional control rates was found between the number of ERMs resected (1 vs. 2) and \leq vs. > 3 mm margin status.

Margin status

Three patients had positive margins. The ERMs were clear in all the cases with close margins which were re-excised. One ERM had a foci of tumor present. Nine patients had two ERMs with rest all having one ERM. Close margin status (< 3 vs. > 3 mm) had no significant influence on survival outcomes or failure rates (Tab. 2). Of the margins that were re-excised, twenty cases had < 3 mm margins, while the rest of the cases had > 3 mm margins. Most of the patients had one ERM, while only 11 cases had more than one resection margin.

Tab. 1. Patient demographics.

Characteristics		N = 64	%
gender	male	48	75
	female	16	25
site	tongue	12	18.8
	buccal mucosa	30	46.9
	GBM/RMT	14	21.9
	alveolar complex	8	12.5
pathological T stage	T1	11	17.2
	T2	23	35.9
	T3	7	10.9
	T4	23	35.9
pathological N stage	N0	33	51.6
	N1	11	17.2
	N2	16	25
	N3	4	6.3
AJCC 8 th stage	I	5	7.8
	II	12	18.8
	III	11	17.2
	IV	36	56.3
nodal dissection	ipsilateral	63	98.4
	bilateral	1	1.6
neck dissection type	SOND	16	25
	MND	48	75
perineural invasion	present	12	18.8
	absent	52	81.2
lymphovascular invasion	present	7	10.9
	absent	52	81.2
number of close margins	1	39	60.9
	2	20	31.3
	3	3	4.7
	4	1	1.6
	5	1	1.6
number of extra-resection margins	1	53	82.8
	2	11	17.2
margins (≤ 3mm, > 3mm)	≤ 3mm	20	31.3
	> 3mm	44	68.8

AJCC – American Joint Committee on Cancer, GBS – gingivo-buccal sulcus, MND – modified neck dissection, N – lymph node, RMT – retromolar triangle, SOND – supraomohyoid neck dissection, T – tumor

Distant metastasis

Two patients developed bone metastases. Both patients received palliative RT as well as palliative chemotherapy

(CHT). The distant metastasis rates were not statistically different for the number of close margins, number of ERMs or > vs. ≤ 3 mm margin status.

Recurrence and secondary malignancy

One patient developed flap recurrence at local site and was cured after surgery (pT1) and didn't require further treatment and was alive without any morbidity at the last follow up cut-off date. One patient developed breast cancer as a second malignancy, and was cured after surgery, CHT and RT.

Discussion

Adequate surgical resection is an important component of the multimodal treatment approach for oral cancers [6,7]. The adequacy of the surgical resection depends upon the margin status achieved during the procedure [8]. The histologic status of surgical margins is an independent prognostic factor for deciding local control and survival outcomes [8]. The rate of involved margins in oral cancers is estimated to be < 10% [9]. However, there continues to be controversy regarding the independent effects of margin status on failure rates and outcomes [10]. One of the main possible reasons for the discrepancy is likely due to the variable definition of margin status used in different studies [11].

A recent meta-analysis on the effect of clearance of positive margins reported that surgical revision of positive margins to clear margins based on frozen section guidance is not equivalent to initial negative margin in terms of local control rates [12]. Several other studies [13–15] also suggested that positive margins cleared to negative had poor locoregional control rates compared to initially negative margins. Scholl et al. reported that those patients with initially positive margins that were rendered negative at the completion of the procedure and treated with surgery only had a significantly increased local recurrence rate and reduced survival compared with patients similarly treated with initially negative margins [16].

Clear surgical margins can be difficult to achieve, depending on the anatomical location and size of the tumour. The National Comprehensive Cancer Network defines 5 mm as the mar-

Tab. 2. Variation of survival outcomes with number of extra-resection margins, margin status and number of close margins.

	No. of extra-resection margins		Margin status		No. of close margins	
	1	2	≤ 3 mm	> 3mm	1	> 1
OS	88.8	85.7	95	85.7	89.7	94.4
	P = 0.067		P = 0.910		P = 2.690	
DFS	90	81.8	81.4	71.7	86.4	92
	P = 0.673		P = 0.757		P = 0.314	
LRC	83.4	81.8	85.7	81.6	94.7	92
	P = 2.157		P = 1.144		P = 0.049	
LC	98.1	81.8	85.7	92.6	97.4	92
	P = 3.067		P = 0.787		P = 0.304	
RC	98	100	100	97.6	97.2	100
	P = 0.394		P = 0.873		P = 1.493	
DM	96.2	100	95	97	94.7	100
	P = 0.427		P = 0.33		P = 1.334	

DFS – disease-free survival, DM – distant metastasis, LC – local control, LRC – locoregional control, OS – overall survival RC – regional control

gin status to define it as a clear margin for head and neck squamous cell carcinoma without any generalization of subsites [17]. The Royal College of Pathology defines margins as follows: < 1 mm is considered to be involved, 1–5 mm is considered close, and > 5 mm is considered as a clear margin [18].

Several authors have evaluated the ideal margin status for oral cancers. A wide range of cut-off margins have been described, ranging from 1 to 7 mm. Zanoni et al. advocated that a 3 mm margin may be sufficient in an evaluation of 381 cases [19]. They reported that the optimal margin associated with locoregional failure-free survival (LRFS) was 2.2 mm. Patients with a margin of 2.3–5 mm have similar LRFS as those with > 5 mm (hazard ratio (HR) 1.31), where HR for a 0.1–2.2 mm margin was 2.83. However, the use of adjuvant treatments like RT and CHT may have acted as a confounding factor. Nason et al. reported equal survival and recurrence rates among the patients with 3–4 mm margins compared to ≥ 5 mm margins [20]. However, another study by Barrya et al. did not find any difference between 3–4.9 mm and > 5 mm margins in terms of recurrences between pT1/2N0 and pT1/2N+ cases [21].

Brinkman et al. studied 244 cases of patients who underwent surgery and postoperative radiotherapy (PORT) retrospectively. Sixty-five patients had involved margins, whereas 119 cases had close margins. Both the 2 mm and 3 mm close margin cut-offs were significantly associated with local failure rates (P = 0.02 and 0.01, respectively) and OS (P = 0.03 and 0.005, respectively). On multivariate analysis, a 3 mm margin was found to be predictive for OS [11]. Another study of 398 oral cancer cases using 5 mm as the standard for clear margins reported locoregional recurrences and 5-year OS rates of 30% and 52% vs. 18% and 60% for patients with inadequate compared to adequate margins, respectively [22]. A report of 827 cases by Liao et al. reviewed the impact of different resection margins from 3 mm to 11 mm. They concluded that resection margins of less than 7 mm were significantly associated with decreased local control [23].

A recent retrospective study of 432 oral cavity cancer cases by Tasche et al. analyzed local failure rates in relation to each millimeter of invasive cancer from the inked tumour specimen margin. The locoregional recur-

rence rates for microscopic positive margins (< 1 mm, 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm, and > 5 mm margins) were 44%, 28%, 17%, 13%, 13%, 14%, and 11%, respectively. The authors concluded that resection of additional tissue beyond a 1 mm margin doesn't improve local control rates [24]. Another study by Wong et al. proposed that surgical margins of 2 mm may be considered the cut-off for a recommendation for PORT [25]. Ching et al. suggested that patients with close margins as the only risk factor for PORT also had acceptable local control without PORT [26]. Another report by Scholl et al. concluded that initially positive margins cleared to negative by re-excision benefited from adjuvant PORT, and the locoregional control rates were similar to those of margin negative [16].

The current study did not find any significant differences in survival outcomes between close margins of one and more than one. Margin status of > vs. ≤ 3 mm also did not yield any significant differences in survival outcomes. The number of ERMs also did not have any statistically significant differences in the survival outcomes. The possible reasons could be the small sample size, which results in a limited

number of events, although the follow-up is 40 months, which is adequate for head and neck cancers, as most of the failures and recurrences in these cancers generally occur within a 24-month period [27].

Although the debate around margin status continues to rage, one more issue that remains is that different head and neck sites require different margins [9]. Therefore, although a precise microscopic 5 mm margin is usually considered adequate, this may not be the best case for all sites in the head and neck region. Individualized studies targeting different surgical resection margins with larger patient cohorts from specific sites are needed to validate the question of exact and adequate margin status.

Advantages

The strengths of the study include the nature of the evaluation. This is one of the first studies evaluating the role of ERMs in treatment failures. The follow-up duration of around forty months seems adequate.

Limitations

The limitations of our paper include its retrospective nature. Also, it was a single-arm study. A match-paired analysis with a larger cohort of patients might better discern the differences in outcome and whether dose escalation is needed in cases with ERMs. Also, the data may be confounded by a number of other risk factors other than margin status. The sample size is relatively small to detect a significant difference between survival and failure outcomes.

It is difficult to perform a study where we can compare these cases with ERM who have received PORT with those cases who have not received PORT, as the treatment in the second case will be unethical as there are multiple other risk factors that mandate the use of PORT. So, a number of other confounding factors will be present, and it will be difficult to isolate patients with only ERM as a risk factor for PORT. Therefore, only sin-

gle-arm studies that are retrospective in nature can help evaluate the outcomes.

Conclusion

The survival rates and locoregional control rates did not differ much between the groups which had one or more ERMs. However, the locoregional control rates were better in cases with one close margin as compared to those with more than one close margin. A larger study with a longer duration is needed to detect statistically significant differences in outcomes and identify the factors that portend poor prognosis in these cases with close margins and ERMs.

References

- Farlay J, Bray F, Pisani P et al. GLOBOCAN 2002: cancer incidence, mortality and prevalence worldwide IARC cancer base no. 5, version 2.0. IARC Press Lyon: France 2004.
- Watkinson JC, Gilbert RW, Stell PM et al. Stell and Maran's textbook of head and neck surgery and oncology. Hodder Arnold: London 2012.
- Shah JP, Gil Z. Current concepts in management of oral cancer – surgery. *Oral Oncol* 2009; 45(4–5): 394–401. doi: 10.1016/j.oraloncology.2008.05.017.
- Bernier J, Cooper JS, Pajak TF et al. Defining risk levels in locally advanced head and neck cancers: a comparative analysis of concurrent postoperative radiation plus chemotherapy trials of the EORTC (#22931) and RTOG (# 9501). *Head Neck* 2005; 27(10): 843–850. doi: 10.1002/hed.20279.
- Ang KK, Trotti A, Brown BW et al. Randomized trial addressing risk features and time factors of surgery plus radiotherapy in advanced head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 51(3): 571–578. doi: 10.1016/s0360-3016(01)01690-x.
- Chan GG, Tai BC, Liang S et al. Squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC) – multi-modality treatment and impact on survival. *Asian J Surg* 2002; 25(1): 35–40.
- Sher DJ, Thotakura V, Balboni TA et al. Treatment of oral cavity squamous cell carcinoma with adjuvant or definitive intensity-modulated radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 81(4): 215–222. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.02.023.
- Mehra S, Shah J, Bilsky M et al. Outcomes of temporal bone resection for locally advanced parotid cancer. *Skull Base* 2011; 21(6): 389–396. doi: 10.1055/s-0031-1287682.
- Vidhyadharan S, Augustine I, Kudpaje AS et al. Site-wise differences in adequacy of the surgical resection margins in head and neck cancers. *Indian J Surg Oncol* 2014; 5(3): 227–231. doi: 10.1007/s13193-014-0341-4.
- Garly I, Patel S, Shah J. Early stage squamous cell cancer of the oral tongue – clinicopathologic features affecting outcome. *Cancer* 2012; 118(1): 101–111. doi: 10.1002/cncr.26229.
- Brinkman D, Callanan D, O'Shea R et al. Impact of 3 mm margin on risk of recurrence and survival in oral cancer. *Oral Oncol* 2020; 110: 104883. doi: 10.1016/j.oraloncology.2020.104883.
- Bulbul MG, Tarabichi O, Sethi RK et al. Does clearance of positive margins improve local control in oral cavity cancer? A meta-analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2019; 161(2): 235–244. doi: 10.1177/0194599819839006.
- Priya SR, D'Cruz AK, Pai PS. Cut margins and disease control in oral cancers. *J Cancer Res Ther* 2012; 8(1): 74–79. doi: 10.4103/0973-1482.95178.
- Varvares MA, Poti S, Kenyon B et al. Surgical margins and primary site resection in achieving local control in oral cancer resections. *Laryngoscope* 2015; 125(10): 2298–2307. doi: 10.1002/lary.25397.
- Patel RS, Goldstein DP, Guillemaud J et al. Impact of positive frozen section microscopic tumor cut-through revised to negative on oral carcinoma control and survival rates. *Head Neck* 2010; 32(11): 1444–1451. doi: 10.1002/hed.21334.
- Scholl P, Byers RM, Batsakis JG et al. Microscopic cut-through of cancer in the surgical treatment of squamous carcinoma of the tongue: prognostic and therapeutic implications. *Am J Surg* 1986; 152(4): 354–360. doi: 10.1016/0002-9610(86)90304-1.
- Alicandri-Ciuffelli M, Bonali M, Piccinini A et al. Surgical margins in head and neck squamous cell carcinoma: what is "close"? *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2013; 270(10): 2603–2609. doi: 10.1007/s00405-012-2317-8.
- Helliwell T, Woolgar JA. Standards and minimum datasets for reporting common cancers. Minimum dataset for head and neck histopathology reports. London: The Royal College of Pathologists 1998.
- Zanoni DK, Migliacci JC, Xu B et al. A proposal to re-define close surgical margins in squamous cell carcinoma of the oral tongue. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2017; 143(6): 555–560. doi: 10.1001/jamaoto.2016.4238.
- Nason RW, Binahmed A, Pathak KA et al. What is the adequate margin of surgical resection in oral cancer? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107(5): 625–629. doi: 10.1016/j.tripleo.2008.11.013.
- Barrya C, Shawa R, Woolgar J et al. OP081: evidence to support: a 3mm margin as oncologically safe in early oral SCC. *Oral Oncol* 2013; 49(1): S37. doi: 10.1016/j.oraloncology.2013.03.089.
- Loree TR, Strong EW. Significance of positive margins in oral cavity squamous carcinoma. *Am J Surg* 1990; 160(4): 410–414. doi: 10.1016/s0002-9610(05)80555-0.
- Liao CT, Chang JT, Wang HM et al. Analysis of risk factors of predictive local tumor control in oral cavity cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; 15(3): 915–922. doi: 10.1245/s10434-007-9761-5.
- Tasche KK, Buchakjian MR, Pagedar NA et al. Definition of "close margin" in oral cancer surgery and association of margin distance with local recurrence rate. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2017; 143(12): 1166–1172. doi: 10.1001/jamaoto.2017.0548.
- Wong LS, McMahon J, Devine J et al. Influence of close resection margins on local recurrence and disease-specific survival in oral and oropharyngeal carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2012; 50(2): 102–108. doi: 10.1016/j.bjoms.2011.05.008.
- Ching S, Corbett-Burns S, Stanton N et al. Close margin alone does not warrant postoperative adjuvant radiotherapy in oral squamous cell carcinoma. *Cancer* 2013; 119(13): 2427–2437. doi: 10.1002/cncr.28081.
- Ghoshal S, Mallick I, Panda N et al. Carcinoma of the buccal mucosa: analysis of clinical presentation, outcome and prognostic factors. *Oral Oncol* 2006; 42(5): 533–539. doi: 10.1016/j.oraloncology.2005.10.005.

Nová doporučení ESMO pro klinickou praxi u metastatického kolorektálního karcinomu – komentář ke změnám v systémové léčbě

New ESMO guidelines for clinical practice in metastatic colorectal cancer – commentary on changes in systemic therapy

Kiss I., Tomášek J.

Klinika komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ Brno

Souhrn

Komentář nově vydaných doporučení Evropské společnosti pro klinickou onkologii (European Society for Medical Oncology – ESMO) pro diagnostiku a léčbu metastatického kolorektálního karcinomu (metastatic colorectal cancer – mCRC). Po 6 letech byly aktualizovány jednotlivé kapitoly od molekulárního testování nádoru přes diagnostické a léčebné postupy po implementaci nově registrovaných léčivých přípravků. Autoři upozorňují na nejdůležitější změny v doporučených postupech. Povědomí o možných nových postupech mCRC je důležité pro stanovení strategie léčby pro konkrétní pacienty s mCRC. V tomto komentáři se věnujeme především postavení systémové léčby u neresekabilního onemocnění.

Klíčová slova

doporučení – metastatický kolorektální karcinom – léčba

Summary

Commentary on the newly released European Society for Medical Oncology (ESMO) guidelines for the diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC). After 6 years, individual chapters have been updated, from molecular tumor testing to diagnostic and treatment procedures to the implementation of newly registered medicinal products. The authors highlight the most important changes in the guidelines. Awareness of possible new treatments for mCRC is important to determine the treatment strategy for patients with mCRC. In this commentary, we focus primarily on the status of systemic treatment in unresectable disease.

Key words

guidelines – metastatic colorectal cancer – treatment

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

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

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

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



MUDr. Jiří Tomášek, Ph.D.

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

Obdrženo/Submitted: 7. 11. 2023

Přijato/Accepted: 9. 11. 2023

doi: 10.48095/ccko2023473

Úvod

Kolorektální karcinom (colorectal cancer – CRC) je třetím nejčastějším nádorovým onemocněním celosvětově s 1,1 milionem nových případů ročně, a je druhou nejčastější příčinou úmrtí na zhoubné onemocnění [1]. Dle dat Národního onkologického registru ČR byla v roce 2021 incidence tohoto onemocnění 67,67 nových případů na 100 000 osob (> 7 000 nových případů ročně), necelá polovina počtu nemocných na tento zhoubný nádor každoročně umírá [2]. V říjnu roku 2022 vyšla po 6 letech nová doporučení Evropské společnosti pro klinickou onkologii (European Society for Medical Oncology – ESMO) k léčbě mCRC [3]. Tento komentář se věnuje některým novým doporučením v systémové léčbě mCRC. V tomto textu je použito hodnocení úrovně důkazů (I–V) a míry doporučení (A–E) tak, jak je uvedeno v aktuálním doporučení ESMO.

Diagnostika, patologie a molekulární biologie

Nová doporučení zdůrazňují nutnost testování stavu mismatch repair (MMR) proteinů a onkogenů *KRAS*, exonů 2, 3 a 4 *NRAS* a mutace *BRAF* u všech pacientů v čase diagnózy mCRC. Testování genu *RAS* je nutné pro indikaci terapie monoklonálními protilátkami proti receptoru pro epiteliální růstový faktor (anti-EGFR) a může být provedeno buď z primárního nádoru, nebo metastázy. Stav mutace genu *BRAF* by měl být hodnocen současně s hodnocením genu *RAS*, pro prognostické posouzení a pro identifikaci pacientů vhodných pro podání kombinované cílené léčby cetuximabem s enkorafenibem. Průkaz deficiencie MMR / mikrosatelitové nestability (dMMR/MSI) u mCRC může pomoci v genetickém určení Lynchova syndromu, ale jde taky o molekulární marker predikující účinnost checkpoint inhibitorů v léčbě mCRC. Identifikace amplifikace HER2 pomocí imunohistochemie (IHC) nebo fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je doporučeno u pacientů bez mutace *RAS* (*RAS-wt*) k detekci těch, kteří mohou mít prospěch z blokády HER2 v další linii léčby. Testování dalších biomarkerů vč. genů *ALK*, fúze *ROS* a mutace *PIK3CA* se nedoporučuje mimo kli-

nické studie. Ve vzácných případech, kdy je detekována fúze *NTRK*, je doporučena léčba pomocí larotrektrinibu nebo entrectinibu. Je doporučeno testování deficiencie DPD před zahájením chemoterapie (CHT) fluoropyrimidiny.

Léčba pokročilého a metastatického onemocnění – systémová léčba

Pro rozhodování o nejlepším léčebném postupu je vhodná diskuse v multidisciplinárním týmu se zohledněním i faktorů, které byly stanoveny v doporučení ESMO Consensus 2016 [4], jako je klinická prezentace (symptomy při diagnóze, lokalizace primárního tumoru), histologie a molekulární charakteristiky nádoru, stav pacienta (věk, výkonnostní stav (performance status – PS), komorbidity, socioekonomické faktory), cíl léčby a potenciální s léčbou související problémy (toxická, kvalita života atd.).

Předchozí ESMO klasifikace pacientů rozdělovala pacienty do čtyř skupin podle cílů léčby. Cíle léčby pro fit pacienty se liší podle různých scénářů. Kurativní cíl je dosahován chirurgickou léčbou v případě oligometastatického onemocnění, které je lokalizováno v játrech, plicích nebo solitárně v jiném orgánu. V případě iniciálně neresekovatelného onemocnění je cílem léčby dosažení léčebné odpovědi systémovou léčbou, což může následně umožnit radikální resekci původně neresekabilního onemocnění. Pokud není vzhledem k rozsahu onemocnění radikální léčba chirurgicky ani regionálními metodami možná, je terapeutickým cílem zlepšení symptomů souvisejících s nádorem, oddálení progresu a prodloužení přežití při zachování kvality života. Transplantace jater je v současné době experimentální možností pro pacienty s metastázami omezenými na játra.

Léčba mCRC 1. linie

Aktuální doporučení v podstatě respektují běžnou onkologickou praxi v ČR (schéma 1). Je vyčleněna skupina pacientů s významnými komorbiditami, která není vhodná pro kurativní léčbu, u které se doporučuje fluoropyrimidin ± bevacizumab. Pro křehké nebo starší pacienty je doporučena léčba fluo-

ropyrimidin ± bevacizumab, pro *RAS-wt* pacienty CHT v kombinaci s anti-EGFR nebo anti-EGFR v monoterapii (monoterapie cetuximabem ani panitumumabem v 1. linii léčby mCRC nemá v ČR stanovenou úhradu z prostředků zdravotního pojištění). Skupina pacientů *RAS-wt*, *BRAF-wt* je nově kategorizována podle lokalizace primárního nádoru. U levostranných nádorů je doporučena dvojkombinace CHT s anti-EGFR léčbou. Tato léčba vede k prodloužení celkového přežití (overall survival – OS), přežití bez progresu (progression-free survival – PFS) i léčebné odpovědi (response rate – RR). U pravostranných nádorů nevede podání cetuximabu ani panitumumabu k prodloužení OS ani PFS, byla prokázána vyšší RR. Proto je u pravostranných nádorů preferovanou léčbou dublet s bevacizumabem (doporučení II, B) nebo triplet CHT s bevacizumabem (doporučení I, B). Pouze v případě, že je cílem léčby dosažení větší regrese, lze u vybraných pacientů použít dublet CHT v kombinaci s anti-EGFR terapií (doporučení I, C). Typickým příkladem je konverzní léčba před resekci jaterních metastáz. Aktuální doporučení potvrzují běžně používaná pravidla pro anti EGFR terapii: lze ji kombinovat s kontinuálními režimy FOLFOX nebo FOLFIRI, nevhodná je kombinace s bolusovými režimy s 5-fluorouracilem (např. FLOX) nebo s kapecitabinem. U pacientů s přítomností mutace *RAS* je doporučen dublet CHT ± bevacizumab či triplet ± bevacizumab (pro oba případy doporučení I, B). Další novinkou je klasifikace pacientů s přítomností mutace *BRAF*, kde je u levostranných nádorů doporučen dublet CHT ± bevacizumab (doporučení I, B) a u pravostranných nádorů dublet nebo triplet CHT ± bevacizumab (doporučení II, B). Triplet FOLFOXIRI se nedoporučuje u pacientů starších 75 let, s PS 2 nebo u pacientů s významnými komorbiditami. Žádný důkaz ve formě studie fáze III nepodporuje použití monoklonálních protilátek anti-EGFR v kombinaci s triplety, jak je ukázáno ve studii TRIPLETE, a to navzdory počátečnímu přínosu v celkové odpovědi na léčbu v studii fáze II VOLFI [5]. Poslední novinkou ve schématu léčby 1. linie u mCRC v rámci nových ESMO doporučení je léčba pro skupinu pacientů s pro-

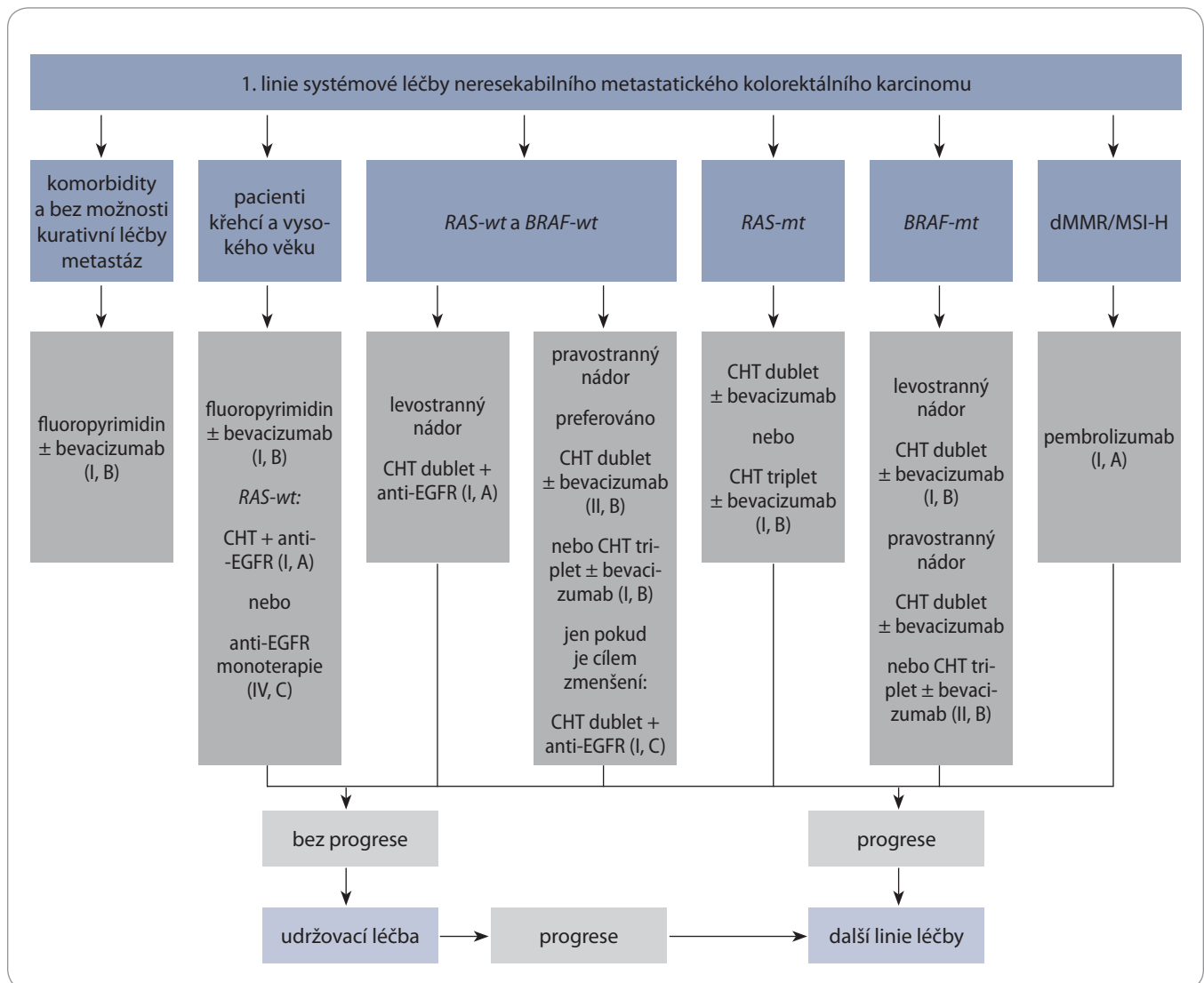


Schéma 1. První linie systémové léčby neresekabilního metastatického kolorektálního karcinomu. Adaptováno podle [3].

CHT – chemoterapie, d-MMR – deficece mismatch repair, EGFR – receptor pro epiteliální růstový faktor, MSI – mikrosatelitová nestabilita, mt – mutace, wt – wild type

kázaným dMMR/MSI-H, která v původním schématu nebyla přítomna vůbec. Pro tuto skupinu pacientů je doporučována léčba pomocí pembrolizumabu (doporučení I, A).

Udržovací léčba mCRC

Doporučení pro udržovací terapii také popisuje naši běžnou praxi. Jde o deeskalaci intenzity léčby, především vysazení oxaliplatinu, která vede k nižšímu výskytu vedlejších účinků a zlepšení kvality života s cílem kontroly onemocnění. Pokud je v 1. linii použit režim s oxaliplatinou a bevacizumabem, je doporučeno po > 4 měsících léčby (při výrazné

neuropatii dříve) vysadit oxaliplatinu a pokračovat fluoropyrimidinem s bevacizumabem (doporučení I, B). Použití monoterapie bevacizumabem vhodné není. Pokud byl použit režim s oxaliplatinou a anti-EGFR léčbou, je vhodnou udržovací terapií fluoropyrimidin s anti-EGFR. Režim FOLFIRI lze při dobré toleranci podávat do progresse. Po progresi na udržovací terapii se lze vrátit k původně účinnému režimu, pokud to klinický stav umožňuje (neurotoxicita, hematologická toxicita). Také vzhledem ke konceptu udržovací terapie a možnosti návratu k indukční terapii po progresi je číslování linií léčby problematické, lze

hovořit spíše o kontinuitě léčby. Z edukativních důvodů se aktuální doporučení ESMO číslování linií drží.

Léčba mCRC 2. linie

Opět platí osvědčená pravidla. Po progresi na oxaliplatině je do další linie vhodný režim s irinotekanem a naopak. Prakticky v každé situaci lze použít v 2. linii antiangiogenní léčbu. Bevacizumab je vhodný i po progresi, v kombinaci s FOLFIRI je možností aflibercept nebo ramucirumab (ramucirumab nemá stanovenou úhradu z prostředků zdravotního pojištění). Nově je uvažován význam lokalizace primárního

nádoru i pro 2. linii. Pokud nebyla anti-EGFR terapie použita v 1. linii, je u pacientů RAS-wt s levostranným primárním nádorem doporučena anti-EGFR terapie v kombinaci s FOLFIRI nebo irinotekanem (doporučení II, C), u pravostřanných nádorů antiangiogenní léčba s CHT (doporučení II, B). Důraz je kladen na pacienty s mutací *BRAF V600E* mutací. Mutace *BRAF* je u pacientů s mCRC spojena se špatnou prognózou a dosavadní léčba prokázala u těchto pacientů pouze částečnou účinnost. Pro předléčené pacienty je optimální volbou kombinace enkorafenibu (perorální inhibitor *BRAF V600E*) s cetuximabem. V současné době probíhají studie k testování této kombinace v časných liniích metastatického onemocnění, například studie BREAKWATER. Opět, stejně jako v případě 1. linie, tak i v 2. linii léčby je nově definována podskupina pacientů s dMMR/MSI-H. V případě, že tito pacienti s MSI-H mCRC nebyli v 1. linii léčeni pembrolizumabem, je ve 2. linii optimální volbou kombinace nivolumab s ipilimumabem. Je nutné zdůraznit, že pacientům s mCRC MSI-H moderní imunoterapie dramatickým způsobem zlepšuje vyhlídky na dlouhodobé přežití s normální kvalitou života. Pokud není kontraindikace, tak by měla být vždy podána v 1. nebo 2. linii léčby. Pokud byla u nádorů dMMR/MSI-H, *mt-BRAF V600E* použita imunoterapie v 1. linii, mohou tito pacienti po progresi profitovat z kombinace enkorafenib-cetuximab.

Léčba mCRC ≥ 3. linie

I v léčbě ≥ 3. linie nová doporučení léčebné schéma doplnila o nové možnosti cílené terapie. V případě amplifikace HER2 možno použít duální blokádu HER2 s kombinací trastuzumabu a inhibitoru tyrozin kinázy lapatinibu, především v případě *RAS-wt* (tato léčba nemá stanovenou úhradu z prostředků zdravotního pojištění). Pokud doposud nebyla u nádorů *RAS-wt* použita anti-EGFR tera-

pie, lze ji použít v pozdní linii (panitumumab monoterapie nebo cetuximab s irinotekanem, cetuximab monoterapii). Trifluridin-tipiracil nebo regorafenib lze použít u pacientů předléčených oxaliplatinou, irinotekanem, fluoropyrimidiny a biologickou léčbou. Je zmíněno, že je nutné dodržovat lokální pravidla pro indikaci těchto léků. V ČR to znamená, že v pozdní linii léčby lze podat trifluridin-tipiracil nebo regorafenib. Pokud uvažujeme podání těchto léků sekvenčně, je nutný souhlas plátcem.

V listopadu 2023 byla provedena aktualizace doporučení. Nově je uvedena jako možnost pro 3. linii léčby kombinace trifluridin-tipiracil-bevacizumab. Tato kombinace signifikantně prodlužuje OS. Pro naši aktuální praxi je důležité, že tato kombinace má registraci EMA, je uvedena v SPC Lonsurfu (trifluridin-tipiracil), ale bevacizumab v této indikaci zatím nemá stanovenou úhradu z prostředků zdravotního pojištění [6].

Nově je v doporučeních ESMO zmíněna možnost rechallenge anti-EGFR léčbou u vybraných pacientů, u nichž iniciálně došlo k léčebné odpovědi a u nichž je zachován stav *RAS-wt* prokázaný tekutou biopsií. V ČR bylo v květnu 2022 vydáno společné stanovisko Všeobecné zdravotní pojišťovny ČR, České onkologické společnosti České lékařské společnosti J. E. Purkyně (ČLS JEP) a Společnosti českých patologů ČLS JEP pro prediktivní testování solidních nádorů. Podle této dohody je tekutá biopsie (vyšetření z krve) hrazena u nádorů, u kterých je indikace k prediktivnímu testování (nemalobuněčný karcinom plic, CRC, maligní melanom) ve dvou základních situacích: 1) při nemožnosti vyšetření z biotického materiálu při prvotním stanovení diagnózy a 2) u nemocných s recidivou/progresí nádoru při podezření na změnu mutačního stavu nádoru, která by mohla mít léčebné dopady. Zde závisí na rozhodnutí ošetřujícího onkologa, zda jako me-

todu první volby pro identifikaci provede novou biopsii nádoru nebo odběr tekuté biopsie. Na základě této dohody lze využít tekutou biopsii k ověření mutačního stavu před podáním anti-EGFR terapie v režimu rechallenge. Vzhledem k úhradovým pravidlům je nutné schválení úhrady rechallenge plátcem.

Závěr

Nová ESMO doporučení pro léčbu mCRC reflektují aktuální možnosti dostupné léčby mCRC v Evropské unii. Důraz je kladen především na důležitost molekulárního testování již při stanovení diagnózy, což pomůže jak v odhadu prognózy, tak při volbě optimálního plánu systémové léčby pro více linií. Právě na základě molekulárního testování lze identifikovat podskupiny pacientů, pro které máme nové účinné protinádorové léky. V běžné praxi je nutné brát v úvahu při plánování léčby úhradové podmínky jednotlivých protinádorových léků.

Dedikace

Podpořeno MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

Literatura

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71(3): 209–249. doi: 10.3322/caac.21660.
2. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. [online]. Dostupné z: <http://www.svod.cz>.
3. Cervantes A, Adam R, Roselló S et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2023; 34(1): 10–32. doi: 10.1016/j.annonc.2022.10.003.
4. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016; 27(8): 1386–1422. doi: 10.1093/annonc/mdw235.
5. Rossini D, Antoniotti C, Lonardi S et al. Upfront modified fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan plus panitumumab versus fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin plus panitumumab for patients with RAS/ BRAF wild-type metastatic colorectal cancer: the phase III TRIPLETE study by GONO. *J Clin Oncol* 2022; 40(25): 2878–2888. doi: 10.1200/JCO.22.00839.
6. Cervantes A, Adam R, Roselló S et al. Updated treatment recommendation for third-line treatment in advanced colorectal cancer from the ESMO Metastatic Colorectal Cancer Living Guideline. *Ann Oncol* 2023; 34(1): 10–32. doi: 10.1016/j.annonc.2023.10.129.

Paliativní radioterapie pokročilého karcinomu kůže ušního boltce

Palliative radiotherapy of advanced skin cancer of the auricle

Pechačová Z., Drbohlavová T., Pála M.

Ústav radiační onkologie, 1. LF UK a FN Bulovka, Praha

Nádory kůže představují nejčastější maligní tumory a jejich incidence v posledních letech narůstá [1,2]. Hlavním etiologickým faktorem je dlouhodobá expozice kůže slunečnímu UV záření, důležitou roli hraje také světlý fototyp kůže nebo dědičné predispozice. Histologicky se může jednat buď o nádory epitelové (nemelanomové), kam patří především bazocelulární a spinocelulární karcinomy, nebo o maligní melanomy původem z melanocytů [1], jiné histologické typy jsou velmi vzácné. Předmětem tohoto sdělení je případ pacientky se spinocelulárním karcinomem (squamous cell cancer – SCC) ušního boltce, proto je

dále zmiňována pouze problematika tohoto histologického typu.

U kožního SCC jsou popisovány rizikové charakteristiky – makroskopická velikost tumoru > 2 cm, lokalita na spánku, ušním boltci či rtu, histopatologický grading, invaze do koria > 6 mm, perineurální šíření, desmoplazie a celková imunoprese [3]. Pokud jsou přítomny tyto rizikové faktory, je SCC klasifikován jako vysoce rizikový (high risk), při absenci těchto vlastností se jedná o nízké rizikový (low risk) SCC [3].

Léčba spinocelulárních karcinomů kůže je prováděna se záměrem radikálního odstranění tumoru za současného

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

The authors declare that 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. Zdeňka Pechačová

Ústav radiační onkologie

1. LF UK a FN Bulovka

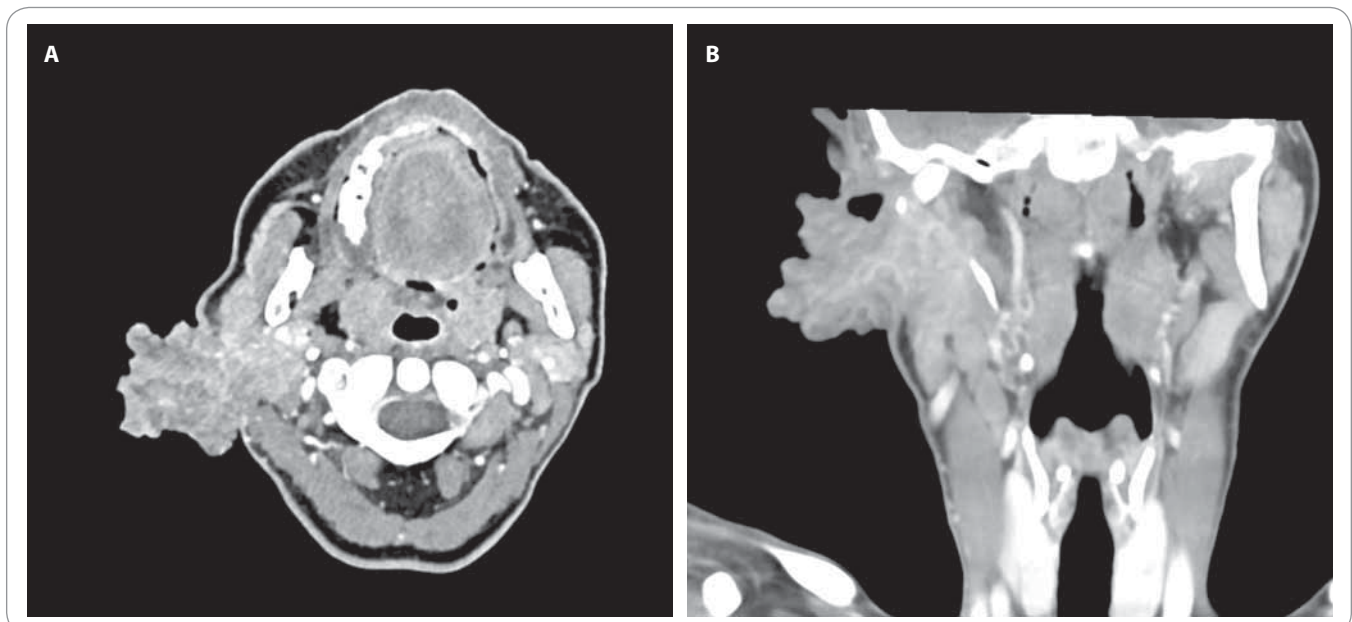
Budínova 2

180 81 Praha 8

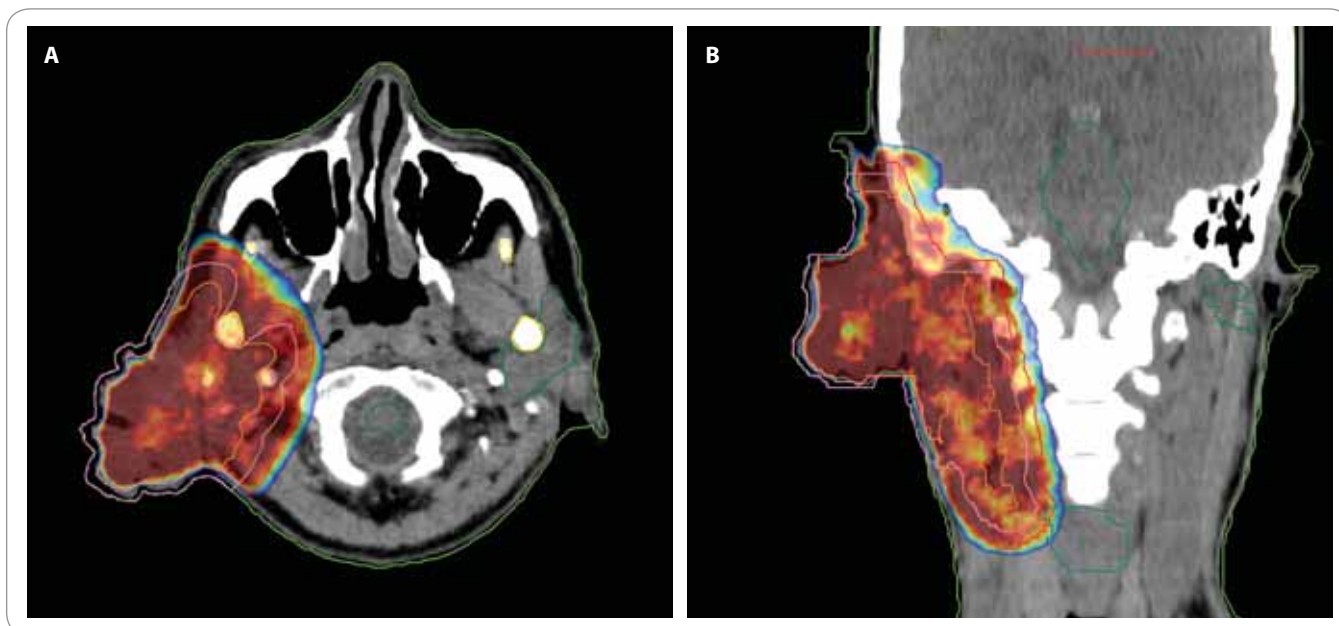
e-mail: zdenka.pechacova@bulovka.cz

Obdrženo/Submitted: 10. 11. 2023

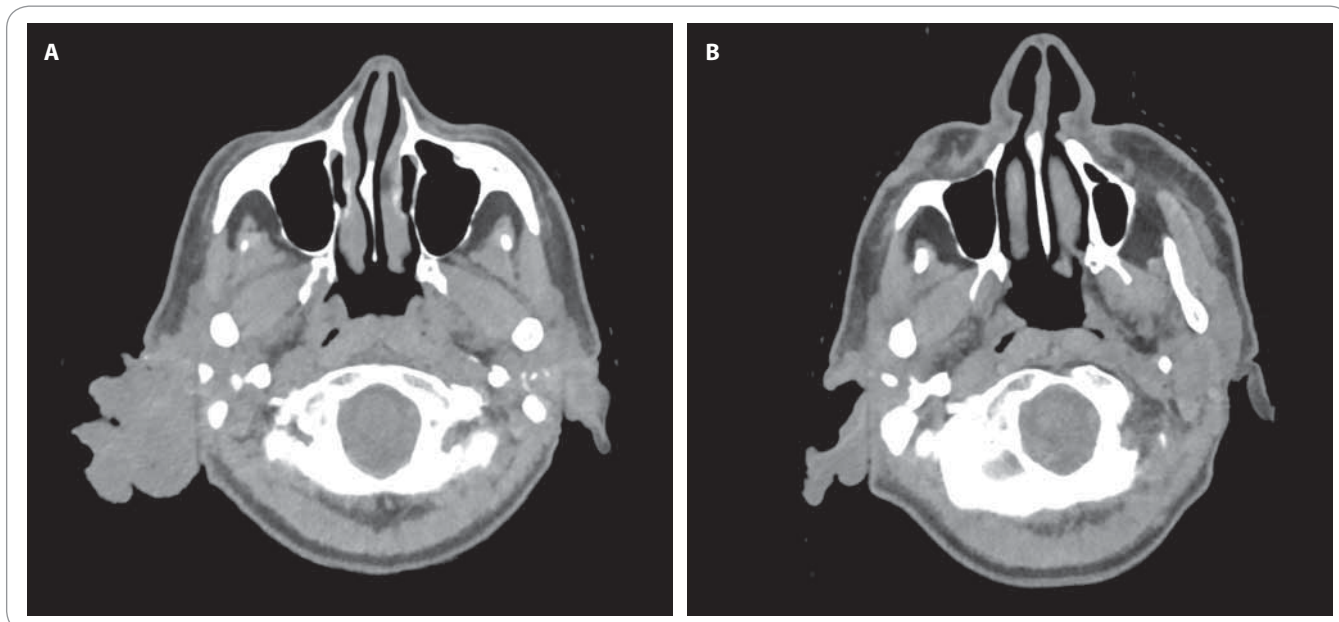
doi: 10.48095/ccko2023477



Obr. 1. Vstupní nález na CT vyšetření s podáním kontrastní látky. Je zřejmý objemný tumor pravého ušního boltce s krční lymfadenopatií vpravo. A) axiální řez, B) koronární řez.



Obr. 2. Ozařovací plán – paliativní radioterapie na oblast tumoru v oblasti pravého ucha a lymfatických uzlin krku vpravo. Ozařovací technika: objemově modulovaná radioterapie kyvem (VMAT), přístroj Versa HD (Elekta). Předepsaná dávka: 30 Gy / 10 frakcí à 3 Gy. Kontury: oranžová – gross target volume (GTV), lososová – clinical target volume (CTV), červená – planning target volume (PTV). Izodózy: červená – 100 % předepsané dávky, žlutozelená – 95 % předepsané dávky, modrá – 90 % předepsané dávky. A) axiální řez, B) koronární řez.



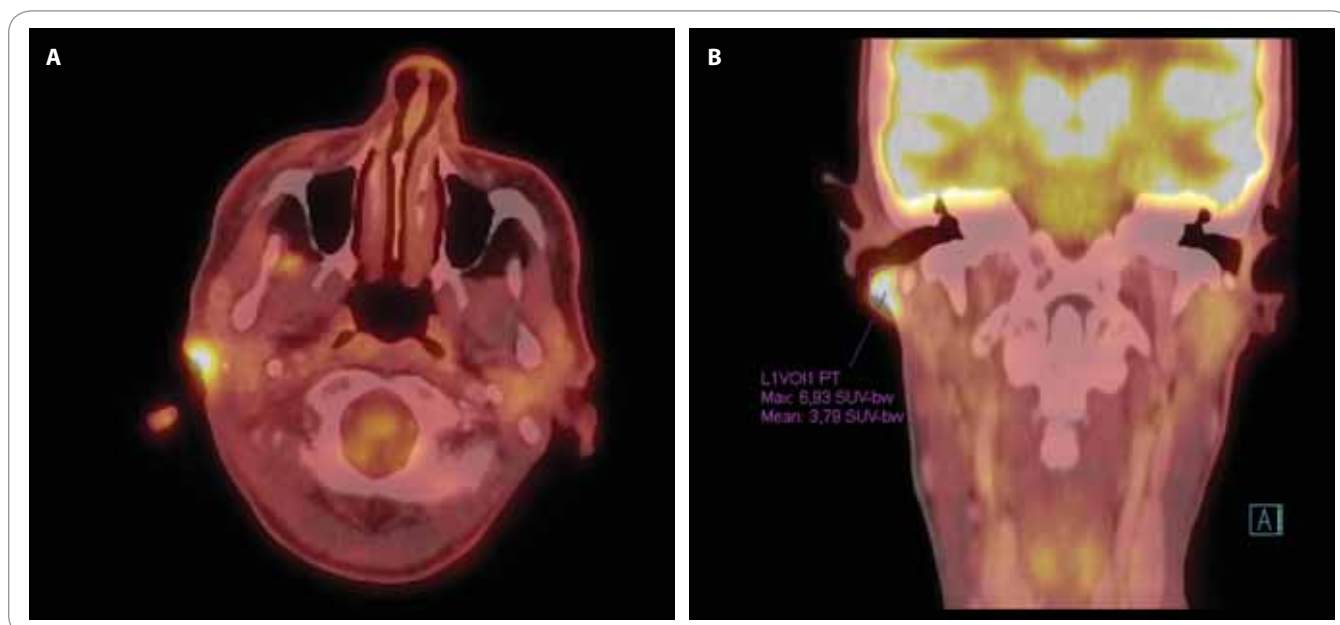
Obr. 3. Regrese tumoru během paliativní radioterapie. Nativní CT snímek A) v době plánování radioterapie; B) po aplikaci dávky 10x3 Gy.

zachování funkce dané oblasti těla a se snahou o co nejlepší kosmetický efekt. Léčba těchto nádorů je tedy obvykle chirurgická – resekce nádoru s dostatečným lem zdravé tkáně [1,4]. V případě rizikových faktorů (invaze do okolních struktur, postižení lymfatických uzlin, perineurální šíření) bývá indikována

reoperace nebo pooperační radioterapie [1]. U pacientů s inoperabilním nálezem je indikována radikální nebo paliativní [5,6] radioterapie formou zevního ozáření nebo brachyterapie technikou muláže [1,7]. U pacientů s metastazujícím nebo lokálně pokročilým SCC kůže, kteří nejsou vhodní k radikální léčbě, je

v 1. linii indikována systémová imunoterapie – podání protilátky proti receptoru PD-1 – cemiplimab [4,7].

V předkládaném sdělení prezentujeme případ pacientky s pokročilým spinocelulárním karcinomem ušního boltce, kde bylo dosaženo dobrého efektu pomocí radioterapie.



Obr. 4. Reziduum tumoru u zevního zvukovodu vpravo s akumulací fluorodeoxyglukózy na vyšetření PET/CT s odstupem 3 měsíců po reiradiaci pro progresi. Bez průkazu lymfadenopatie nebo vzdálené generalizace. A) axiální řez, B) koronární řez.

U pacientky byl v dubnu 2022 ve věku 49 let zjištěn objemný karcinom pravého ušního boltce. Pacientka pozorovala rezistenci na uchu asi rok, anamnesticky byla bez komorbidit, přiznávala nikotinismus od mládí, pracovala jako dělnice a v posledních letech měla zvýšenou psychickou zátěž z důvodu péče o psychiatricky vážně nemocného manžela. Histologicky byl ověřen G1 epidermoidní karcinom, zobrazovacími metodami bylo potvrzeno klinické stadium T4bN0M0, nález byl hodnocen jako inoperabilní a pacientka byla odeslána k provedení radikální radioterapie. Léčba byla opakovaně odložena z různých osobních důvodů při zhoršené spolupráci pacientky. V době plánování radioterapie s odstupem 3 měsíců od diagnózy měl nádor v průměru kolem 10 cm (obr. 1) s výrazným foetorem, ušní boltce vpravo byl tumorem prakticky spotřebován a bylo zjištěno vícečetné postižení lymfatických uzlin vpravo na krku. Záměr léčby byl změněn na paliativní.

Pacientka zahájila radioterapii na oblast tumoru a postižených lymfatických uzlin v dávce 3 Gy na frakci (obr. 2). Po aplikaci několika frakcí došlo k velmi výrazné regresii tumoru (obr. 3) a k vymizení foetoru. Proto bylo rozhodnuto

o přidání dalších frakcí radioterapie do celkové dávky 42 Gy (14 × 3 Gy) – ekvivalentní dávka pro normofrakcionaci EQD2 = 45,5 Gy (pro tkáň s poměrem $\alpha/\beta = 10$), resp. 50,4 Gy (pro tkáň s poměrem $\alpha/\beta = 3$). Nežádoucí účinky byly akceptovatelné: zvýšená únava, erytém kůže, lehká konjunktivitida pravého oka a mírná dysfagie. Na konci radioterapie v srpnu 2022 bylo dosaženo výrazné regrese tumoru – z původní zevní velikosti cca 12 × 10 × 6 cm zůstávalo reziduum cca 3 × 3 × 2 cm. Na kontroly po léčbě se pacientka nedostavila.

V lednu 2023 byl zjištěn objemný progredující tumor pravého ucha, bez postižení lymfatických uzlin. V březnu 2023 byla provedena reiradiace jako jediná možnost léčby – dosaženo dávky 38 Gy (10 × 3 Gy + 4 × 2 Gy). Celkem byla z obou ozařování aplikována EQD2 86,0 Gy (pro tkáň s poměrem $\alpha/\beta = 10$), resp. 94,4 Gy (pro tkáň s poměrem $\alpha/\beta = 3$).

Plánovaná systémová léčba cemiplimabem nebyla podána, protože se pacientka opakovaně nedostavila. Kontrolní PET/CT vyšetření v květnu 2023 zobrazilo drobné ložisko s akumulací fluorodeoxyglukózy při zevním zvukovodu vpravo (obr. 4). Pacientka byla indikována k chirurgickému odstranění

reziduálního tumoru – operace byla provedena v červenci 2023. Z důvodu rozsahu výkonu i poradiačních změn tkání se rána hojila poměrně pomalu, s odstupem 3 měsíců po operaci přetrvával kožní defekt o průměru cca 3 cm, byly prováděny pravidelné převazy. Pacientka zůstávala v říjnu 2023, tedy 18 měsíců od první diagnózy pokročilého onemocnění, bez průkazu recidivy nebo vzdálené generalizace, subjektivně byla spokojená a srozuměna s následky léčby objemného tumoru.

Paliativní radioterapie je klíčovou modalitou v léčbě pokročilých nádorových onemocnění, kde přispívá k ovlivnění lokální kontroly onemocnění a ke zmírnění symptomů [8]. Prezentovaný klinický případ pacientky s pokročilým spinocelulárním karcinomem kůže ilustruje důležitou roli této metody v léčbě pokročilého onemocnění a v přínosu pro kvalitu života pacientky i přes určité riziko projevů pozdní poradiační toxicity.

Literatura

1. Šlampa P. et al. Radiační onkologie. 1. vyd. Praha: Maxdorf 2021.
2. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice. [online]. Dostupné z: <http://www.svod.cz>.
3. Stratigos AJ, Garbe C, Dessinoti C et al. European Dermatology Forum (EDF), the European Association of Der-

mato-Oncology (EADO) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). European interdisciplinary guideline on invasive squamous cell carcinoma of the skin: Part 1. Epidemiology, diagnostics and prevention. *Eur J Cancer* 2020; 128: 60–82. doi: 10.1016/j.ejca.2020.01.007.

4. Modrá kniha České onkologické společnosti, 29. aktualizace. Brno: Masarykův onkologický ústav 2023.

5. Doleželová H, Hübnerová P, Sovadinová Š et al. Radioterapie pokročilých kožních nádorů. *Klin Onkol* 2015; 28(5): 386–387.

6. Čoupková I. Efekt radioterapie u inoperabilního karcinomu kůže. *Klin Onkol* 2019; 32(1): 79.

7. Stratigos AJ, Garbe C, Dessinioti C et al. European Dermatology Forum (EDF), the European Association of Dermato-Oncology (EADO) and the European Organization

for Research and Treatment of Cancer (EORTC). European interdisciplinary guideline on invasive squamous cell carcinoma of the skin: Part 2. Treatment. *Eur J Cancer* 2020; 128: 83–102. doi: 10.1016/j.ejca.2020.01.008.

8. Pechačová Z, Končecová J, Lohynská R et al. Paliativní radioterapie v managementu symptomů pokročilého onkologického onemocnění. *Onkologie* 2020; 14(6): 271–277. doi: 10.36290/xon.2020.092

Aktuality z odborného tisku

EV-302/KEYNOTE-A39: open-label, randomized phase III study of enfortumab vedotin in combination with pembrolizumab (EV+P) vs chemotherapy (Chemo) in previously untreated locally advanced metastatic urothelial carcinoma (la/mUC)

Powles TB, Valderrama P, Gupta S et al.

Annals of Oncology 2023. [online]. Available from: [https://www.annalsofncology.org/article/S0923-7534\(23\)04270-9/fulltext](https://www.annalsofncology.org/article/S0923-7534(23)04270-9/fulltext).



Na kongresu evropské onkologické společnosti ESMO 2023 bylo prezentováno několik zajímavých nebo přímo praxi měnících výsledků klinických studií. Jedna z těchto studií se věnovala léčbě uroteliálního karcinomu (UK). Standardem léčby pro lokálně pokročilý nebo metastatický UK v rámci 1. linie je již 3 dekády chemoterapie na bázi platiny. Enfortumab vedotin (EV) je konjugát cytostatika monometylauristatin E a monoklonální protilátky proti nektinu 4. EV již dříve prokázal efektivitu u předléčených pacientů s UK a čekalo se na výsledky studie, kdy EV je podáván v 1. linii. Randomizovaná studie fáze III EV-302/KEYNOTE-A39 srovnávala léčbu EV s pembrolizumabem (EV + P) oproti chemoterapii gemcitabin s cisplatinou nebo karboplatinou u pacientů s dříve neléčeným uroteliálním karcinomem. Duálními primárními cíli byly přežití bez progresu (progression free survival – PFS) a celkové přežití (overall survival – OS). Vybrané sekundární cílové parametry zahrnovaly celkovou míru odpovědi (overall response rate – ORR) a bezpečnost. Randomizováno bylo 886 pacientů (EV + P: 442; chemoterapie: 444) a medián sledování byl 17,2 měsíce. PFS bylo významně prodlouženo s EV + P vs. chemoterapie (medián PFS 12,5 vs. 6,3 měsíce; poměr rizik (hazard ratio – HR) 0,45 (95% interval spolehlivosti (confidence interval – CI) 0,38–0,54); $p < 0,00001$). OS bylo signifikantně prodlouženo s EV + P oproti chemoterapii, čímž se snížilo riziko úmrtí o 53 % (medián OS byl 31,5 vs. 16,1 měsíce; HR 0,47 (95% CI 0,38–0,58); $p < 0,00001$). Potvrzená ORR byla 67,7 % v rameni EV + P a 44,4 % v rameni s chemoterapií ($p < 0,00001$). Nežádoucí účinky spojené s léčbou (treatment related adverse event – TRAE) stupně ≥ 3 se vyskytly u 55,9 % s EV + P a 69,5 % s chemoterapií. Nejčastější jednalo o makulopapulózní vyrážku (7,7 %), hyperglykémii (5,0 %) a neutropenii (4,8 %) u EV + P a anemii (31,4 %), neutropenii (30,0 %) a trombocytopenii (19,4 %) u chemoterapie. Nejčastější (≥ 5) TRAE stupně ≥ 3 zvláštního zájmu pro EV zahrnovaly kožní reakce (15,5 %), periferní neuropatii (6,8 %) a hyperglykémii (6,1 %). Léčba kombinací EV + P významně zlepšila výsledky u pacientů s dříve neléčeným pokročilým uroteliálním karcinomem a téměř zdvojnásobila medián PFS a OS oproti chemoterapii s platinou. Bezpečnostní profil byl obecně zvládnutelný bez nových bezpečnostních signálů. Tyto výsledky podporují EV + P jako nový standard léčby pro uroteliální karcinom. Jedná se o jeden z mnoha konjugátů cytostatika a monoklonální protilátky, které se postupně dostávají do praxe a zásadně mění léčebná schémata.

First-line selpercatinib or chemotherapy and pembrolizumab in RET fusion–positive NSCLC

Zhou C, Solomon B, Loong HH et al.

N Engl J Med 2023; 389(20):1839–1850. doi: 10.1056/NEJMoa2309457.



Další studie, která byla prezentována na kongresu ESMO 2023 a má potenciál změnit standard léčby, je studie LIBRETTO-431. Jedná se o randomizovanou studii fáze III, která hodnotila účinnost a bezpečnost selperkatinibu v 1. linii léčby nemalobuněčného karcinomu plic (non-small cell lung cancer – NSCLC) s RET fúzí ve srovnání s kontrolní léčbou, která spočívala v kombinaci chemoterapie s platinovým derivátem s pembrolizumabem nebo bez něj. Selperkatinib je vysoce selektivní potentní inhibitor RET s průnikem do mozku, který ve studiích časně fáze prokázal účinnost u pacientů s pokročilým NSCLC s přítomnou fúzí RET. Primárním cílem studie LIBRETTO-431 byla doba přežití bez progresu (progression free survival – PFS). Crossover z kontrolní skupiny do skupiny se selperkatinibem byl povolen v případě progresu onemocnění. Celkem bylo randomizováno 212 pacientů, medián času sledování v době analýzy byl 21 měsíců. V době plánované první interim analýzy účinnosti byl medián PFS v rameni se selperkatinibem 24,8 měsíce (95% interval spolehlivosti (confidence interval – CI) 16,9 – nedosaženo) vs. 11,2 měsíce (95% CI 8,8–16,8) v kontrolním rameni (hazard ratio pro progresi nebo smrt 0,46; 95% CI 0,31–0,70; $p < 0,001$). Procento pacientů s objektivní odpovědí bylo 84 % (95% CI 76–90) se selperkatinibem a 65 % (95% CI 54–75) v kontrolním rameni. Poměr rizik pro čas do progresu v centrálním nervovém systému byl 0,28 (95% CI 0,12–0,68) a 12měsíční kumulativní incidence progresu v CNS byla 6 vs. 20 %. Výsledky účinnosti v celkové „intent-to-treat“ populaci (261 pacientů) byly podobné jako u populace s plánovanou aplikací pembrolizumabu. Data pro celkové přežití zatím nejsou zralá. Z pacientů, kteří v kontrolním rameni ukončili léčbu, 60 % přestoupilo do ramene se selperkatinibem a dalších 15 % bylo léčeno jiným RET inhibitorem. Nežádoucí účinky ≥ 3 . stupně se vyskytly u 70 % pacientů se selperkatinibem a u 57 % pacientů v kontrolním rameni. Nejčastěji se u selperkatinibu jednalo o elevaci

ALT (22 %), hypertenzi (20 %), elevaci AST (13 %), prodloužení QT (9 %), edémy (3 %), únavu (3 %) a trombocytopenii (3 %). Léčbu muselo pro toxicitu ukončit 10 % pacientů se seliperkatinibem (vs. 2 % v kontrolní skupině). V rámci hodnocení kvality života bylo procento pacientů s potvrzeným zhoršením symptomů nemoci (dle dotazníku NSCLC-SAQ) nižší v rameni se seliperkatinibem (23 vs. 43 %) a také byl delší medián času do zhoršení dechových symptomů (nedosaženo vs. 1,9 měsíce). Závěrem se dá konstatovat, že seliperkatinib ve srovnání se standardní léčbou signifikantně prodloužil PFS v 1. linii léčby NSCLC s přítomnou RET fúzí. První výsledky účinnosti seliperkatinibu se objevily v roce 2018, následně prokázal efektivitu u pacientů s nádory štítné žlázy, s NSCLC a i u jiných solidních nádorů s RET fúzí. Teď bude pravděpodobně doporučenou terapií v rámci 1. linie léčby NSCLC. Výsledky účinnosti jsou srovnatelné s inhibitory receptoru epidermálního růstového faktoru (epidermal growth factor receptor – EGFR) u pacientů s NSCLC a EGFR mutací. Nevýhodou je toxicita, která u části pacientů vede i k ukončení terapie. I když je výskyt RET fúze u pacientů s NSCLC poměrně nízký (1–2 %), mělo by být vyšetření RET fúze součástí iniciální diagnostiky onemocnění.

Different prognostic values of KRAS exon 2 submutations and BRAF V600E mutation in microsatellite stable (MSS) and unstable (MSI) stage III colon cancer: an ACCENT/IDEA pooled analysis of seven trials

Taieb J, Sinicrope FA, Pederson L et al.

Annal Oncol 2023; 34(11): 1025–1034. doi: 10.1016/j.annonc.2023.08.006.



Manažment léčby kolorektálního karcinomu (KRK) se za posledních 20 let zásadně změnil. Podrobnější molekulární analýza KRK prokázala, že se jedná o heterogenní skupinu onemocnění s odlišnými klinickými a biologickými charakteristikami, senzitivitou na léčbu a různou prognózou. Tato preciznější charakteristika umožnila individualizovat léčbu především u pacientů s metastatickým onemocněním a rozšířila terapeutické možnosti. Prognostický význam mutací *KRAS* a *BRAF V600E* u KRK stadia 3 zůstává kontroverzní a nikdy nebyl jasně analyzován, zvláště u pacientů s nádory s vysokou mikrosatelitní nestabilitou (microsatellite instability-high – MSI-H), příp. s ohledem na různé podtypy mutací *KRAS*. Autoři studie analyzovali výše uvedené faktory pomocí databází ACCENT a IDEA. Jedná se o dvě mezinárodní konzorcía, která se zaměřují na společné analýzy klinických studií prováděných u pacientů s KRK léčených adjuvantní léčbou. Cílem této analýzy bylo zhodnotit prognózu s ohledem na výskyt mutace exonu 2 *KRAS* a *BRAF V600E* u pacientů s mikrosatelitně stabilním (MSS) a MSI-H KRK stadia III. Byla hodnocena asociace mezi mutacemi exonu 2 *KRAS* (a podtypů) a *BRAF V600E* a dobou do recidivy (time to recurrence – TTR), celkovým přežitím (overall survival – OS) a přežitím po recidivě (survival after recurrence – SAR) pomocí Coxova modelu. Celkem bylo analyzováno 8 460 pacientů, z toho 11,4 % bylo MSI-H. Ve skupině MSI-H byly *BRAF V600E*, *KRAS* exon 2 a double-wild-type (DWT) detekovány u 40,6, 18,1 a 41,3 % pacientů, zatímco ve skupině MSS byly tyto mutace detekovány v 7,7 a 38,6 %, DWT bylo 53,8 % pacientů. Ve skupině MSS byla pozorována 5letá TTR 61,8, 66,3 a 72,9 % u pacientů s *BRAF V600E*, mutacemi exonu 2 *KRAS* a u pacientů s DWT (upravený poměr rizik (hazard ratio – HR) 1,58 a 1,31; oba $p < 0,001$). Ve skupině MSI-H se 5letá TTR mezi podskupinami významně nelišila (75,4, 75,8 a 76,1 %). Podobné výsledky byly nalezeny v souvislosti OS. SAR bylo signifikantně kratší u pacientů s mutovaným *KRAS* exonem 2 a *BRAF V600E* u MSS skupiny (upravený HR 2,06 a 1,15; obě $p < 0,05$) i MSI-H (upravený HR 1,99 a 1,81; obě $p < 0,05$). Ve skupině MSS byly mutace exonu 2 *KRAS* spojeny s TTR, ale pouze podtypy p.G12C, p.G12D a p.G13D byly spojeny se horším přežitím po recidivě onemocnění. Tato studie potvrdila o něco lepší prognózu pacientů s MSI-H KRK stadia III oproti MSS. V MSI-H skupině se TTR zásadně nelišil s ohledem na mutaci *KRAS* exon 2 a *BRAF*. Naopak, ve skupině s MSS nádory byly mutace *KRAS* a *BRAF* spojené s horší prognózou. Tyto mutace souvisí i s horším přežitím po recidivě, a to bez ohledu na MSI status. Je proto potřeba zvážit přínos testování mutací *KRAS* a *BRAF V600E* i u pacientů v klinickém stadiu III, co by umožňovalo lépe definovat prognózu jednotlivých podskupin pacientů. Zcela jistě bude nutné zahrnout tyto charakteristiky jako stratifikační faktory do neo/adjuvantních studií a zaměřit se specificky na tyto podskupiny pacientů se špatnou prognózou a hledat nové terapeutické možnosti.

Pyrotinib vs. placebo in combination with trastuzumab and docetaxel as first line treatment in patients with HER2 positive metastatic breast cancer (PHILA): randomised, double blind, multicentre, phase 3 trial

Ma F, Yan M, Li W et al.

BMJ 2023; 383: e076065: doi: 10.1136/bmj-2023-076065.



Trastuzumab zásadně změnil prognózu pacientek s HER2 pozitivním karcinomem prsu. Dnes se používá v léčbě nejen metastatického onemocnění ale i v neo/adjuvantní terapii a spektrum další anti-HER2 terapie se významně rozšířilo ve smyslu dalších monoklonálních protilátek (kombinace s pertuzumabem, margetixumab), konjugátů (T-DM1, trastuzumab deruxtecan) nebo tyrozinkinázových inhibitorů (lapatinib, neratinib, tucatinib). Pyrotinib je perorální ireverzibilní pan-HER inhibitor, který cílí na receptor epidermálního růstového faktoru (epidermal growth factor receptor – EGFR), humánní epidermální receptor 2 (HER2)

a HER4 a je schválen pouze v Číně do 2. linie léčby HER2 pozitivních patientek. Zde prezentovaná randomizovaná studie fáze III PHILA hodnotila účinnost a bezpečnost pyrotinibu v kombinaci s trastuzumabem a docetaxelem ve srovnání s placebem, trastuzumabem a docetaxelem u neléčených patientek s HER2 pozitivním metastatickým karcinomem prsu. Studie byla provedena ve 40 centrech v Číně v letech 2019–2022 (byla zahájena v době, kdy pertuzumab v Číně nebyl ještě schválený). Primárním cílem bylo přežití bez progresu (progression free survival – PFS) hodnocené dle investigátorů. Sekundárním cílem bylo PFS dle nezávislého hodnocení (independent review committee – IRC), celkové přežití (overall survival – OS), celková míra odpovědi (overall response rate – ORR), doba trvání odpovědi (duration of response – DOR) a bezpečnost. Zařazeno bylo celkem 590 patientek, randomizace 1 : 1, medián věku 52 let, medián sledování byl 15,5 měsíce. Medián PFS dle investigátorů byl významně delší ve skupině s pyrotinibem než ve skupině placebo (24,3 měsíce (95% interval spolehlivosti (confidence interval – CI) 19,1–33,0) vs. 10,4 (9,3–12,3) měsíce; poměr rizik (hazard ratio – HR) 0,41 (95% CI 0,32–0,53); jednostranný $p < 0,001$). PFS ve 24 měsících ve skupině s pyrotinibem bylo 50,3 % a s placebem 16,6 %. ORR byla 83 vs. 71 % ($p < 0,001$). PFS hodnocené dle IRC bylo 33,0 měsíce s pyrotinibem (19,4 – nedosaženo) vs. 10,4 (10,2–12,2) měsíce; HR 0,35 (0,27–0,46); $p < 0,001$. Nežádoucí účinky související s léčbou stupně ≥ 3 byly zjištěny u 267 (90 %) z 297 patientek ve skupině pyrotinibem a 224 (76 %) z 293 patientek ve skupině s placebem. Ve skupině s pyrotinibem byly nejčastější toxicitou ≥ 3 . stupně: průjem 46,5 % (placebo 3 %), neutropenie 63 % (placebo 65 %), anémie 9 % (placebo 2 %), zvracení 8 % (placebo 1 %), hypokalemie 14 % (placebo 1 %), elevace AST 3 % (placebo < 1 %), elevace ALT 4 % (placebo 2 %). Autoři konstatují, že kombinace pyrotinib, trastuzumab a docetaxel prokázala superioritu ve srovnání s placebem, trastuzumabem a docetaxelem ve smyslu výrazného prodloužení PFS a tato zjištění podporují duální anti-HER2 kombinaci jako alternativní volbu 1. linie léčby. Data pro OS nejsou zatím dostatečně zralá. Toxicita terapie byla dobře zvládnutelná. Samozřejmě, nabízí se srovnání s aktuálním standardem léčby v ČR, a to s kombinací pertuzumab, trastuzumab a chemoterapie. Čistě numericky je na tom lépe pyrotinib (medián PFS 24,3 vs. 18,7 měsíce; HR 0,41 vs. 0,68) ale pertuzumab má jednoznačná data prodloužení OS (u pyrotinibu je potřeba delší čas sledování) a nelze jednoduše srovnávat výsledky dvou různých studií (s jinou populací patientek). Ve studii s pyrotinibem byl u velké části patientek přítomný průjem G3 (46,5 %), nicméně G4 a G5 toxicita se nevyskytla, medián délky trvání G3 průjmu byl 1 den a žádný pacient nemusel kvůli průjmu léčbu přerušit. Autoři dále uvádí, že pyrotinib byl účinný u patientek, které byly léčené trastuzumabem v neo/adjuvancii (HR 0,23) i které nebyly (HR 0,45). Je škoda, že autoři neuvádí efektivitu pyrotinibu i s ohledem na postižení CNS (např. prodloužení času do relapsu v CNS), což bývá zásadní událost u patientek s HER2 pozitivním karcinomem prsu a CNS je místo, kde pyrotinib již prokázal svoji efektivitu.

*Články vybral a komentoval MUDr. Peter Grell, Ph.D.
Klinika komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ Brno*

Ohlédnutí za 13. kongresem PSOGI – je něco nového v léčbě peritoneálních malignit?

Němec L.

Klinika operační onkologie LF MU a MOÚ Brno

Motto: „Ušli jsme dlouhou cestu, dlouhá cesta je před námi.“

Nádorová infiltrace pobříšnice byla po dlouhá léta považována za inkurabilní stav. Tento pohled se začal měnit až koncem minulého století, tak jak se množily důkazy o efektivitě léčebných metod, které do klinické praxe zavedl v roce 1980 americký chirurg Paul Hendrick Sugarbaker [1]. Jednalo se o cytoredukci, tj. operační odstranění všech makroskopicky viditelných tumorózních depozit z dutiny břišní (cytoreductive surgery – CRS), a hypertermickou intraperitoneální chemoterapii (hyperthermic intraperitoneal chemotherapy – HIPEC). Světovou autoritou v managementu péče o pacienty s nádorovým postižením peritonea se následně stala skupina Peritoneal Surface Oncology Group (PSOGI), která vznikla s cílem podporovat v této oblasti výzkum, vzdělávání a inovativní léčebné postupy.

Ve dnech 4–6. října 2023 se v Palazzo del Cinema v Benátkách konal již 13. mezinárodní kongres PSOGI věnovaný malignitám peritoneálního povrchu. Prezidentem letošního kongresu, kterému předsedali Marcello Deraco z Milána a Paolo Sammartino z Říma, byl již zmíněný Paul H. Sugarbaker z Washingtonu – živoucí chirurgická legenda, ve svých 81 letech stále vitální, živě diskutující a laskavě komentující. Organizačně skvěle zajištěné multioborové setkání hostilo bezmála 900 onkochirurgů, onkogynekologů, klinických a radiálních onkologů, patologů a radiologů z celého světa, kteří si během třech dní mohli vyslechnout 74 přednášek a měli možnost prohlédnout si 416 posterů. Součástí kongresu byl i společenský večer

v reprezentačních prostorách blízkého Palazzo del Casino, během něhož byly účastníkům programu „European Peritoneal Surface Training Program“, pořádaném v kooperaci PSOGI a ESSO (The European Society of Surgical Oncology), slavnostně předány absolventské certifikáty.

Oproti pařížskému kongresu PSOGI 2018 jsme sice letos v Benátkách nebyli svědky podobného zemětřesení, jaké vyvolala studie van Drielové OVHIPEC-1 věnující se HIPEC u pokročilého ovariálního karcinomu [2] a Quénetova studie PRODIGE-7 hodnotící CRS a HIPEC u peritoneálních metastáz kolorektálního karcinomu [3], i bez toho však byly tři kongresové dny naplněny zajímavými a užitečnými informacemi. Kongres byl zahájen aktuálními procesními doporučeními: technika HIPEC uzavřeným způsobem (closed HIPEC), navýšení počtu vstupních perfuzních drénů ze dvou na čtyři, konstrukce anastomóz gastrointestinálního traktu před procedurou HIPEC, rozsah hypertermie v intervalu 41–43 °C, a dále informacemi o vhodných protokolech intraperitoneální chemoterapie (tab. 1) [4]. Poté následovaly přednášky vztahující se k jednotlivým diagnózám, u nichž se CRS/HIPEC terapeuticky využívá (pseudomyxom peritonea, maligní mezoteliom peritonea, peritoneální metastázy kolorektálního karcinomu, peritoneální metastázy karcinomu žaludku a peritoneální metastázy ovariálního karcinomu). Diskutovaly se možnosti a limity miniinvasivní operativy nádorů peritonea.

U pseudomyxomu peritonea PSOGI kompletní cytoredukci v kombinaci

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

The authors declare that 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. Libor Němec

Klinika operační onkologie
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: lnemec@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 8. 11. 2023

s HIPEC pokládá za standardní léčebnou metodu, při HIPEC se doporučuje intraperitoneálně aplikovat mitomycin C v dávce 35 mg/m² po dobu 90 minut. Smysl mají i opakované „re-do“ operace u recidivujícího pseudomyxomu. Přínos neoadjuvantní systémové chemoterapie prokázán nebyl [5], adjuvantní podání systémové chemoterapie je indikováno pouze u high grade pseudomyxomu resp. u high grade pseudomyxomu s přítomností buněk pečetního prstenu, chemoterapeutické režimy se neliší od režimů používaných u pokročilého kolorektálního karcinomu. U neresekabilního pseudomyxomu peritonea má paliativní systémová chemoterapie jen minimální efekt [6].

Tab. 1. Chemoterapeutika pro intraperitoneální aplikaci při hypertermické intraperitoneální chemoterapii (HIPEC) – doporučení Peritoneal Surface Oncology Group (PSOGI).

Diagnóza	HIPEC – chemoterapeutikum a dávka
pseudomyxom peritonea	mitomycin C 35 mg/m ²
maligní mezoteliom peritonea	cisplatina 50 mg/m ² + doxorubicin 15 mg/m ²
peritoneální metastázy kolorektálního karcinomu	mitomycin C 35 mg/m ²
peritoneální metastázy karcinomu žaludku	cisplatina 75 mg/m ² + mitomycin C 15 mg/m ²
peritoneální metastázy karcinomu ovaria	cisplatina 100 mg/m ²

Maligní difuzní mezoteliom peritonea je primárním nádorem pobřišnice, u nějž PSOGI také doporučuje CRS/HIPEC jako terapeutický standard, medián přežití se u operabilních stavů pohybuje mezi 3–5 lety [7]. Procedura HIPEC je indikována jen při možném uskutečnění kompletní cytoredukce, u primárního operačního výkonu se intraperitoneálně aplikuje cisplatina v dávce 50 mg/m² společně s doxorubicinem v dávce 15 mg/m², u sekundární operace při recidivě se při nezměněné dávce doxorubicinu zvyšuje doporučená dávka cisplatinu na 100 mg/m² [8]. Adjuvantní systémová chemoterapie (cisplatina + pemetrexed) je indikována, jde-li o non-epiteliální subtyp, při proliferační aktivitě Ki67 > 9 % [9], při technické neproveditelnosti kompletní cytoredukce, a u indexu peritoneální karcinomatózy (peritoneal cancer index – PCI) > 17. Téměř u poloviny diagnostikovaných nemocných je onemocnění diagnostikováno v inoperabilním stadiu, tehdy je namísto podání paliativní systémové chemoterapie, s níž se medián přežití uvádí v rozmezí 6–15 měsíců [7].

U peritoneálních metastáz kolorektálního karcinomu považuje PSOGI cytoredukci a HIPEC za standardní terapeutický výkon jen u malého a středního metastatického postižení peritonea (PCI max. 15) [10]. Asi u 25 % pacientů s peritoneálními metastázami kolorektálního karcinomu je možno tímto léčebným postupem dosáhnout mediánu přežití 42 měsíců, přitom u izolované paliativní systémové chemoterapie je to významně méně, pouze 16 měsíců. Vedle řady retrospektivních studií to vyplývá i z francouzské prospektivní randomizované studie PRODIGE-7 [3]. Pro intra-

peritoneální aplikaci PSOGI doporučuje „holandský protokol“, kdy se po dobu 90 minut intraperitoneálně aplikuje mitomycin C v dávce 35 mg/m², i když se v posledních letech diskutuje o možném navýšení této dávky na 40 mg/m². Intraperitoneální aplikace oxaliplatinu byla opuštěna, studie PRODIGE-7 její efektivitu neprokázala. U lokalizovaných recidiv, které se objeví déle než 1 rok po iniciální cytoredukci, přichází v úvahu i opakovaný výkon CRS/HIPEC („re-do operation“), neboť i tento přístup s sebou přináší prodloužení přežití oproti paliativní léčbě. Příslibem budoucích léčebných možností může být intrabdominální aplikace radiofarmak [11] či cílená intraperitoneální chemoterapie na podkladě testování senzitivity po in vitro kultivaci organoidů z biotických vzorků peritoneálních metastáz [12].

Přínos CRS/HIPEC u peritoneálních metastáz karcinomu žaludku není jednoznačný, v současnosti se nejedná o standardní léčbu. Čeká se na výsledky probíhajících randomizovaných studií, které by do této problematiky vnesly více světla – zejména jde o francouzskou studii GASTRICHIP [13], nizozemskou studii PERISCOPE II [14] a německou studii RENAISSANCE [15]. Prozatím z publikovaných zkušeností vyplývá, že cytoredukce s HIPEC může přinést pozitivní terapeutický efekt, jedná-li se o resekabilní karcinom žaludku se synchronními peritoneálními metastázami malého rozsahu (PCI ≤ 6), s příznivým histopatologickým nálezem (nepřítomnost prstenčitých buněk – signet ring cells) a při dobré terapeutické odpovědi na 1. linii systémové chemoterapie. Jako chemoterapeutikum pro intraperitoneální podání PSOGI u peritoneálních metastáz

žaludečního karcinomu doporučuje cisplatinu v dávce 75 mg/m² spolu s mitomycinem v dávce 15 mg/m², přičemž HIPEC je vhodné aplikovat v indikaci profylaktické a terapeutické spíše než v neoadjuvantní a paliativní. V této souvislosti se sluší připomenout, že v paliativní léčbě karcinomatózy peritonea žaludečního origa se již déle než 10 let používá metoda přetlakové nitrobřišní aerosolové chemoterapie (pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy – PIPAC) [16], po níž byla popsána i kompletní regrese peritoneálních metastáz umožňující následné provedení radikálního resekcijního výkonu na žaludku [17]. PIPAC je možno použít i u dalších inoperabilních nádorů pobřišnice, především k potlačení symptomatologie maligního ascitu.

U peritoneálních metastáz karcinomu ovaria je situace složitější, už kvůli jejich senzitivě (resp. větší části z nich) k systémové chemoterapii, kvůli čemuž se může intraperitoneální chemoterapie jevit jako nadbytečná. Zatímco cytoredukce se u stadia III ovariálního karcinomu všeobecně pokládá za standardní terapeutický výkon, v indikaci HIPEC ke shodě nedochází. Mezioborová nejednotnost pak panuje i v klasifikaci rozsahu peritoneálního postižení a v názvosloví hodnocení kompletnosti provedené cytoredukce [18]. Až do současnosti bohužel nebyla projektována klinická studie, která by u pokročilého karcinomu ovaria hodnotila účinnost HIPEC na dostatečně velkém souboru pacientek stratifikovaných do více ramen podle histopatologických nádorových subtypů a odlišností v genových mutacích, a zároveň která by reflektovala nejmodernější režimy systémové léčby. Absence takového designu

je také hlavní metodologickou kritikou nizozemské studie OVHIPEC-1 [2], která jinak velmi přesvědčivě vyzdvihla vliv HIPEC při tzv. interval debulking surgery (IDS) na významné prodloužení parametrů účinnosti léčby – přežití bez progresu (progression free survival – PFS) i celkové přežití (overall survival – OS). Studie OVHIPEC-1, publikovaná ve stejném roce (a ve stejném periodiku) jako studie SOLO-1 hodnotící v léčbě pokročilého karcinomu ovaria efekt inhibitoru poly(ADP-ribóza)polymerázy (PARP) olaparibu [19], byla v letošním roce podrobena externímu hodnocení validity porovnávacímu kontrolní rameno studie s populací léčenou obdobným způsobem mimo studii, a podle tohoto hodnocení je pravděpodobně možné výsledky studie OVHIPEC-1 zobecnit i přes vytýkané nedostatky [20]. Za zmínku stojí i další probíhající klinické studie: aplikaci HIPEC po „upfront“ cytoredukcii u stadia III ovarialního karcinomu se věnuje mezinárodní multicentrická studie OVHIPEC-2 (NCT03772028), která by měla být zkompletována v roce 2026, efektem HIPEC u relapsu karcinomu ovaria se zabývá francouzsko-belgická studie CHIPOR (NCT01376752), jejíž ukončení je naplánováno na rok 2025. Předběžné výsledky studie CHIPOR byly zveřejněny letos během „ASCO Annual meeting“, v rameni s HIPEC bylo popsáno signifikantní prodloužení PFS i OS [21]. Informace o pozitivním účinku HIPEC na prodloužení přežití u pokročilého ovarialního karcinomu jsou tedy povzbudivé, i když nezpochybnitelné důkazy podpořené výsledky validních klinických studií dosud dostupné nejsou, stejně jako není možná jednoznačná predikce účinnosti intraperitoneálně podané chemoterapie pomocí vhodných biomarkerů. Na základě doposud publikovaných dat se ukazuje, že největší profit z HIPEC mají pacientky s high grade serózním karcinomem ovaria, BRCA 1/2 negativní, se současným defektem homologní rekombinace (HRD), s $PCI \leq 17$, které podstoupí radikální cy-

toredukcii po předchozí neoadjuvantní systémové chemoterapii, tedy v rámci konceptu IDS. Zároveň prozatím nelze vyvodit, že by u této výběrové podskupiny nemocných samotná léčba PARP inhibitory vyvážila benefit HIPEC (a naopak) – HIPEC a PARP inhibitory působí zřejmě synergicky. Pokud se u vybraných nemocných s pokročilým ovarialním karcinomem přistoupí k HIPEC, doporučuje PSOGI protokol vycházející ze studie OVHIPEC-1, tedy intraperitoneální aplikaci cisplatinu v dávce 100 mg/m² po dobu 90 minut za současné perioperační nefroprotektce thiosíranem sodným.

V souladu s obsahem motta letošního kongresu PSOGI můžeme závěrem prohlásit, že v léčbě peritoneálních malignit jsme urazili dlouhou cestu, neméně dlouhá cesta však zůstává před námi. Nádory pobřišnice, primární i sekundární, jakkoli vzácné, tvoří integrální součást onkologické klinické praxe, a implementace nejnovějších terapeutických modalit do jejich komplexní protinádorové péče může pacientům s tímto závažným neoplastickým stavem nabídnout nejen zlepšení kvality života, ale mnohdy i jeho zásadní prodloužení.

Literatura

1. Bartoška P, Antoš F, Němec L et al. Maligní nádory peritonea – úvod do problematiky. *Klin Onkol* 2019; 32(5): 324–328. doi: 10.14735/amko2019324.
2. van Driel W, Koole SN, Sikorska K et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in ovarian cancer. *N Engl J Med* 2018; 378(3): 230–240. doi: 10.1056/NEJMoa1708618.
3. Quénet F, Elias D, Roca L et al. Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus cytoreductive surgery alone for colorectal peritoneal metastases (PRODIGE 7): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2021; 22(2): 256–266. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30599-4.
4. Kusamura S, Bhatt A, Hubner M et al. The 2022 PSOGI international consensus on HIPEC regimens for peritoneal malignancies: methodology. *Ann Surg Oncol* 2023; 30(4): 2508–2519. doi: 10.1245/s10434-022-12990-3.
5. Ma R, Lu D, Xue S et al. Preoperative systemic chemotherapy does not benefit for appendiceal pseudomyxoma peritonei. *ANZ J Surg* 2023; 93(1–2): 219–226. doi: 10.1111/ans.18041.
6. Sommariva A, Tonello M, Rigotto G et al. Novel perspectives in pseudomyxoma peritonei treatment. *Cancers (Basel)* 2021; 13(23): 5965. doi: 10.3390/cancers13235965.
7. Klos D. Nádory peritoneálního povrchu. Praha: Grada 2023.

8. Kepenekian V, Sgarbura O, Marchal F et al. 2022 PSOGI consensus on HIPEC regimens for peritoneal malignancies: diffuse malignant peritoneal mesothelioma. *Ann Surg Oncol* 2023; 30(12): 7803–7813. doi: 10.1245/s10434-023-13973-8.
9. Kusamura S, Torres Mesa PA, Cabras A et al. The role of Ki-67 and pre-cytoreduction parameters in selecting diffuse malignant peritoneal mesothelioma (DMPM) patients for cytoreductive surgery (CRS) and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy (HIPEC). *Ann Surg Oncol* 2016; 23(5): 1468–1473. doi: 10.1245/s10434-015-4962-9.
10. Němec L, Tomášek J, Šefr R. Léčba a profylaxe peritoneálních metastáz kolorektálního karcinomu. *Klin Onkol* 2019; 32(5): 338–344. doi: 10.14735/amko2019338.
11. Larsen SG, Graf W, Mariathasan AB et al. First experience with 224Radium-labeled microparticles (Rad-spherin[®]) after CRS-HIPEC for peritoneal metastasis in colorectal cancer (a phase 1 study). *Front Med* 2023; 10: 1070362. doi: 10.3389/fmed.2023.1070362.
12. Ubink I, Bolhaqueiro ACF, Elias SG et al. Organoids from colorectal peritoneal metastases as a platform for improving hyperthermic intraperitoneal chemotherapy. *Br J Surg* 2019; 106(10): 1404–1414. doi: 10.1002/bjs.11206.
13. Glehen O, Passot G, Villeneuve L et al. GASTRICHIP: D2 resection and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in locally advanced gastric carcinoma: a randomized and multicenter phase III study. *BMC Cancer* 2014; 14: 183. doi: 10.1186/1471-2407-14-183.
14. Koemans WJ, van der Kaaij RT, Boot H et al. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy versus palliative systemic chemotherapy in stomach cancer patients with peritoneal dissemination, the study protocol of a multicentre randomised controlled trial (PERISCOPE II). *BMC Cancer* 2019; 19(1): 420. doi: 10.1186/s12885-019-5640-2.
15. Al-Batran SE, Goetze TO, Mueller DW et al. The RENAISSANCE (AIO-FLOT5) trial: effect of chemotherapy alone vs. chemotherapy followed by surgical resection on survival and quality of life in patients with limited-metastatic adenocarcinoma of the stomach or esophagogastric junction – a phase III trial of the German AIO/CAO-V/CAOGL. *BMC Cancer* 2017; 17(1): 893. doi: 10.1186/s12885-017-3918-9.
16. Di Giorgio A, Macrì A, Ferracci F et al. 10 years of pressurized intraperitoneal aerosol chemotherapy (PIPAC): a systematic review and meta-analysis. *Cancers (Basel)* 2023; 15(4): 1125. doi: 10.3390/cancers15041125.
17. Hoskovec D, Krška Z, Vočka M et al. PIPAC – přehled metody a první použití v České republice. *Rozhl Chir* 2020; 99: 529–533. doi: 10.33699/PIS.2020.99.12.529–533.
18. Brennan DJ, Moran BJ. Time to evolve terminology from „debulking“ to cytoreductive surgery (CRS) in ovarian cancer. *Ann Surg Oncol* 2021; 28(11): 5805–5807. doi: 10.1245/s10434-021-10490-4.
19. Moore K, Colombo N, Scambia G et al. Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. *N Engl J Med* 2018; 379(26): 2495–2505. doi: 10.1056/NEJMoa1810858.
20. van Stein RM, Sikorska K, van der Aa MA et al. Evaluation of external validity of the OVHIPEC-1 trial in a real-world population. *Int J Gynaecol Obstet* 2023; 161(2): 640–648. doi: 10.1002/ijgo.14618.
21. Classe JM, Meeus P, Leblanc E et al. Hyperthermic intraperitoneal chemotherapy in platinum-sensitive relapsed epithelial ovarian cancer: the CHIPOR randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2023; 41 (Suppl 16): 5510. doi: 10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.5510.

**MOJE LÉČBA VOLBY
U PACIENTŮ S mCRC* RAS WT:**
ERBITUX®**

ERBITUX® – ANTI-EGFR LÉČBA:

- ✓ podložená daty a rozsáhlou klinickou zkušeností¹⁻⁵
- ✓ s prokázanou dlouhodobou účinností⁶⁻⁷
- ✓ cílená léčba zvyšující naději na přežití⁸

* mCRC = metastatický kolorektální karcinom RAS WT.**

** RAS WT = gen kódující proteinovou RAS kinázu/GTP-ázu divokého typu.

Reference: 1. Van Cutsem E, et al. J Clin Oncol 2015;33:692–700. 2. Qin S, et al. J Clin Oncol 2018;36:3031–3039. 3. Stintzing S, et al. ASCO 2018 (Abstract No. 3508 –poster). 4. Venook A, et al. JAMA 2017;317:2392–2401. 5. Venook AP, et al. Oral presentation at ESMO 2016. 6. Yoshino T, et al. Ann Oncol 2018;29:44–70. 7. Holch JW, et al. Eur J Cancer 2017;70:87–98. 8. Heinemann V, et al. Br J Cancer. 2021;124:587–594. 9. Anti-EGFR léčba, např. ERBITUX® je doporučována českými guidelines pro léčbu metastatického kolorektálního karcinomu RAS WT**, Modrá kniha České onkologické společnosti (29. aktualizace, vydáno 1. 3. 2023).

ERBITUX® 5 mg/ml infuzní roztok - Zkrácená informace o přípravku

Léčivá látka: cetuximabum. **Indikace:** K léčbě pacientů s metastazujícím kolorektálním karcinomem (mCRC) exprimujícím receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR) a vykazujícím geny RAS divokého typu. Používá se v kombinaci s chemoterapií na základě irinotekanu, v první linii léčby v kombinaci s FOLFOX, a/nebo jako samostatná látka k léčbě pacientů, u kterých selhala léčba na základě oxaliplatinu a irinotekanu a u pacientů, kteří nesnáší irinotekan. V kombinaci s radiační terapií k léčbě pacientů s lokálně pokročilým spinocelulárním karcinomem hlavy a krku a/nebo v kombinaci s chemoterapií na bázi platiny k léčbě relabujícího a/nebo metastazujícího onemocnění. **Dávkování a způsob podání:** ERBITUX® je podáván 1x týdně. Úvodní dávka je 400 mg/m², následující týdenní dávky jsou každá 250 mg/m². Pacienti musí být premedikováni antihistaminiky a kortikosteroidy nejméně 1 hodinu před podáním cetuximabu. **Kontraindikace:** U pacientů se známou těžkou hypersenzitivní reakcí na cetuximab. Kombinace s chemoterapií zahrnující oxaliplatinu je u metastazujícího kolorektálního karcinomu kontraindikována u pacientů s mutovanými geny RAS nebo u pacientů, u nichž není mutační stav genů RAS znám. Nutno vzít v úvahu i kontraindikace pro současně užívané chemoterapeutické látky nebo radiační terapii. **Zvláštní upozornění:** Často se mohou objevit těžké reakce spojené s infuzí, včetně anafylaktických reakcí, které mohou ve vzácných případech vést až k úmrtí. Výskyt těžké reakce spojené s infuzí vyžaduje okamžité a trvalé přerušování léčby cetuximabem a může být nutná pohotovostní léčba. Příznaky se mohou objevit v průběhu první infuze a až několik hodin poté. Mezi příznaky patří bronchospasmus, kopřivka, zvýšení nebo snížení krevního tlaku, ztráta vědomí nebo šok. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté (≥ 1/10): hypomagnesemie, zvýšení hladin jaterních enzymů, reakce spojené s infuzí. V kombinaci s lokální radiační terapií se objevily nežádoucí účinky jako mukozitida, radiační dermatitida a dysfagie nebo leukopenie, převážně ve formě lymfocytopenie. Mezi kožní reakce patří akneiformní vyrážka, poruchy nehtů (paronychium). **Interakce:** V kombinaci s infuzemi fluoropyrimidinů se zvyšuje četnost výskytu srdeční ischemie, včetně infarktu myokardu a městnavého srdečního selhání, stejně jako četnost výskytu syndromu ruka - noha. **Těhotenství a kojení:** Podání v průběhu těhotenství pouze v případech, že potenciální přínos léčby pro matku převáží možné riziko pro plod. Je doporučeno, aby ženy 2 měsíce po poslední dávce nekojily. **Léková forma a balení:** Infuzní roztok. Balení obsahuje jednu 20 ml nebo 100 ml lahvičku s obsahem 5 mg/ml cetuximabu. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 – 8 °C). **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck Europe B.V., Amsterdam, Nizozemsko. **Registrační číslo:** EU/1/04/281/003, EU/1/04/281/005. **Datum poslední revize textu:** 05/2022. Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis a je hrazen z prostředků zdravotního pojištění. Před předepsáním se seznáme s úplnou informací o přípravku.

Úplnou informaci o přípravku obdržíte na adrese: Merck spol. s r.o., Na Hřebenech II 1718/10, 140 00 Praha 4, Tel.: +420 272 084 211, Fax: +420 272 084 307.

CZ-ERBMCRC-00239

Merck spol. s r.o. | Na Hřebenech II 1718/10, 140 00 Praha 4
tel.: +420 272 084 211 | fax: +420 272 084 307 | www.merck.cz | www.merck.cz

MERCK

**KLINICKY
OVĚŘENÝ
STAN
DARD
V LÉČBĚ
mCRC*⁹**



Inovativní možnosti snížení rizika vzniku karcinomu plic a jeho časné detekce

V Olomouci se 20.–22. listopadu uskutečnil v pořadí již 18. Czech Annual Cancer Research Meeting (z minulosti známý jako Dny diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie), pořádaný letos podruhé i jako konference Národního ústavu pro výzkum rakoviny.

Navštívili jsme úvodní blok sdělení věnovaných časné detekci a prevenci plicních karcinomů. Jak připomněl prezident konference doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., který této sekci spolu s doc. MUDr. Jiřím Votrubou, Ph.D., předsedal, karcinom plic je jedním z onkologických onemocnění s nejvyšší prevalencí a mortalitou v ČR. Pouze 18 % pacientů přežívá 5 a více let poté, co jim byl karcinom plic diagnostikován. Míra 5letého přežití se ovšem zvyšuje v závislosti na včasném zachytu na 77–92 % (stadium I), 52–60 % (stadium II), resp. 36 % (stadium IIIA), jak uvedl ve svém sdělení již jmenovaný doc. Votruba.

Přehlízet koncept „harm reduction“ znamená obětovat až 64 milionů kuřáků

Britský onkolog Dr. Peter Harper, konzultant londýnské Guy's and St Thomas Hospital a zakladatel center klinické excellence Leaders in Oncology Care ve Spojeném království, úvodem svého sdělení shrnul stávající poznatky o rizikových faktorech vzniku karcinomu plic. Nejvýznamnější je kouření tabáku, které má na svědomí 9 z 10 případů u mužů a přibližně 8 z 10 případů u žen. Významným rizikem je i pasivní kouření, tedy expozice osob karcinogenům z tabákového kouře v kuřákově okolí.

Svoji roli hraje i rodinná anamnéza – Dr. Harper uvedl, že výskyt karcinom plic u příbuzných prvního stupně zvyšuje pravděpodobnost onemocnění až na dvojnásobek. Rizikové mohou být i některé doplňky stravy – u kuřáků, kteří kouří jednu krabičku cigaret denně, a více zvyšuje riziko karcinomu plic např. užívání přípravků s obsahem beta karotenu.

A konečně mezi rizikové faktory karcinomu plic patří i vystavení plynnému

radonu v budovách (jedna z hlavních příčin vzniku karcinomu plic), azbestu a jiným polutantům (zejména v zaměstnání – riziko se násobí, pokud dotyčná osoba zároveň kouří) či ionizujícím záření.

Závažnost expozice karcinogenu je závislá na dávce a době trvání.

Nepochybně neúčinnější a z farmakoekonomického hlediska neefektivnější intervencí je pro kuřáka zanechání kouření, tedy eliminace karcinogenů, kterým by byl vystaven. Rámcová úmluva Světové zdravotnické organizace o kontrole tabáku, která vstoupila v platnost 27. února 2005 a k dnešnímu dni ji podepsalo 181 smluvních stran, má za cíl ovlivnit chování související s kouřením – konkrétní zásady se ovšem v jednotlivých zemích liší a úplná celosvětová eliminace užívání tabáku, resp. nikotinu, je stejnou fikcí, jakou byla prohibice alkoholu v USA ve 20.–30. letech minulého století.

Není-li reálné užívání tabáku, resp. nikotinu, ze společnosti zcela vymýtit, nabízí se podle Dr. Harpera alespoň možnost snížit míru expozice karcinogenům. Koncept „harm reduction“, tedy snižování rizika, není v oblasti ochrany veřejného zdraví ničím novým – přišla s ním již v 80. letech vláda Margaret Thatcherové ve Velké Británii, a to v souvislosti s uživateli injekčních drog. Neřešila přitom otázku abstinence ani vyšší kriminalizace či naopak legitimizace drog, ale soustředila se na minimalizaci následků rizikového chování, tedy především na zabránění přenosu virových hepatitid B a C či HIV/AIDS, a to zpřístupněním programu výměny použitých injekčních jehel za nové, sterilní.

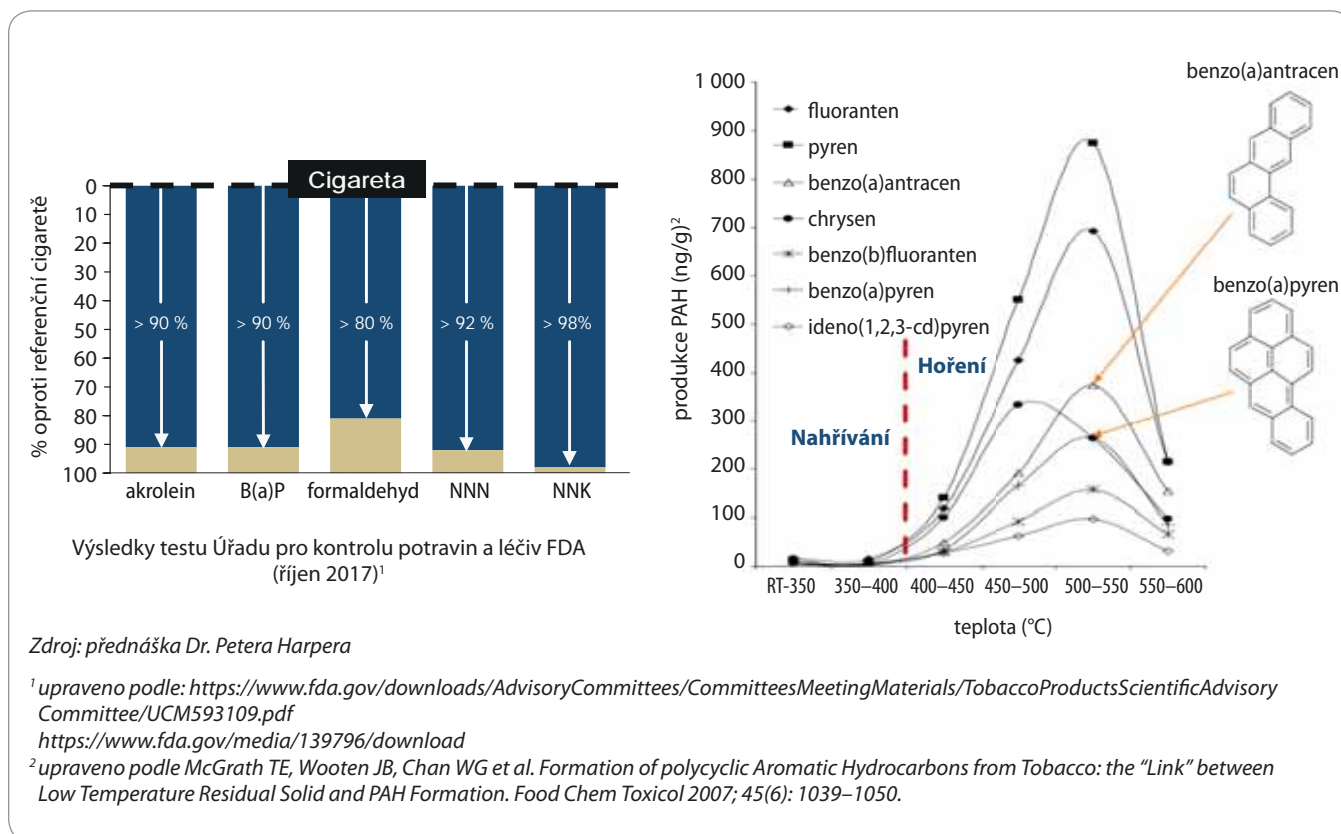
Ve vztahu k užívání tabáku koncept „harm reduction“ znamená vývoj inovativních bezdýmných technologií pro užívání nikotinu založený na duka-

zech o snížení míry expozice škodlivým a potenciálně škodlivým látkám a následně dostupnost těchto technologií pro dospělé kuřáky, kteří z nějakého důvodu nedokážou, nemohou nebo nechtějí kouření zanechat. Jak uvedl Dr. Harper, závislost na nikotinu je natolik silná, že dokonce 64 % kuřáků s diagnostikovaným onkologickým onemocněním nedokáže ani navzdory své vážné nemoci s kouřením přestat. Pokud bude lékařská veřejnost a obecně celá společnost před existencí inovativních produktů pro užívání tabáku, resp. nikotinu, zavírat oči, a pokud zůstane zachován status quo, lze se podle Dr. Harpera nadát následujícího scénáře: současná cca miliarda kuřáků na planetě bude kouřit i nadále, což znamená v příštích letech 80 milionů nových případů karcinomu plic a v jejich důsledku 64 milionů úmrtí.

Žádný kouř = významně méně škodlivin

Podle Dr. Harpera je již bezpečně prokázáno, že expozice karcinogenům souvisí s produkcí kouře vznikajícího při hoření tabáku. Samotný nikotin, kvůli jehož příjmu lidé kouří, v seznamu škodlivých a potenciálně škodlivých látek vedeném americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) figuruje jako návyková látka a jako reprodukční a vývojový toxikant, ale nikoli jako karcinogen – i proto může být dlouhodobě bezpečně předepisován a užíván v přípravcích pro nikotinovou substituční terapii při odvykání kouření.

Produkce karcinogenů závisí na teplotě, které je tabák ve výrobku vystaven. Během hoření při teplotách vyšších než 400 °C vzniká kouř, který obsahuje více než 6 000 chemikálií a ultrajemných pevných částic, z nichž 93 FDA klasifikuje jako škodlivé a potenciálně škod-



Graf 1. Produkce polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) a dalších škodlivin – hoření vs. nahřívání tabáku.

livé složky. Většina z nich (bezmála 80) jsou karcinogeny nebo potenciální karcinogeny. Při nižších teplotách (u nahřívání tabáku do 350 °C) je produkce škodlivých a potenciálně škodlivých látek vč. karcinogenů výrazně redukována (graf 1).

Koncept „harm reduction“ tedy předpokládá existenci alternativních bezdýmných forem dodání nikotinu, které stávajícím kuřákům umožní opustit rizikové cigarety (snížit expozici karcinogenům z tabákového kouře) a postupně se i zcela zbavit své závislosti. Žádný z těchto výrobků není určen nekuřákům, natož dětem a mladistvým.

V současnosti se alternativy dělí na inhalační a orální. Inhalační jsou e-cigarety (ve kterých se teplem odpařuje tekutina s obsahem přírodního nebo syntetického nikotinu, nebo bez něj, a s přídatnými aromaty) a nahřívání tabáku (s obsahem přírodního tabáku, který nehoří, ale působením tepla se z něj uvolňuje aerosol s obsahem nikotinu). Orálními produkty jsou orální tabák (řezaný v sáčkích, ve Skandinávii i jemně mletý, tzv. snus) a nikotinové

sáčky (bez obsahu tabáku), v obou případech s příchutěmi, nebo bez nich.

Všechny alternativy procházejí toxikologickými, biomarkerovými a klinickými studii podle stejných standardů jako léky. Dr. Harper shrnul některé poznatky.

- Snus (orální tabák) obdržel od FDA v r. 2019 status „*tabákového výrobku s modifikovaným rizikem*“. V rozhodnutí se mj. uvádí, že „...užívání snusu místo cigaret snižuje riziko karcinomu ústní dutiny, kardiovaskulárních onemocnění a cévní mozkové příhody, karcinomu plic, emfyzému a chronické bronchitidy.“ Dr. Harper připomněl statistická data ze Švédska, kde je snus mezi muži závislými na nikotinu nejrozšířenější formou jeho užívání a spotřeba cca trojnásobně převyšuje spotřebu cigaret. Díky tomu prevalence kouření tabáku v celé švédské populaci aktuálně klesla na 5,3 %, Švédsko je tak se 17letým předstihem nejbližší splnění cíle (závazného do roku 2040 pro všechny členské státy EU) stát se nekuřáckou zemí (s prevalencí kouření v populaci < 5 %). Švédsko má

navíc mezi všemi zeměmi EU v mužské populaci nejnižší míru incidence karcinomu plic i mortality v jeho důsledku a obecně mezi muži i ženami nejnižší míru výskytu onemocnění spojených s kouřením.

- E-cigareta a její užívání (tzv. vaping) představuje podle review, kterou provedl Public Health England, „...zlomek rizika kouření, nejméně o 95 %, a představuje i zanedbatelné riziko pro kolemjdoucí. Přesto se více než polovina kuřáků mylně domnívá, že vaping je stejně škodlivý jako kouření, nebo o jeho nižším riziku prostě neví.“ E-cigarety jsou ve Velké Británii schváleny jako prostředek pro odvykání kouření.
- Nahřívání tabáku má podle validační studie provedené v Southeast Tobacco Laboratory FDA v říjnu 2017 oproti cigaretám výrazně nižší produkci sledovaných karcinogenů a škodlivých látek (o > 90 % méně akroleinu, o > 90 % méně benzo[a]pyrenu, o > 80 % méně formaldehydu a o > 92–98 % méně tabákově specifických nitrosaminů NNN a NNK). Rovněž nahřívání tabáku obdr-

žel od FDA v r. 2020 rozhodnutí o udělení statusu „*tabákového výrobku s modifikovaným rizikem*“. FDA ve svém rozhodnutí doslova uvádí, že „...*ačkoli ‚snížení rizika‘ se dosud (klinicky) nestabililo projevít, je odůvodnitelně očekávatelné, že se v následujících studiích prokáže podstatné snížení morbidity a mortality*“.

Závěrem svého vystoupení Dr. Harper konstatoval: „*Potřebujeme nová řešení, jak pomoci lidem přestat kouřit, a snížit škody u těch, kteří přestat z jakéhokoli důvodu nemohou. Výsledkem bude s oběma přístupy snížení počtu kuřáků konvenčních cigaret*.“

Moderní trendy v diagnostice karcinomu plic

Z obsáhlého přehledového sdělení doc. MUDr. Jiřího Votruby, Ph.D., přednosti I. kliniky tuberkulózy a respiračních nemocí 1. LF UK a VFN v Praze, vybíráme několik postřehů týkajících se v první řadě diagnostiky a managementu pacientů s náhodně zachycenými solitárními plicními uzly, resp. s nálezy souvisejícími se screeningem.

Jak uvedl doc. Votruba, prevalence solitárních plicních uzlů ve screeningových studiích zahrnujících osoby s vysokým rizikem karcinomu plic se pohybuje od 8 do 51 % (Murrmann *et al.*, *Journal of Thoracic Disease* 2014). Incidence karcinomů u pacientů se solitárními plicními uzly se odhaduje v rozmezí 3,2 až 4,5 % (Zhang *et al.*, *JTO Clinical and Research Report* 2022). Ve screeningových programech se podíl invazivních diagnostických výkonů pohyboval od 1 do 4 % – s rizikem závažných komplikací souvisejících s výkonem 4,5/10 000 subjektů. V americké National Lung Screening Trial bylo 25 % operací provedeno pro plicní uzly, které posléze ukázaly být benigními (McWilliams *et al.*, *NEJM* 2013).

Přežití karcinomu plic přímo souvisí se stadiem diagnózy. I když solitární plicní uzly jsou výrazně častěji spojeny s benigním onemocněním, jsou zároveň nejčastějším způsobem zachytu plicních karcinomů. Publikace Meltona *et al.* (*Cureus* 2019) popisuje systém komunitně organizované péče o pacienty s nálezem plicních uzlů v americké Pensylvá-

nii, v němž se každým individuálním případem zabývá multidisciplinární tým, v němž je zastoupen radiační a klinický onkolog, hrudní chirurg, hrudní radiolog a pneumolog. Tým pracuje na vypracování plánu další péče po přezkoumání nálezu CT a pacientovy anamnézy. Výsledkem je podle zmíněné publikace častější zachyt plicního karcinomu v časnějším stadiu oproti celkové populaci s karcinomem plic.

Guidelines Fleischnerovy společnosti pro management pacientů s náhodnými nálezy plicních uzlů aktualizovaná v loňském roce doporučují obecně méně intenzivní přístup v zájmu ochrany pacienta před nadměrnými vyšetřeními. Solidní uzly < 6 mm u pacientů s nízkým rizikem nevyžadují žádné rutinní sledování; pokud se jedná o vysoce rizikového pacienta, pak je opakování CT vyšetření po 12 měsících nepovinné. Pokud je nález mezi 6 až 8 mm, bez ohledu na riziko pacienta, je doporučeno opakování CT za 6 až 12 měsíců a znovu za 18 až 24 měsíců. Pokud je uzel > 8 mm, doporučuje se opakování CT po 3 měsících vs. PET/CT nebo získání vzorku tkáně. Při vysokém riziku je nezbytná diagnostická biopsie k rozlišení etiologie uzlu.

Doporučení Fleischnerovy společnosti nebyla primárně koncipována pro management pacientů s plicními uzly zachycenými v rámci screeningu. Podle doc. Votruby do budoucna bude potřeba hledat nové směry v podobě nějakých „integrovaných klasifikátorů“, např. plazmatického proteomického klasifikátoru plicních uzlů (studie PANOPTIC) využívajícího klinických rizikových faktorů a proteomických rizik k přesnější kvantifikaci rizika, než jako nabízí CT. Jinou cestou mohou být identifikátory radiologického rizika založené na využití umělé inteligence či diagnostika z kondenzátu vydechaného vzduchu (viz dále).

Novinky v léčbě karcinomu plic

Jak zdůraznil doc. Votruba, cílem léčby časných stadií nemalobuněčného karcinomu plic (non-small cell lung cancer – NSCLC) by mělo být vždy vyléčení. Zrekapituloval, že adjuvantní chemoterapie na bázi cisplatiny je stále standardem péče u časného stadia NSCLC s vysokým rizikem metastatického šíření po radi-

kální resekci. Anti-PD-L1 imunoterapie durvalumabem po chemoradioterapii prodlužuje celkové přežití u neresekabilního nebo inoperabilního nemetastatického NSCLC. Adjuvantní osimertinib po dobu 3 let po standardní chemoterapii prodlužuje přežití bez známek onemocnění u NSCLC s mutací EGFR.

Aktuálně se pozornost soustředí na posun imunoterapie do neoadjuvantní a adjuvantní léčby časných operabilních stadií NSCLC. Průkaz účinnosti adjuvantní blokády PD-(L)1 po kompletní chirurgické resekci a adjuvantní chemoterapii pro NSCLC přinesla klinická studie fáze I IMpower010, v níž došlo k významnému zlepšení přežití bez známek onemocnění přidáním atezolizumabu po chemoterapii na bázi cisplatinu u pacientů s radikální resekci PD-L1-pozitivního NSCLC stadia II–IIIa. Největší přínos byl zaznamenán u pacientů s expresí PD-L1 $\geq 50\%$ (snížení míry relativního rizika o 56 %).

Zařazení imunoterapie do neoadjuvantní léčby NSCLC by mělo přinést další benefity, protože je známo, že neoadjuvance s sebou nese řadu výhod – mj. lepší toleranci v načasování před operací, downstaging, časnou eradikaci mikrometastáz či možnost časného hodnocení účinnosti léčby. Ve studii CheckMate 816 přidání nivolumabu k neoadjuvantní chemoterapii na bázi platiny zvýšilo oproti chemoterapii samotné míru objektivních (zobrazovacích) odpovědí a patologickou kompletní odpověď, a to bez zvýšené toxicity. Výzkumná analýza ukázala u pacientů užívajících kombinaci častější clearance cirkulující nádorové ctDNA, která byla spojena s patologickou kompletní odpovědí.

Jak na závěr uvedl doc. Votruba, „pravidla hry“ by mohl změnit i debulking NSCLC, tedy zmenšení jeho objemu před molekulárně cílenou terapií NSCLC, možná i v pokročilých stadiích, a to díky minimalizaci možnosti relapsu snížením počtu potenciálně rezistentních nádorových buněk.

Identifikace biomarkerů karcinomu plic a CHOPN ve vydechaném vzduchu

Již citovaný doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., zakládající ředitel Ústavu molek-

lární a translační medicíny Lékařské fakulty UP, Olomouc, prezentoval i v zastoupení Mgr. Jany Václavkové, Ph.D., výzkum využití analýzy kondenzátu vydechovaného vzduchu, bohatého zdroje biomarkerů, v detekci onemocnění dýchacího traktu.

Od roku 2021 jsou v ČR osoby z rizikových skupin (kuřáci) v rámci časného zachytu karcinomu plic screenovány plicními funkčními testy a nízkodávkovou CT (low dose CT – LD-CT). Stále však trvá potřeba vývoje nových neinvazivních metod, které by mohly v současnosti používané screeningové metody doplnit nebo nahradit.

Jak konstatoval doc. Hajdúch, odběr kondenzátu vydechovaného vzduchu je časově nenáročná metoda nezátěžující pacienta. Analýza takto získaných biomarkerů by měla mít široké využití – pro primární testování v zájmu včasné detekce karcinomu plic, pro triáž pacientů s nálezem plicních uzlů na LD-CT, pro identifikaci podezřelých lézí s nízkým rizikem bez nutnosti invazivních diagnostických metod, pro sledování pacientů s plicním karcinomem během terapie či jako sekundární screening recidiv onemocnění.

Autoři v abstraktu své přednášky uvedli: „Zaměřili jsme se na diagnostiku nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC). Identifikovali jsme 4 806 proteinů a z nich bylo 4 179 proteinů kvantifikováno alespoň v jednom replikátu ve vzorcích 226 jedinců měřených v triplikátech. Kombinací jednorozměrných a vícerozměrných statistických přístupů a analýzy citlivosti jsme navrhli 72 biomarkerů, které by mohly odlišit pacienty s NSCLC od pa-

cientů s CHOPN a zdravých kontrol. Naše modely pro predikci biomarkerů NSCLC a CHOPN fungovaly dobře a zdají se být slibné. Probíhající cílená analýza založená na hmotnostní spektrometrii by naznačovala výsledný panel biomarkerů, který bude použit pro vývoj testu založeného na ELISA pro použití v preventivním screeningu rakoviny plic.“

Podle sdělení doc. Hajdúcha bude po důsledné validaci biomarkerů potřebný vývoj multiplexních imunoanalýz pro implementaci do běžné klinické praxe. Konečným cílem by měla být point-of-care neinvazivní diagnostika respiračních poruch.

Aktuálně probíhá nábor do studie časných onkologických biomarkerů v kondenzátu vydechovaného vzduchu v populaci jedinců s vysokým rizikem karcinomu plic podstupujících LD-CT screening. Primárním cílem studie je validovat nově identifikované biomarkery karcinomu plic v kondenzátu vydechovaného vzduchu pro diagnostiku plicních uzlů a jejich třídění na maligní vs. benigní. Pracoviště, která by projevila zájem o účast, jsou vítána a mohou kontaktovat přímo doc. Hajdúcha.

Otáčící přístup „harm reduction“ v ČR křivku incidence karcinomu plic?

Doc. Hajdúch prezentoval i zatím velmi předběžné výsledky české ekologické studie k hodnocení účinnosti protikuřácké intervence. Zahrnuta do ní byla data z Národního onkologického registru získaná mezi lednem 2010 a prosincem 2021. Tedy v časovém období, do kterého spadají i dvě důležité události –

zavedení zákazu kouření v restauracích a na veřejných místech a uvedení výrobků pro alternativní užívání tabáku/nikotinu (nahřívávacího tabáku a e-cigaret) na český trh – k obojímu došlo v roce 2017.

Celková analýza v daném časovém období obsáhla 79 066 případů karcinomu plic (52 125 mužů, 26 941 žen). Nebyla prokázána žádná významná korelace mezi karcinomy plic a úmrtími v období před covid-19 a po něm. Naopak významná byla křížová korelace karcinomů plic s provedenými CT hrudníku (před covid-19 i po něm).

„Na základě jednoduchého lineárního regresního modelu jsme určili červenec roku 2019 jako odhadovaný časový bod změny ve výskytu karcinomu plic v ČR,“ uvedl doc. Hajdúch a dodal: „Interpretace příčin by překračovala zaměření studie. Nicméně podle dat Státního zdravotního ústavu po zákazu kouření v restauracích a na veřejných místech mezi lety 2017 a 2021 klesl počet denních i příležitostných kuřáků cigaret o 0,9 resp. 1,8 procentního bodu. Z dat pokladních systémů pro obchody, restaurace a služby je naopak v uvedeném období patrný růst prodeje alternativních produktů, tedy e-cigaret a nahřívávacího tabáku, na úkor cigaret.“

Data tedy naznačují významnou roli přístupů „harm reduction“ při snižování výskytu karcinomu plic. Jak ale závěrem zdůraznil doc. Hajdúch, údaje jsou zatím stále jen předběžné a je třeba je ověřit a doplnit o incidenci a mortalitu v roce 2022 a dalších letech.

Ing. Kateřina Michnová
šéfredaktorka Care Comm s.r.o.

Uvedenie významných osobností slovenskej onkológie do Dvorany slávy slovenskej medicíny

Dňa 27. júna 2023 sa v bratislavskom Hoteli Sorea Regia konalo 13. slávnostné uvádzanie osobností do Dvorany slávy slovenskej medicíny Slovenskej lekárskej spoločnosti (SLS).

Zámerom projektu „Dvorana slávy slovenskej medicíny“ a jeho realizácie bola popularizácia popredných osobností slovenskej medicíny, ktorí významnou mierou prispeli k budovaniu slovenskej medicíny, medicínskeho školstva a vzdelávania, k zvyšovaniu odbornej úrovne poskytovanej zdravotnej starostlivosti u nás, k šíreniu dobrého mena slovenskej medicíny doma a v zahraničí, najmä tých, ktorí sa zaslúžili o vznik a rozvoj Slovenskej lekárskej spoločnosti.

Medzi osobnosťami, ktorým na návrh Slovenskej onkologickej spoločnosti schválilo Prezídium SLS toto ocenenie, boli prof. MUDr. Viliam Thurzo, DrSc. (1912–1984), prof. MUDr. František Švec, DrSc. (1906–1973) a jeho syn prof. MUDr. Juraj Švec, DrSc. (1938–2017). Za týchto, žiaľ už nežijúcich laureátov prevzali z rúk prezidenta SLS prof. MUDr. Jána Brezu, DrSc., MHA, MPH a vedeckého sekretára SLS prof. MUDr. Mariána Bernadiča, CSc. diplomy ich najbližší rodinní príslušníci: za prof. Thurza jeho syn doc. RNDr. Milan Thurzo, CSc., za prof. Františka Šveca jeho vnuk MUDr. Andrey Švec, PhD. a za prof. Juraja Šveca jeho syn MUDr. Richard Švec.

Prof. MUDr. Viliam Thurzo, DrSc., akademik SAV a ČSAV, slovenský lekár – onkológ, vysokoškolský pedagóg, vedec

Narodil sa 13. novembra 1912 v Komárne, avšak jeho korene siahajú do rodu Thurzovcov z Banskej Bystrice – Radvane, kde sa s rodičmi v roku 1925 presťahoval a dokončil ľudovú školu. V Banskej Bystrici študoval aj na gymnáziu a maturoval v roku 1932. Medicínu študoval na Lekárskej fakulte Univerzity Komenského (LF UK) v Bratislave, kde v roku 1940 promoval. V rokoch 1940–1941 pôsobil ako pracovník Štátneho zdravotníckeho sociálneho ústavu v Bratislave. V rokoch 1941–1945



bol pracovníkom sanatória Penzijného ústavu súkromných úradníkov v Novom Smokovci. Počas tohto obdobia bol účastníkom Slovenského národného povstania (SNP) a členom povstaleckej Slovenskej národnej rady (SNR). V roku 1945 sa stal poverením SNR pre zdravotníctvo a v roku 1946 hlavným radcom Povereníctva zdravotníctva. V roku 1954 sa stal členom-korešpondentom Slovenskej akadémie vied (SAV), v roku 1960 docentom LF UK, v roku 1965 doktorom lekárskeho štúdia (DrSc.) a v roku 1967 univerzitným profesorom onkológie. V roku 1973 sa stal členom korešpondentom Československej akadémie vied (ČSAV). V roku 1975 sa stal akademikom SAV a v roku 1977 akademikom ČSAV. Z iniciatívy MUDr. Viliama Thurza vznikol v Nemocnici sv. Alžbety v Bratislave v roku 1946 Ústav pre výskum a liečenie nádorov, od roku 1948 s názvom Štátny oblastný ústav pre výskum a liečbu nádorov. V roku 1966 vznikol z tohto ústavu Onkologický ústav pre Slovensko, pričom výskumná časť ústavu bola začlenená do Slovenskej akadémie vied ako Ústav experimentálnej onkológie SAV, ktorého bol prof. Thurzo prvým riaditeľom až do roku 1982. Prof. Thurzo bol zakladateľom onkologického výskumu a onkovirológie na Slovensku. Významné úspechy dosiahol v problematike onkogénnych RNA vírusov, bol objaviteľ vtáčieho onkogénneho vírusu B77. Prof. Thurzo zaviedol pregraduálnu

výučbu onkológie na bratislavskej lekárskej fakulte medzi prvými v Európe, keď v roku 1964 založil Katedru onkológie a rádiológie, ktorá sa v roku 1978 rozšírila na Katedru onkológie, rádiológie a nukleárnej medicíny LF UK. Od roku 1954 bol hlavným redaktorom novozaloženého medzinárodného časopisu Neoplasma. Bol riadnym a čestným členom viacerých zahraničných a medzinárodných odborných spoločností, expertom Svetovej zdravotníckej organizácie (WHO) v Ženeve pre onkológiu, československý zmocnenec pre vedeckú spoluprácu krajín bývalej Rady vzájomnej hospodárskej pomoci (RVHP) pre výskum zhubných novotvarov.

Akademik Thurzo sa okrajovo venoval i užitej entomológii a ako lekár-parazitológ sa zaoberal prevažne štúdiom dvojkridlovcov, hlavne komármi. Údaje o výskyte komárov rodu *Theobaldia* z okolia Bratislavy a Banskej Štiavnice publikoval vo svojej práci, ktorá vyšla v roku 1955 v časopise Biológia pod názvom „Výskyt komára *Theobaldia glaphyoptera* Schiner na Slovensku.“

V rokoch 1948–1952 bol predsedom Československého červeného kríža na Slovensku a od roku 1966 predsedom Slovenskej mierovej rady a podpredsedom Československého mierového výboru, člen predsedníctva Svetovej rady mieru. Bol držiteľom mnohých medzinárodných uznaní, čestných doktorátov a vysokých štátnych vyznamenaní:

Rad SNP I. stupňa (1945), Rad Víťazného februára, Rad práce (1972), laureát Štátnej ceny Klementa Gottwalda (1973), Čs. ceny mieru (1955), Medaily Svetovej rady mieru, Medaily J. E. Purkyně (1962), Striebrnej plakety ČSAV Za zásluhy o vedu a ľudstvo (1977), Medaily Jonáša B. Guotha, Zlatej plakety SAV J. Jesenia a iných. Akademik Thurzo zomrel 2. marca 1984 v Bratislave.

Patril medzi výnimočné osobnosti našej medicíny, bol uznávanou odbornou a ľudskou autoritou, úspešne a dôstojne reprezentoval slovenskú medicínu a medicínsku vedu nielen doma, ale aj v zahraničí, za čo mu patrí úcta a vďaka.

Prof. MUDr. František Švec, DrSc., slovenský lekár – farmakológ, onkológ, vysokoškolský profesor, vedec

Narodil sa 28. augusta 1906 v Bytči v rodine železničiara. Do základnej školy začal chodiť vo svojom rodisku, ale keď sa rodina presťahovala do Nitry, pokračoval v školskej dochádzke v tomto meste, kde študoval aj na reálnom gymnáziu. Pre nepriaznivé finančné pomery v rodine musel štúdium prerušiť, začal sa učiť zámočníctvu. Po vynútenej prestávke pokračoval v gymnaziálnom štúdiu. Už vtedy ho popri matematike a technických disciplínach zaujala biológia a najmä chémia. Po maturite v roku 1925 jeho kroky zamierili do Bratislavy, jednoznačne na LF UK.

Aj keď sa František Švec plne venoval štúdiu, našiel si čas aj na športové záľuby. Bol členom telovýchovnej jednoty Sokol, kde sa venoval gymnastike, a to aj pretekársky. Popri tom bol aj veľkým priaznivcom ľadového hokeja, sám hrával a neskôr pôsobil aj ako prvý slovenský hokejový rozhodca. Bol spoluzakladateľom vysokoškolského ľadového hokeja a jeho dlhoročným funkcionárom. Už od študentských čias sa venoval aj šachu. Ku koncu štúdia stál pri začiatkoch Spolku československých medikov v Bratislave (neskôr Spolok slovenských medikov), ktorého bol dlhoročným členom.

František Švec sa ešte ako študent stal v rokoch 1928–1930 výpomocným asistentom na Ústave fyziológie LF UK

v Bratislave. Po promócií v decembri 1930 bol preradený za riadneho asistenta (1931–1933), kde dôkladné znalosti fyziológie, ktoré tu získal účinne využíval vo svojej pedagogickej a vedeckej práci. Od roku 1933 pôsobil na Ústave pre farmakológiu a farmakognóziu vtedajšej Lekárskej fakulty Slovenskej univerzity. V roku 1936 sa MUDr. František Švec intenzívne pripravoval na habilitáciu, v žiadosti o udelenie titulu sa mohol oprieť o 11 vedeckých prác publikovaných v domácich i zahraničných medicínskych odborných časopisoch. Zaoberal sa v nich najmä rozkladom potravy v žalúdočnej šťave, rezorpciou z tenkého čreva a vplyvom saponínov na ňu. Habilitačnú prácu, ktorú predložil v roku 1936 venoval problematike rozkladu digitalisových glykozidov v žalúdočnej šťave. V máji 1937 predniesol habilitačnú prednášku pod názvom Farmakodynamika zdravého a chorého srdca. Po úspešnej obhajobe sa stal ako prvý slovenský lekár docentom pre odbor farmakológia a farmakognózia. Už v roku 1936 získal titul odborného lekára pre vnútorné choroby, nakoľko pôsobil aj ako externý asistent na Propedeutickej klinike (neskoršej I. internej klinike) LF UK, kde sa venoval predovšetkým kardiológii. V roku 1939 sa stal profesorom farmakológie a farmakognózie. V rokoch 1939–1949 pôsobil vo funkcii prednostu tohto ústavu. Ústav pod jeho vedením zabezpečoval od roku 1940 aj štúdium lekárnictva (získanie titulu magistra farmácie). Dušou a vedúcou osobnosťou týchto začiatkov vysokoškolského štúdia lekárnikov na území Slovenska bol nesporne profesor František Švec, ktorý na Ústave pre farmakológiu a farmakognóziu vytvoril základ pre vznik neskoršej samostatnej Farmaceutickej fakulty UK.

V rokoch 1947–1948 bol dekanom LF UK v Bratislave, ale po „politických čistkách“ vo februári 1948 bol z tejto funkcie odvolaný až napokon prepustený zo školských služieb. Po dlhých mesiacoch neistoty, ponížovania a nedôvery, keď bol bez zamestnania, prejavil o prof. Šveca záujem Ústav pre výskum a liečenie nádorov. Jeho riaditeľ prof. Viliam Thurzo preňho vytvoril bezpečný „vedecký azyl“, v ktorom mohol rozvíjať dosiahnuté vyspelé vedecké ambície



a uplatňovať svoje skúsenosti. Od roku 1949 pôsobil teda prof. František Švec ako vedecký pracovník tohto ústavu, neskoršieho Výskumného ústavu onkologického, resp. súčasného Ústavu experimentálnej onkológie Biomedicínskeho centra SAV v Bratislave vo funkcii prednostu Oddelenia experimentálnej patológie. Vedeckou prácou, najmä skúmaním problémov interakcie nádorových vírusov s bunkou a vírusového pôvodu rakoviny vzbudil pozornosť v zahraničí. Riešil aj problémy krvnej zrážanlivosti vo vzťahu k metabolizmu glukózy, skúmal pôsobenie kardiotoník, sledoval farmakodynamiku pôsobenia digitalizovaných glykozidov, pôsobenie liekov a možnosť eliminácie nežiadúcich toxických účinkov pri liečbe akútnej leukémie. Vo výskume nádorových ochorení sa zamerával na farmakodynamiku acetylcholínu v nádorovom tkanive. Výsledky jeho práce majú svetový význam, modelové prístupy skúmania vírusového pôvodu rakoviny sa v súčasnosti používajú na európskych i zámorských pracoviskách. Absolvoval viacero zahraničných študijných pobytov (Švajčiarsko, Veľká Británia, Rakúsko). Bol autorom viacerých monografických prác, vyše 200 štúdií a časopiseckých článkov. V roku 1962 obhájil v Prahe doktorskú dizertačnú prácu (DrSc.) na tému Farmakodynamika digitalisových glykosidov. Na pôdu UK v Bratislave sa vrátil v 60. rokoch na Farmaceutickú fakultu, jedinu svojho druhu vo vtedajšom Československu

ako profesor farmakológie na Katedre farmakodynamiky a toxikológie, kde pôsobil do roku 1972. Roku 1972 Slovenská komisia pre vedecké hodnosti vymenovala prof. Františka Šveca za predsedu Komisie pre obhajoby doktorských dizertačných prác z odboru farmakológie. Už predtým bol predsedom Komisie pre obhajoby kandidátskych dizertačných prác z odboru onkológia a farmakológia. Dostalo sa mu aj širšieho uznania. Stal sa koordinátorom Štátneho plánu základného výskumu a bol menovaný za člena Komisie expertov členských štátov RVHP pre problematiku chemoterapie nádorov, Poradného zboru Švédskej akadémie vied pre udeľovanie Nobelovej ceny v medicíne (1956–1958).

Bol aj predsedom Zdravotníckej komisie pri Ústrednom výbore Československého zväzu telesnej výchovy (ČSTV) (1958), člen organizačného výboru Slovenského ústredného výboru ČSTV pre prípravu a organizáciu Majstrovstiev Európy v krasokorčuľovaní v Bratislave v roku 1958. Bol i členom Československej mierovej rady a členom predsedníctva Krajskej mierovej rady v Bratislave. Popri štúdiu a práci bola v živote prof. Františka Šveca najväčšou hodnotou jeho rodina. S manželkou Elenou, ktorá vytvárala pokojné rodinné zázemie pre prácu a život všetkých členov rodiny, vychovali troch synov. Dvaja z nich – Juraj a Pavol – pokračovali v rodinnej tradícii a stali sa profesormi a doktormi vied v medicínskych odboroch onkológia, resp. farmakológia. Tretí syn Otto študoval na Slovenskej vysokej škole technickej v Bratislave a stal sa stavebným inžinierom. Prof. František Švec zomrel 16. marca 1976 v Prahe. V roku 1992 bola na jeho rodnom dome v Bytči odhalená pamätná tabuľa a ako prejav vďaky a úcty k slávnemu rodákovi je jedna z ulíc v meste pomenovaná po ňom.

Prof. MUDr. Juraj Švec, DrSc., slovenský lekár, vysokoškolský profesor, vedec, akademický funkcionár a politik

Narodil sa 16. januára 1938 v Bratislave ako najstarší z troch synov prof. Františka Šveca. Po absolvovaní stredoškolského štúdia, ktoré ukončil maturitou v r. 1955 na jedenásťročnej strednej

škole v Bratislave, študoval medicínu na LF UK v Bratislave, kde v r. 1961 promoval s vyznamenaním. Už pred skončením vysokoškolského štúdia podpísal umiestnenku do Sobrance na východnom Slovensku, kde odišiel pôsobiť ako sekundárny lekár. V rokoch 1961–1962 pôsobil ako sekundárny lekár v Liečebni TBC vo Vyšných Hágoch. V lete roku 1962 prijal miesto odborného asistenta na Inštitúte pre ďalšie vzdelávanie lekárov a farmaceutov v Bratislave. Tu, v rámci svojho pracovného zadelenia na Rádiologickom oddelení a Oddelení nukleárnej medicíny Ústavu klinickej onkológie, absolvoval klinickú prax a po predatestačnej príprave získal v roku 1966 špecializáciu I. stupňa z vnútorného lekárstva. Pôsobil aj ako sekundárny lekár na Oddelení chemoterapie nádorov pod vedením významného onkológa doc. MUDr. Alojza Winklera, DrSc. (1919–1981). V roku 1969 obhájil kandidátsku dizertačnú prácu a získal vedeckú hodnosť kandidáta lekárskeho vied (CSc.) z odboru onkológia. V roku 1970 prijal ponuku akademika SAV a ČSAV prof. MUDr. Viliama Thurzu, DrSc. (1912–1984) a nastúpil na miesto asistenta a neskôr odborného asistenta na vtedajšiu Katedru onkológie a rádiológie LF UK. V roku 1980 získal nadstavbovú špecializáciu z klinickej onkológie a zároveň po obhajobe habilitačnej práce aj vedecko-pedagogickú hodnosť docenta pre odbor onkológia. V roku 1983 obhájil doktorskú dizertačnú prácu a získal vedeckú hodnosť doktora lekárskeho vied (DrSc.). V roku 1987 bol vymenovaný za profesora pre odbor onkológia.

V roku 1980 sa Juraj Švec stal vedúcim Katedry onkológie a rádiológie, neskôr aj nukleárnej medicíny LF UK. V roku 1985–1988 bol externým vedúcim Laboratória molekulárnej biológie nádorov Ústavu experimentálnej onkológie (ÚEO) SAV. V rokoch 1992–1996 bol riaditeľom ÚEO SAV a zároveň v rokoch 1990–1997 aj prednostom Onkologického ústavu LF UK, neskôr v rokoch 1998–2003 prednostom Onkologickej kliniky LF UK. Od roku 2004 pôsobil Juraj Švec vo funkcii zástupcu prednostu I. onkologickej kliniky LF UK a Onkologického ústavu sv. Alžbety, kde zotrval a významne pomáhal až do úplného konca svojej ži-



votnej púte. V roku 1991–1997 pôsobil vo funkcii rektora UK v Bratislave a v rokoch 2003–2010 bol dve funkčné obdobia prorektorom Slovenskej zdravotníckej univerzity (SZU) pre medzinárodné vzťahy.

Prof. Juraj Švec vstúpil do politiky v roku 1994 ako nezávislý kandidát Demokratickej únie. V roku 1993–2002 bol poslancom Národnej rady Slovenskej republiky (SR) a členom jej zahraničného výboru. V roku 1999 kandidoval na funkciu prezidenta SR.

Vo svojej vedecko-výskumnej činnosti sa zaoberal problematikou klinickej a experimentálnej onkológie, študoval problematiku onkovirológie, rozvíjal problematiku molekulárnej biológie onkogenézy, imunológie nádorovej choroby, predovšetkým karcinómu prsníka. Bol zodpovedným riešiteľom viacerých vedecko-výskumných projektov, ktoré boli riešené v rámci programu rozvoja vedy a techniky. Od začiatku 80. rokov minulého storočia koordinoval československý onkologický výskum v rámci Štátneho plánu technického rozvoja, bol hlavným riešiteľom úlohy „Komplexné mechanizmy marmárnej karcinogenézy“, ktorá sa riešila aj v rámci Komplexného programu onkologického výskumu členských štátov RVHP v spolupráci s pracoviskami vo vtedajšom Sovietskom zväze, v Holandsku a Veľkej Británii. Už koncom 80. rokov minulého storočia bol prof. Švec považovaný za vedca, ktorý vyoral hlbokú brázd

v onkológii a zapísal sa nielen do slovenských, ale i svetových análov. Ako vysokoškolský pedagóg prednášal onkologickú problematiku slovenským i zahraničným poslucháčom LF UK, Prírodovedeckej a Farmaceutickej fakulty UK, SZU i Vysokej školy zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety. Dlhé roky viedol kurzy Študentskej vedeckej a odbornej činnosti, z ktorých viacerí účastníci získali popredné umiestnenia na celoštátnych i medzinárodných konferenciách. Počas svojho odborného a vedeckého rastu absolvoval niekoľko medzinárodných štipendií, študijných a pracovných pobytov na významných onkologických pracoviskách a univerzitách nielen v Európe, ale aj v USA. Ako vysokoškolský pedagóg a vedec vchoval početnú vedeckú školu a pod jeho vedením vyrástli desiatky pedagogických a vedeckých pracovníkov (kandidátov vied, doktorandov, docentov i profesorov onkológie). Počas pôsobenia v akademických funkciách zapájal Univerzitu Komenského i Slovenskú zdravotnícku univerzitu do medzinárodného akademického a vedeckého prostredia. Tieto vysoké školy aj jeho pričinením prechádzali procesom internacionalizácie. Usiloval o spoluprácu s kvalitnými zahraničnými vysokými školami a vedeckými inštitúciami aj formou štipendijných výmenných pobytov pre študentov, absolventov slovenských vysokých škôl, vedeckých pracovníkov a pedagógov. V rámci mnohých akademických a politických funkcií bol napr. prezidentom Slovenskej rektorskej konferencie, predsedom Klubu rektorov českých a slovenských vysokých škôl, členom Klubu európskych rektorov, Európskej rektorskej konferencie i Konferencie rektorov Podunajskej nížiny, členom Stálej komisie

Rady Európy pre vysoké školstvo a vedu, Stálej komisie Rady Európy pre legislatívnu reformu vysokého školstva v Európe, zástupcom SR v Európskej komisii pri Rade Európy pre humanizmus a toleranciu, zástupcom SR v Edukačnej komisii Organisation for Economic Co-Operation and Development (OECD) v Paríži a pod. Ako člen Výkonného výboru Rady Európy pre legislatívnu reformu vysokých škôl bol spoluautorom monografie Rady Európy „Demokracia a riadenie vo vysokom školstve“. Juraj Švec bol aj členom viacerých medzinárodných onkologických spoločností, napr. European Association for Cancer Research (EACR), Union Internationale Contre le Cancer (UICC), bol členom výkonného výboru Organization of European Cancer Institutes (OEIC), výkonného výboru International Agency for Research on Cancer (IARC), výkonného výboru Organization of European Cancer Institutes (OEIC), bol zakladajúcim členom a členom predsedníctva International Association for Breast Cancer Research, členom komisie pre postgraduálnu výučbu onkológie International Agency Against Cancer (IAAC), Európskej onkologickej spoločnosti (ESMO), Komisie vlády SR pre boj proti rakovine, Slovenskej lekárskej spoločnosti, Slovenskej onkologickej spoločnosti, Slovenskej rádiologickej spoločnosti i členom Komisie expertov RVHP pre problém Zhubné novotvary.

V rámci zabezpečovania postgraduálneho vzdelávania bol členom Komisie pre obhajoby kandidátskych a doktorských dizertačných prác z rádiológie, Komisie ČR pre obhajoby kandidátskych dizertačných prác z odboru onkológie, členom komisií SR pre obhajoby kandidátskych, doktorandských a doktorských dizertačných prác z odboru onko-

lógia. Juraj Švec bol držiteľom viacerých domácich i zahraničných, najmä akademických vyznamenaní: Zlatej medaily Cornell University (Ithaca, NY, USA), City University Seattle, University Ottawa, University Utrecht, University Trieste, Pontificia Università Gregoriana (Roma), Ain Sharm University Al-Assune (Kairo), The Zinman College of Physical Education (Jerusalem), University Groningen, Eötvös Loránd University (Budapest), Universidad Complutense di Madrid, Masarykovej Univerzity v Brne, ale aj napr. Zlatej medaily Rady Európy, Striebornej a Zlatej medaily LF UK, Hynkovej medaily LF UK, Veľkej zlatej medaily UK a Pamätnej medaily pápeža Jána Pavla II. z príležitosti audiencie vo Vatikáne, Zlatej medaily pápeža Jána Pavla II. za rozvoj teologických štúdií v SR a ďalších.

Okrem svojej bohatej pedagogickej, vedecko-výskumnej, politickej, organizátorskej aktivity sa venoval aj športu, pretekársky hrával volejbal, bol reprezentantom Slovenska v lyžovaní. Takmer 70-ročný absolvoval potápačský kurz s medzinárodnou licenciou. Športové aktivity i práce na chalupe na strednom Slovensku a jeho rodina ho udržiavali v kondícii do posledných chvíľ. Je iróniou osudu, že zomrel na onkologické ochorenie (17. februára 2017), ktorému sa ako lekár a vysokoškolský pedagóg venoval celý svoj život.

Z rúk čelných predstaviteľov SLS prevzali dekréty o slávnostnom uvedení týchto osobností do Dvorany slávy slovenskej medicíny SLS ich najbližší príbuzní, ktorí sa vo svojich príhovoroch poďakovali za tento prejav uznania a ocenenia celoživotnej odbornej, klinickej, vedeckej a pedagogickej práce svojich významných predkov.

prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc.

Jubilant prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc.

Tento rok oslávil významné životné jubileum – 70 rokov – prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., popredná osobnosť slovenskej i európskej urologickej onkológie.

Narodil 14. júna 1953 v Bratislave v rodine lekára, patológa. Po maturite na SVŠ Metodova v Bratislave (1971) sa mladý Dalibor prihlásil na Lekársku fakultu Univerzity Komenského (LF UK) v Bratislave, ktorú ukončil v roku 1977. Následne nastúpil na Urologickú kliniku LF UK na bratislavských Kramároch, kde pôsobil vyše 25 rokov.

Bol žiakom bývalých prednostov tejto kliniky: prof. Vladimíra Zvaru (1924–2012) a prof. Michala Horňáka (1929–2016), ktorí ho inšpirovali nielen pri jeho klinickej práci, ale ho aj podporovali vo vedeckom a akademickom raste.

Svoj odborný záujem upriamil na problematiku onkourológie, predovšetkým na diagnostiku a manažment liečby nádorov testis. Táto diagnóza pre neho predstavovala nielen pracovnú výzvu, ale dokázala naplniť jeho túžbu pomáhať a zachraňovať najmä mladých mužov, ktorých toto ochorenie postihuje. Energia, s ktorou sa do práce dokáže pustiť, definuje celý jeho život a odzrkadľuje sa v dosiahnutých úspechoch.

V roku 1981 získal špecializáciu z urológie I. stupňa, v roku 1985 špecializáciu z urológie II. stupňa a v roku 1988 špecializáciu z klinickej onkológie. Po úspešnej obhajobe dizertačnej práce *Chemoterapia nádorov testis* získal vedecký titul kandidáta lekárskej vied (CSc.) získal v odbore chirurgia (1989). Po obhajobe habilitačnej práce v roku 1993 získal vedecko-pedagogický titul docent (odbor urológia-klinická onkológia) a v roku 1999 bol vymenovaný za profesora (odbor onkológia). V roku 2021 obhájil dizertačnú prácu *Komplexná liečba nádorov testis* a získal vedeckú hodnosť doktora lekárskej vied (DrSc.) v odbore chirurgia.

Postupne sa zaradil medzi čelných predstaviteľov slovenskej i európskej urológie v problematike urologickej onkológie a výsledky jeho práce sú vnímané v medzinárodnom meradle.

Profesionálny a zároveň empatický prístup prof. Ondruša oceňujú aj pacienti v Onkologickom ústave sv. Alžbety (OÚSA), kde pôsobí od roku 2004 vo funkcii prednostu I. onkologickej kliniky LF UK a OÚSA v Bratislave. Svoje bohaté, vyše 45-ročné skúsenosti odovzdáva študentom v pregraduálnej výučbe, ale aj ako školiteľ doktorandov v študijnom programe onkológia a mladším kolegum, vedeckej, ale i širšej odbornej verejnosti formou publikácií, prednášok a seminárov.

Podieľa sa na tvorbe knižnej a časopiseckej odbornej a vedeckej literatúry. Doteraz publikoval vyše 630 odborných a vedeckých článkov v domácich i zahraničných časopisoch (z toho okolo 140 v databázach WoS alebo SCOPUS) a bol autorom a zostavovateľom viacerých vedeckých monografií a vysokoškolských učebníc. Na svoju publikačnú aktivitu eviduje takmer 2 200 ohlasov (z toho vyše 1 300 v databázach WoS a SCOPUS). Viaceré jeho publikácie boli podkladom pre Guidelines on testicular cancer (EAU) a European consensus on diagnosis and treatment of germ cell cancer (European Germ Cell Cancer Consensus Group).

Prednášal na početných domácich i zahraničných vedeckých konferenciách a kongresoch po celom svete.

Vedeckú školu rozvíja aj garantovaním študijného programu doktorandského, habilitačného konania a konania na vymenovanie profesorov v študijnom odbore onkológia na LF UK v Bratislave, zároveň je členom Komisie pre obhajoby doktorandských dizertačných prác v študijnom programe urológia. Od roku 1993 je členom komisie pre štátne záverečné skúšky zo študijného predmetu chirurgia na LF UK v Bratislave. V rokoch 2016–2021 bol predsedom Komisie pre obhajoby doktorských dizertačných prác (DrSc.) vo vednom odbore chirurgia a členom Komisie pre obhajoby doktorských dizertačných prác (DrSc.) vo vednom odbore onkológia. V rokoch 2021–2022 bol členom komisie VEGA pre lekárske a farmaceutické



vedy a v rokoch 2011–2023 bol členom Vedeckej rady LF UK v Bratislave. Bol riešiteľom, resp. spoluriešiteľom viacerých vedecko-výskumných projektov (VEGA, KEGA, APVV). Od roku 2000 doteraz je členom Akademického senátu LF UK v Bratislave. Od roku 2017 je členom Špičkového vedeckého tímu UK v Bratislave: Translačný výskum onkologických ochorení (TRANSONK) (ocenený za vedeckú činnosť Striebornou medailou UK).

Okrem bohatej vedeckej a publikačnej činnosti prispel aj k samotnej tvorbe vedeckej tlače. V rokoch 1999–2011 bol vedúcim redaktorom časopisu *Urológia*; doteraz je členom redakčných rád ďalších odborných a vedeckých časopisov: *Klinická urológia*, *Revue medicíny v praxi*, *Lekársky obzor*, *Onkológia*, *Urologie pro praxi* a *Klinická onkologie*.

Prof. Ondruš je členom Slovenskej urologickej spoločnosti (SUS) Slovenskej lekárskej spoločnosti (SLS) – čestný člen SUS (2013), Slovenskej onkologickej spoločnosti (SOS) SLS – čestný člen SOS (2023), Slovenskej chirurgickej spoločnosti SLS, Slovenskej spoločnosti patológov SLS, Spolku slovenských lekárov v Bratislave, European Association of Urology, European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) – Genitourinary Group, European Germ

Cell Cancer Consensus Group (EGCCCG), New York Academy of Sciences; čestný člen Českej urologickej spoločnosti (2005) a Českej onkologickej spoločnosti (2013).

Za svoju publikačnú aktivitu získal viaceré domáce i zahraničné ocenenia, napr. prémii Literárneho fondu za vedeckú a odbornú literatúru (3×), Kostlivého cenu (3×), Cenu SUS za najlepšiu publikáciu roka (11×) a Slovenskej onkologickej spoločnosti (4×), Jesseniovu cenu (1×), Cenu redakcie časopisu *Klinická onkologie* (4×).

Prof. Ondruš za svoju odbornú, vedeckú i pedagogickú činnosť získal ďalšie pocty: Strieborná medaila SLS *Propter merita* (2003), Zlatá medaila SLS *Propter*

merita (2018), Bronzová medaila LF UK (2003), Strieborná medaila LF UK (2013). Pamätná medaila k 100. výročiu založenia LF UK v Bratislave (2019), Medaila k 100. výročiu založenia Spolku slovenských lekárov v Bratislave (2020).

Pri príležitosti súčasného životného jubilea oceňujúc jeho činnosť pre rozvoj fakulty udelil dekan LF UK v Bratislave prof. Ondrušovi Zlatú medailu LF UK, výbor SUS najvyššie ocenenie SUS Medailu profesora Vladimíra Zvaru a Prezídium SLS Medailu založenia Spoločnosti lekársko-slovenskej v Pešti.

Dôležitou súčasťou osobného života a práce Dalibora je jeho rodina. Jeho manželka Martina je mu oporou a inšpiráciou. Okrem vedeckého nadšenia ich

spája láska a starostlivosť o ich krásne, intelektuálne a športovo nadané dvojčičky, Martina a Dáliu. Tak ako práca, aj život prof. Ondruša sú dôkazom toho, že nadšenie a vynaložené úsilie sa nemusia odzrkadliť len v odbornom a spoločenskom uznaní, ale vedú aj k radosti a naplneniu.

Vážený pán profesor, milý Dalibor, v mene Tvojich priateľov, kolegov a spolupracovníkov Ti srdečne blahoželáme k Tvojmu životnému jubileu a úprimne prajeme Tebe a Tvojej rodine zdravie, spokojnosť a ešte veľa pracovných i osobných úspechov. Tešíme sa na ďalšiu spoluprácu.

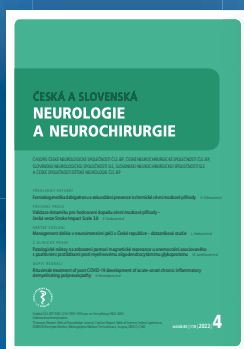
*MUDr. Bela Mriňáková, PhD., MHA, MPH
a kolektív I. onkologickej kliniky
LF UK a OÚSA v Bratislave*

Care Comm s.r.o.

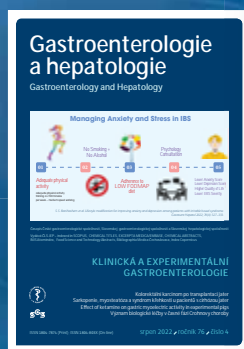
nabízí předplatné následujících odborných titulů:



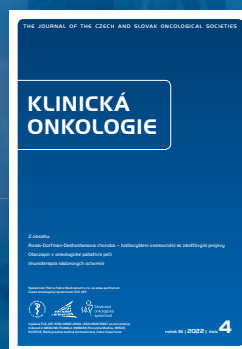
Florence
450 Kč/rok
(6 čísel)



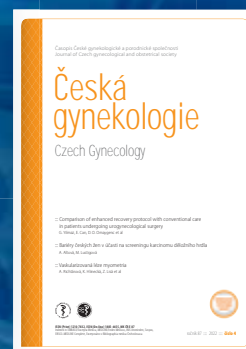
**Cesk Slov
Neurol N**
875 Kč/rok
(6 čísel)



**Gastroent
Hepatol**
600 Kč/rok
(6 čísel)



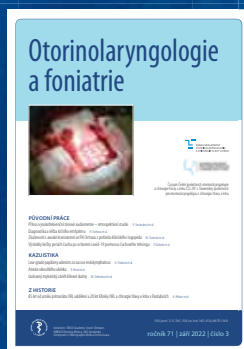
Klin Onkol
540 Kč/rok
(6 čísel)



**Ceska
Gynekol**
550 Kč/rok
(6 čísel)



**Transfuzní
Hematol Dnes**
550 Kč/rok
(4 čísla)



**Otorinolaryngol
Foniatr**
825 Kč/rok
(4 čísla)



**Acta Chir
Plast**
957 Kč/rok
(4 čísla)



**Rehabil
Fyz Lek**
600 Kč/rok
(4 čísla)

Předplatné objednávejte na predplatne@carecomm.cz.
Více informací naleznete na www.carecomm.cz.



Care Comm
we care...

ZENTIVA

VÁŠ PARTNER V ONKOLOGII A HEMATOONKOLOGII

Zentiva, k.s., marketingové oddělení
U Kabelovny 130, 102 37 Praha 10
Česká republika, www.zentiva.cz



547793/10/2022

PF 2024

AŽ VÁM NOVÝ ROK
PŘINESE VŠE, CO SI
ZE SRDCE PŘEJETE.



Care Comm
we care...

NEJVĚTŠÍ DISTRIBUTOR VAKCÍN DO ORDINACÍ

S námi máte o starost méně.



Pečujeme o Vás

- Zákaznická linka zdarma
- Objednávání online



Jsme profesionální

- Odborně a spolehlivě
- Individuální přístup



Dodáváme

- Po celé ČR
- Pravidelně a zdarma

NA TRHU
OD ROKU
2007

Objednávejte ještě dnes:



vakciny.avenier.cz

800 11 22 33





AVENIER

ELIMINUJTE DALŠÍ ZDRAVOTNÍ RIZIKA SVÝCH PACIENTŮ PŘI CESTOVÁNÍ

Při cestování do zahraničí je důležité nepodcenit přípravu a zdravotní prevenci.

Vzhledem k odlišným zdravotním rizikům v různých zemích je doporučována konzultace s lékařem o vhodné zdravotní prevenci na míru dle cílové destinace.

Doporučte svým pacientům návštěvu **očkovacího centra.**

Očkovací centra Avenier

- Odborník v oblasti očkování a cestovní medicíny
- Objednání online na čas a bez čekání
- Hlídkání termínů a účinnosti očkování
- Elektronický očkovací průkaz
- Přijímáme platební karty a poukázky



545 123 321

www.ockovacicentrum.cz

Naleznete nás po celé České republice



KLINICKÁ ONKOLOGIE

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

REDAKČNÍ RADA

Výkonná redakční rada (Brno)

vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

MUDr. Petr Čoupek
doc. MUDr. Tomáš Kazda, Ph.D.
prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.
MUDr. Ivo Kocák, Ph.D.

výkonný redaktor

prof. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

MUDr. Rudolf Nenutil, CSc.
MUDr. Jiří Novák
PharmDr. Roman Goněc
MUDr. Peter Grell, Ph.D.

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

Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno
doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc., Košice
doc. MUDr. Soňa Balogová, Ph.D., Bratislava
prof. 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. Lenka Foretová, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava
MUDr. Jana Halámková, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Igor Kiss, Ph.D., MBA, Brno
prof. MUDr. Alexandra Kolenová, Ph.D., Bratislava
doc. 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 Mladosičevičová, CSc., Bratislava
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., MPH, Bratislava
prof. Yeon Hee Park, M.D., Ph.D., Seoul
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Luděk Pour, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Jana Prausová, Ph.D., MBA, Praha
doc. MUDr. Igor Pužanov, Nashville
prof. MUDr. Lukáš Rob, 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
doc. MUDr. Michal Staník, Ph.D., Brno
MUDr. Tomáš Šálek, Ph.D., 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, Ph.D., Brusel
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha

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

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

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2023

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.

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

Odpovědná redaktorka: Ing. Petra Polsen, e-mail: petra.polsen@carecomm.cz

Grafická úprava: Karel Zlevor. Jazyková korektura: Mgr. Lucie Pokorná, Ing. Jaroslav Zámečník

Vychází 6x ročně. Předplatné na rok 2023 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá: Jan Laitl, e-mail: jan.laitl@carecomm.cz, tel. +420 725 778 001.

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

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

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

Toto číslo vychází 15. 12. 2023



Váš partner
v personalizované léčbě
onkologických pacientů

AstraZeneca 



TECENTRIQ[®]

atezolizumab

TRVALE HRAZENÁ
IMUNOTERAPIE ES-SCLC
OD 1. 11. 2023^{1,2}

Nové **5** letá data³

Zkrácená informace o přípravku TECENTRIQ 840 mg a 1200 mg koncentrát pro infuzní roztok. Účinná látka: atezolizumabum. **Indikace:** Urotelální karcinom: 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 $\geq 5\%$. Časně stadium nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC): Přípravek Tecentriq je v monoterapii indikován k adjuvantní léčbě dospělých pacientů s NSCLC s vysokým rizikem recurence onemocnění, kteří mají nádory s expresí PD-L1 na $\geq 50\%$ nádorových buněk (TC) po úplné resekci a chemoterapii na bázi platinu a kteří nemají NSCLC s aktivačními mutacemi EGFR nebo přestavbami ALK. Metastazující NSCLC: 1) Přípravek Tecentriq je jako monoterapie indikován k léčbě dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím NSCLC po předchozí chemoterapii. Pacientům s NSCLC s aktivačními mutacemi EGFR nebo přestavbami ALK má být také podávána cílená léčba před podáním atezolizumabu. 2) Přípravek Tecentriq je v kombinaci s bevacizumabem, paklitaxelem a karboplatinou indikován k první linii léčby dospělých pacientů s metastazujícím neskvamózním NSCLC. U pacientů s aktivačními mutacemi EGFR nebo přestavbami ALK je přípravek Tecentriq v kombinaci s bevacizumabem, paklitaxelem a karboplatinou indikován až po selhání vhodných možností cílené léčby. 3) Přípravek Tecentriq je v kombinaci s nab-paklitaxelem a karboplatinou indikován k první linii léčby dospělých pacientů s metastazujícím neskvamózním NSCLC. U pacientů s aktivačními mutacemi EGFR nebo přestavbami ALK je přípravek Tecentriq v kombinaci s bevacizumabem, paklitaxelem a karboplatinou indikován až po selhání vhodných možností cílené léčby. 4) Přípravek Tecentriq je jako monoterapie indikován k první linii léčby dospělých pacientů s metastazujícím nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC), kteří mají nádory s expresí PD-L1 na $\geq 50\%$ TC nebo $\geq 10\%$ na tumor infiltrujících imunitních buňkách (IC) a kteří nemají NSCLC s mutacemi EGFR nebo přestavbami ALK. Malobuněčný karcinom plic: Přípravek Tecentriq je v kombinaci s karboplatinou a etoposidem indikován k první linii léčby dospělých pacientů s extenzivním stádiem malobuněčného karcinomu plic. Triple negativní karcinom prsu: 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 po metastazující onemocnění. Hepatocelulární karcinom: Přípravek Tecentriq je v kombinaci s bevacizumabem indikován k léčbě dospělých pacientů s pokročilým nebo neresekovatelným hepatocelulárním karcinomem (HCC), kteří dosud neužívali systémovou léčbu. **Dávkování:** doporučená dávka přípravku Tecentriq je buď 840 mg podávaná intravenózně každé dva týdny, nebo 1 200 mg podávaná intravenózně každé tři týdny nebo 1 680 mg podávaná intravenózně každé čtyři týdny (bližší viz příslušný Souhrn údajů o přípravku – SPC). Při podávání přípravku Tecentriq v kombinované terapii viz také úplné informace pro předepisování kombinované terapie. **Způsob podání:** Přípravek Tecentriq je pro intravenózní podání. Infuze nesmí být podávány jako intravenózní injekce nebo bolus. Úvodní dávka 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 s neresekovatelným, pokročilým nebo metastazujícím karcinomem byli léčeni přípravkem Tecentriq, dokud nedojde ke ztrátě klinického přínosu, k progresi onemocnění nebo k nezvládnutelné toxicitě (bližší viz příslušný Souhrn údajů o přípravku – SPC). U pacientů v časném stadiu NSCLC je doporučena léčba po dobu 1 roku do recurence onemocnění nebo nepřijatelné toxicity. Snížení dávky atezolizumabu se nedoporučuje. Doporučení pro úpravu dávkování u konkrétních nežádoucích účinků naleznete v SPC. Pacienti léčení přípravkem Tecentriq v monoterapii v první linii UK, v časném stadiu NSCLC a v první linii metastazujícího NSCLC, a pacienti léčení přípravkem Tecentriq v kombinované terapii s dříve neléčeným TNBC mají být k léčbě vybráni na základě potvrzené exprese PD-L1 validovaným testem. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na atezolizumab nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Upozornění:** Z důvodu snadnější zpětné zjištění biologických léčivých přípravků má být obchodní název a číslo Sarže podávaného přípravku zřetelně zaznamenány v pacientově dokumentaci. *Byly pozorovány imunitně zprostředkované nežádoucí účinky postihující více než jeden tělesný systém.* Většina imunitně zprostředkovaných nežádoucích účinků vyskytujících se v průběhu léčby atezolizumabem byla reverzibilních při přerušení podávání atezolizumabu a zahájení léčby kortikosteroidy a/ nebo podopímé péče. Při podezření na imunitně zprostředkované nežádoucí účinky musí být provedeno důkladné posouzení za účelem potvrzení etiologie a vyloučení jiných příčin. Podle závažnosti nežádoucích účinků je třeba ukončit podávání atezolizumabu a zahájit léčbu kortikosteroidy a nebo léčbu atezolizumabem natrvalo ukončit. Podrobné informace týkající se jednotlivých imunitně zprostředkovaných nežádoucích reakcí a doporučení pro léčbu naleznete v SPC. 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. **Opatření specifická dle onemocnění: Použití atezolizumabu v kombinaci s bevacizumabem u hepatocelulárního karcinomu:** Pacienti léčení bevacizumabem mají zvýšené riziko krvácení a u hepatocelulárního karcinomu (HCC) léčených atezolizumabem v kombinaci s bevacizumabem byly hlášeny případy těžkého gastrointestinálního krvácení včetně fatálních příhod. U pacientů s HCC je před zahájením léčby kombinací atezolizumabu s bevacizumabem třeba provést screening jicnových varixů a jejich následnou léčbu dle klinické praxe. Při léčbě atezolizumabem v kombinaci s bevacizumabem se může rozvinout diabetes mellitus. Je třeba, aby lékaři před léčbou atezolizumabem v kombinaci s bevacizumabem a pravidelně během této léčby monitorovali glykémii podle klinické indikace. **Použití atezolizumabu v kombinaci s nab-paklitaxelem u metastazujícího triple negativního karcinomu prsu:** Neutropenie a periferní neuropatie vyskytující se v průběhu léčby atezolizumabem a nab-paklitaxelem mohou být reverzibilní při přerušení podávání nab-paklitaxelu. **Použití atezolizumabu v kombinaci s bevacizumabem, paklitaxelem a karboplatinou u metastazujícího neskvamózního NSCLC:** Pacienti, u kterých zobrazovací metody prokázaly zřetelnou infiltraci nádorových buněk do velkých hrudních cév nebo zřetelnou kavitaci plicních ložisek, byli vyloučeni z pilotní klinické studie IMpower150 po zjištění několika případů fatálního krvácení do plic, které je známým rizikovým faktorem léčby bevacizumabem. **Klinický 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 zprostředkovaných nežádoucích účinků po zahájení léčby atezolizumabem. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejčastějšími nežádoucími účinky ($> 10\%$) monoterapie byly únava, snížená chuť k jídlu, nauzea, vyrážka, horečka, kašel, průjem, dušnost, artralgie, astenie, pruritus, bolest zad, zvracení, infekce močových cest, bolest hlavy a sucho v ústech. Nejčastějšími nežádoucími účinky ($\geq 20\%$) atezolizumabu v kombinaci s jinými léčivými přípravky byly u pacientů s různým typem nádorů anémie, neutropenie, nauzea, únava, alopecie, vyrážka, průjem, trombocytopenie, zácpa, snížená chuť k jídlu a periferní neuropatie. Imunitně zprostředkované nežádoucí účinky, které se vyskytly u $< 10\%$ pacientů, zahrnovaly hypotyreózu. U $< 5\%$ pacientů se vyskytly: pneumonitida, kolitida, hepatitida, diabetes mellitus (u pacientů s HCC, kteří dostávali atezolizumab v kombinaci s bevacizumabem), hypertyreóza a *perikardiální poruchy. U $< 1\%$ pacientů se vyskytly: insuficience nadledvin, zánět hypofýzy, diabetes mellitus (při podání atezolizumabu v monoterapii), meningoencefalitida, neuropatie, myastenický syndrom, pankreatitida, myokarditida, nefritida, myozitida, těžké kožní nežádoucí účinky, *pareza lícního nervu a myelitida. Vzhledem k mechanismu účinku atezolizumabu se mohou objevit další potenciální imunitně zprostředkované nežádoucí účinky, včetně neinfekční cystitidy. **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 atezolizumabem vylučován do lidského mléka. Nelze vyloučit riziko pro novorozence/kojenče. 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 šedým nebo tyrkysovým plastovým odtrhávacím víčkem obsahující 14 ml nebo 20 ml koncentrátu pro infuzní roztok. Balení obsahuje 1 injekční lahvičku. **Podmínky uchování:** Uchovávejte v chladničce (2 °C – 8 °C). Chraňte před mrazem. Uchovávejte injekční lahvičku v krabici, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Držitel registračního rozhodnutí:** Roche Registration GmbH, Emil-Barell-Strasse 1, 79639 Grenzach-Wyhlen, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/17/1220/001 a EU/1/17/1220/002. **Datum registrace:** 21.09.2017. **Datum poslední úpravy textu Zkrácené informace o přípravku:** 6.10.2023. **Aktuální verze Souhrnu údajů o přípravku je dostupná na:** <https://www.roche.cz/cs/produkty-ypois.html>. **Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis.** Léčivý přípravek TECENTRIQ 1200MG INF CNC SOL 1X20ML (kód SUKL: 0222461) je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění: 1) v monoterapii k léčbě dospělých pacientů s lokálně pokročilým nebo metastazujícím NSCLC po předchozí chemoterapii, 2) v monoterapii v první linii léčby metastazujícího nemalobuněčného karcinomu plic u dospělých pacientů, jejichž nádorové elementy exprimují PD-L1 s TPS větším nebo rovným 50 %; nebo s expresí PD-L1 na $\geq 50\%$ nádorových buněk nebo $\geq 10\%$ tumor infiltrujících imunitních buněk, a kteří zároveň nejsou vhodní k léčbě pembrolizumabem v kombinaci s chemoterapií tvořenou pemtrexedem a platinovým derivátem, 3) v monoterapii k adjuvantní léčbě dospělých pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic s vysokým rizikem recurence onemocnění, jejichž nádorové elementy exprimují PD-L1 s TPS větším nebo rovným 50 %; nebo jejichž nádory vykazují expresi PD-L1 na $\geq 50\%$ nádorových buněk (TC), po úplné resekci a chemoterapii na bázi platinu, 4) v kombinaci s bevacizumabem v léčbě dospělých pacientů s pokročilým nebo neresekovatelným hepatocelulárním karcinomem s jaterní funkcí hodnocenou skóre A dle Child-Pughovy klasifikace, kteří dosud neužívali systémovou léčbu a u kterých lokoregionální léčba nepředstavuje léčebnou možnost. Léčivý přípravek TECENTRIQ 840MG INF CNC SOL 1X14ML (kód SUKL: 0238583) je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění: 1) v kombinaci s etoposidem a karboplatinou v první linii léčby dospělých pacientů s pokročilým stádiem malobuněčného karcinomu plic (ES-SCLC) Detailní podmínky úhrady viz www.sukl.cz. O úhradě v dalších indikacích zatím nebylo rozhodnuto. 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/>. Kontakt pro hlášení nežádoucích účinků: czech_republic_p_saras@roche.com. **Všimněte si, prosím, změn v informacích o léčivém přípravku.*

Reference: 1. SPC Tecentriq, aktuální znění na www.roche.cz/cs/produkty-ypois.html. 2. SUKLS49646/2023, rozhodnutí vykonatelné od 1. 11. 2023. 3. Liu et al. IMbrella A Study, WCLC 2023.

Zkratky: ES-SCLC: extenzivní stadium malobuněčného karcinomu plic.

