

# KLINICKÁ ONKOLOGIE

## Z obsahu:

Potenciál vitamínu D v adjuvantnej liečbe malígneho melanómu kože

Hodnocení klinického benefitu protinádorových léků limitovaných na komplexní onkologická centra podle metodiky ESMO-MCBS

Odmietnutie liečby v detskej onkológii





## Odmítnutí léčby v dětské onkologii

Pokroky dosažené v dětské onkologii v posledních dvaceti letech vedly k dramatickému zlepšení přežívání onkologicky nemocných dětí. V současnosti dlouhodobě přežívá více než 85 % dětských onkologických pacientů v závislosti na typu nádoru. U akutních lymfoblastických leukemií a některých solidních nádorů (retinoblastom, germinální nádory, lokalizovaný Wilmsův tumor a další) dlouhodobě přežívá více než 90 % dětí. I když toxicita aplikované protinádorové léčby v dětské onkologii není zanedbatelná, aktuálně jen minimum dětí umírá na komplikace léčby. Proto by se mohlo zdát, že rozhodování o způsobu léčby je v podstatě jednoduché a jednoznačné.

V onkologii dospělého věku je prioritou všech zainteresovaných složek respektování přání pacienta a jeho autonomie. Pokud dospělý svéprávný pacient po načerpání všech informací stran své diagnózy a možností léčby odmítne standardní onkologickou léčbu, je jeho přání plně respektováno.

V dětské onkologii je situace podstatně složitější, protože se rozhoduje o pacientovi, který vzhledem k věku není z právního pohledu svéprávný. Při rozhodování o způsobu léčby onkologicky nemocného dítěte se setkávají tři pohledy – pohled odborného lékařského a medicínského týmu, pohled rodiny dítěte a jeho rodičů jako zákonných zástupců a pohled právního systému státu. Na rozdíl od dospělých je u dětí a neplnoletých jedinců definovanou prioritou nejlepší léčebná strategie vedoucí k záchraně života dítěte nebo k významnému prodloužení života s odpovídající kvalitou života. V historii byl vztah dětských onkologů – profesionálů a rodičů/zákonných zástupců dítěte více paternální a autoritativní ze strany lékařského týmu. V současné dětské onkologii jsou rodiče/zákonní zástupci dítěte aktivně zapojeni do rozhodovacího procesu stran navrhované léčebné strategie a léčebného postupu. Americká akademie pediatrií (The Ame-

rican Academy of Pediatrics – AAP) a Mezinárodní organizace dětské onkologie (Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique – SIOP) jednoznačně doporučily společné rozhodování ošetřujících lékařů a rodičů dítěte v prevenci nedodržení či porušení léčebných postupů. Rozhodování ovlivňuje několik faktorů – typ a rozsah zhoubného onemocnění určující způsob a intenzitu navrhované léčby, toxicita léčby, věk dítěte a celková prognóza nemoci. Důležitá je nejen efektivita navrhované léčby a šance na vyléčení, ale rovněž míra rizika komplikací a pozdních následků protinádorové léčby, které mohou v budoucnu negativně ovlivnit další růst a vývoj dítěte a výrazně tak zhoršit jeho kvalitu života (poruchy růstu, endokrinní poruchy, kostní deformity, poruchy kognitivních funkcí atd.). Souhlas rodičů/zákonných zástupců nemocného dítěte je vyjádřen podepsáním informovaného souhlasu s navrhovaným léčebným postupem.

V některých případech může dojít k situaci, že rodiče/zákonní zástupci nesouhlasí s navrhovanou standardní protinádorovou léčbou a odmítnou ji. Mezi nejčastější důvody odmítnutí standardní léčby patří nedůvěra rodičů vůči zdravotnímu systému jako celku nebo vůči konkrétní nemocnici či konkrétnímu lékaři, špatné předchozí zkušenosti s onkologickou léčbou v rodině nebo u známých, strach z podání chemoterapie (nebo radioterapie) a preferování alternativní léčby nebo religiózní důvody (např. svědci Jehovovi). Nutno říci, že rodiče činí toto těžké rozhodování v emočně velmi vypjaté a extrémně stresové situaci, kdy byli informováni o potenciálně smrtelném onemocnění svého dítěte. Proto by přístup k rodičům a jejich informování měly respektovat jejich psychický stav a rozpoložení. Doporučuje se informovat rodinu pacienta v tiché, uklidňující atmosféře v samostatném pokoji, aby nedošlo k vyrušování jinými osobami, doporučujeme informovat vždy oba rodiče současně,

aby se mohli vzájemně podpořit. Informace vyžaduje čas, nutno respektovat i opakované dotazy rodičů. Vhodná je obrazová či radiologická dokumentace. Při informování o způsobu léčby rodiče obdrží kopii léčebného schématu a jsou informováni o možné akutní toxicitě či jejích pozdních následcích. Informace o prognóze je součástí vstupního pohovoru. Rodiče by měli být ubezpečeni, že pokud to budou vyžadovat, lze pohovor kdykoli zopakovat nebo zažádat o vyjádření druhého názoru z jiného pracoviště. K úspěšné léčbě dětských onkologických pacientů je nutná plná důvěra nejen rodiny/zákonných zástupců, ale i samotných dětských pacientů. Ti jsou rovněž informováni o své nemoci a léčbě způsobem přiměřeným jejich věku.

Při citlivém, trpělivém a profesionálním přístupu jsou případy odmítnutí standardní onkologické léčby v dětské onkologii jen vzácné. Obě organizace – AAP a SIOP – doporučují právní intervenci v případě rozhodnutí rodičů, které vede k ohrožení zdraví či života dítěte.

Právní systém v ČR upravuje podání medicínské léčby dle zákona č. 372/2011 Sbírky o zdravotních službách. Pokud rodiče/zákonní zástupci dítěte iniciálně odmítají léčbu, většinou svůj názor změňí buď po opakovaných pohovorech, nebo po změně ošetřujícího lékaře nebo onkologického pracoviště a dále s profesionálním medicínským týmem spolupracují. Trvalé odmítání standardní léčby je v dětské onkologii v našich podmínkách velmi vzácné (na Klinice dětské onkologie FN Brno za 20 let z 2 500 pacientů pouze rodiče 3 dětí vytrvale odmítali onkologickou léčbu) a v zájmu zdraví a života dítěte vede k právní intervenci a dočasnému odebrání rodičovských práv soudní cestou. Je to skutečně až poslední krok, který výrazně stresuje všechny zainteresované – tedy nejen rodiče/zákonné zástupce a okolí rodiny, ale i nemocné dítě, lékaře a zdravotnický personál a rozhodně nevede ke zlepšení vzájemných vztahů. Proto se snažíme

tomuto meznímu rozhodnutí pokud možno vyhnout.

Odmítnutí standardní léčby v dětské onkologii je velmi vzácný, avšak velmi závažný jev. Lze mu předcházet citlivým zodpovědným a profesionálním přístu-

pem k nemocným pacientům a jejich rodinám, zapojit do spolupráce psychology, rodičovské organizace a organizace vyléčených dětských onkologických pacientů (childhood cancer survivors), kteří mohou pomoci pacientům a jejich rodičům zvládnout

nout iniciální emoční stres a dále spolupracovat ve společném úsilí zvládnout zhoubné onemocnění u jejich dítěte.

*MUDr. Viera Bajčiová, CSc.  
Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno*

Redakce časopisu **Klinická onkologie** vypisuje

# SOUTĚŽ O NEJLEPŠÍ PRÁCI

v kategoriích:

**Původní práce**  
**Přehled**  
**Kazuistika**

## **Podmínky soutěže:**

1. Do soutěže budou automaticky zařazeny všechny práce publikované v řádných číslech v roce 2017.
2. Práce budou hodnoceny členy redakční rady.
3. Hlavními kritérii hodnocení budou odborná úroveň, originalita a přínos zveřejněných údajů.
4. Výsledky soutěže budou vyhlášeny v časopise *Klinická onkologie* 1/2018.

**Nejlepší práce v každé kategorii bude oceněna částkou 10 000 Kč.**

Instrukce pro autory naleznete na internetových stránkách České onkologické společnosti ČLS JEP [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz) nebo na stránkách [www.klinickaonkologie.cz](http://www.klinickaonkologie.cz).  
Dotazy můžete zasílat na adresu [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz) a své příspěvky vkládat do redakčního systému časopisu *Klinická onkologie* <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>.

## **Proč publikovat v časopise *Klinická onkologie*?**

Vaše práce budou dohledatelné ve 4 renomovaných světových bibliografických databázích MEDLINE/PubMed, EMBASE/Excerpta Medica, SCOPUS, Index Copernicus a tuzemské databázi Bibliographia medica čechoslovaca.

Vaše práce budou uznávány při hodnocení grantů, pro obhajoby doktorského studia a pro habilitační a profesorské řízení.

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

Partner





**NAVELBINE®** Oral  
vinorelbine

**OD PRVNÍ LINIE**

**Kontrola onemocnění<sup>1-5</sup>**  
**Vzácně kumulativní toxicita<sup>1-2</sup>**  
**Kvalita života<sup>1-7</sup>**

## ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU: NAVELBINE ORAL 20 MG, NAVELBINE ORAL 30 MG

**SLOŽENÍ:** Vinorelbium 20 mg, resp. 30 mg jako vinorelbini ditartras v jedné měkké tobolce. **INDIKACE:** Nemalobuněčný bronchogenní karcinom; karcinom prsu v pokročilém stádiu/ABC. **DÁVKOVÁNÍ V MONOTERAPII:** Doporučené dávkování pro první tři podání je 60 mg/m<sup>2</sup> jedenkrát týdně. Po třetím podání se doporučuje zvýšit dávku na 80 mg/m<sup>2</sup> jedenkrát týdně. Úprava dávky při poklesu neutrofilů je popsána v SPC. **DÁVKOVÁNÍ PRO KOMBINOVANOU LÉČBU:** Pro střídání intravenózní a perorální formy podání platí, že orální dávka 80 mg/m<sup>2</sup> odpovídá intravenózní dávce 30 mg/m<sup>2</sup> a orální dávka 60 mg/m<sup>2</sup> odpovídá intravenózní 25 mg/m<sup>2</sup>. Při dávkování 60 mg/m<sup>2</sup> nemá celková týdenní dávka překročit 120 mg; při dávkování 80 mg/m<sup>2</sup> nemá překročit 160 mg/týden. Přípravek se užívá pouze perorálně. Doporučuje se užívat tobolky během jídla. Bezpečnost a účinnost u dětí nebyla stanovena, podávání se proto nedoporučuje. Dávkování u starších osob, osob s poruchou funkce jater a ledvin popisuje SPC. **KONTRAINDIKACE:** Hypersensitivita na vinorelbin nebo vinca alkaloidy či pomocné látky; poruchy vstřebávání včetně resekce žaludku nebo tenkého střeva; počet neutrofilů pod 1500/mm<sup>3</sup>; počet trombocytů pod 100000/mm<sup>3</sup>, těhotenství, kojení, pacienti s dlouhodobou léčbou kyslíkem, v kombinaci s vakcínou proti žluté zimnici. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ A OPATŘENÍ PRO POUŽITÍ:** Obsah tobolky je dráždivý, při neúmyslném rozžvýkání je třeba vypláchnout ústa. Úprava dávky při změně hematologických parametrů a/nebo komorbiditách je specifikována v SPC. **INTERAKCE:** Oslabené živé vakcíny (vakcína proti žluté zimnici kontraindikována), fenytoin (riziko křečí), itraconazol (neurotoxicita), mitomycin C (bronchospasmus), přípravky s myelotoxickým působením. Podrobně v SPC přípravku Navelbine oral. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** Uvádíme velmi časté (≥1/10): bakteriální, virové nebo mykotické infekce; útlum kostní dřeně s neutropenií, anemií, leukopenií a/nebo trombocytopenií; neurosensorické poruchy; nauzea, zvracení, průjem a další gastrointestinální poruchy; alopecie; únava, malátnost, horečka; úbytek tělesné hmotnosti. Hlášení podezření na nežádoucí účinek prosím proveďte na [www.sukl.cz/nahlasit-nezadouci-ucinek](http://www.sukl.cz/nahlasit-nezadouci-ucinek). Další údaje viz SPC. **ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ PRO UCHOVÁVÁNÍ:** Uchovávejte v chladničce při teplotě 2 °C až 8 °C. Chraňte před světlem. **VELIKOST BALENÍ:** 1 tobolka 20 mg; jedna tobolka 30 mg. **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Pierre Fabre Medicament; Boulogne, Francie **REGISTRAČNÍ ČÍSLO:** Navelbine Oral 20 mg: 44/238/02-C; Navelbine Oral 30 mg: 44/239/02-C. **DATUM POSLEDNÍ REVIZE TEXTU:** 30. 4. 2014. Před použitím přípravku se seznamte s úplným Souhrnem údajů o přípravku, který získáte buď na [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz) nebo na adrese: Pierre Fabre Medicament s.r.o., Prosecká 64/851, 190 00 Praha 9. Farmakovigilanční servis 24H/7D: +420 286 004 111; e-mail: [info.cz@pierre-fabre.com](mailto:info.cz@pierre-fabre.com) **ZPŮSOB VÝDEJE:** Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis. **ZPŮSOB ÚHRADY:** Přípravek je částečně hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění (základní úhrada) a hrazen ve druhé zvýšené úhradě, viz [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz).



**Pierre Fabre  
Oncology**

# Obsah | Contents

## Editorial

**Odmítnutí léčby v dětské onkologii** 319

## PŘEHLEDY | REVIEWS

**Potenciál vitamínu D v adjuvantnej liečbe malígneho melanómu kože** 327

Potential of Using Vitamin D as an Adjuvant Treatment of Malignant Melanoma  
Bolerázka B., Ďurovcová E., Mareková M.

**Kontroverze v pooperační léčbě low-grade gliomů** 337

Controversy in the Postoperative Treatment of Low-grade Gliomas  
Kazda T., Lakomý R., Poprach A., Pospíšil P., Jančálek R., Šlampa P.

**Postavení chemoterapie v pooperační léčbě low-grade gliomů** 343

The Role of Chemotherapy in the Treatment of Low-grade Gliomas  
Lakomý R., Kazda T., Poprach A., Pospíšil P., Jančálek R., Šlampa P.

## PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

**Hodnocení klinického benefitu protinádorových léků limitovaných na komplexní onkologická centra podle metodiky ESMO-MCBS** 349

Evaluation of Anti-cancer Therapies with Reimbursement Limited to Comprehensive Cancer Centres Using the European Society for Medical Oncology Magnitude of Clinical Benefit Scale  
Büchler T., Melichar B., Vrána D., Lemstrová R., Fínek J., Dušek L., Petráková K., Prausová J.

**Isocitrate Dehydrogenase Mutations are Better Prognostic Marker than O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA Methyltransferase Promoter Methylation in Glioblastomas – a Retrospective, Single-centre Molecular Genetics Study of Gliomas** 361

Mutace isocitrátdehydrogenázy jsou lepší prognostický marker než metylace promotoru O<sup>6</sup>-methylguanin-DNA-metyltransferázy u glioblastomů – retrospektivní molekulárně genetická studie gliomů z jednoho centra  
Houdova Megova M., Drabek J., Dwight Z., Trojanec R., Koudelakova V., Vrbkova J., Kalita O., Mlcochova S., Rabcanova M., Hajduch M.

**The Anti-apoptotic Mechanism of Metformin Against Apoptosis Induced by Ionizing Radiation in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells** 372

Anti-apoptotický mechanismus metforminu proti apoptóze indukované ionizujícím zářením v mononukleárních buňkách lidské periferní krve  
Kolivand S., Motevaseli E., Cheki M., Mahmoudzadeh A., Shirazi A., Fait V.

**KAZUISTIKY | CASE REPORTS**

**Odmietnutie liečby v detskej onkológii**

**380**

Treatment Refusal in Pediatric Oncology

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

**AKTUALITY Z ODBORNÉHO TISKU | REPORTS FROM THE LITERATURE**

**387**

**RÚZNÉ | VARIOUS**

**Onkologie v obrazech**

**391**

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





# Somatuline® Autogel® 120 mg

## DRŽTE PROGRESI NA UZDĚ

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



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

\* Somatostatinový analog; \*\* neuroendokrinních tumorů

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

#### Zkrácená informace o přípravku:

**Název přípravku:** Somatuline Autogel 60mg, 90mg, 120mg. **Kvalitativní a kvantitativní složení:** Lanreotidum 60mg, 90mg, 120mg (jako lanreotidi acetat). Každá předplněná strikačka obsahuje supermasycený roztok lanreotid acetátu, odpovídající 0,246mg báze lanreotidu/mg roztoku, který zajišťuje podání dávky 60mg, 90mg nebo 120mg lanreotidu. **Terapeutické indikace:** Dlouhodobá léčba pacientů s akromegalíí, kde hladiny GH a/nebo IGF-1 zůstávají abnormální po chirurgické léčbě a/nebo radioterapii a u pacientů, pro které není chirurgická léčba a/nebo radioterapie možností volby. Úleva od příznaků spojených s akromegalíí. Léčba symptomů spojených s neuroendokrinními tumory. **\*Léčba gastroenteropankreatických neuroendokrinních nádorů (GEP-NETS) stupně 1 a podskupiny stupně 2 (index Ki67 až do 10%) středního střeva, pankreatu nebo s neznámou lokalizací, u kterých byl vyloučen původ v zadním střevě, u dospělých pacientů s inoperabilním lokálně pokročilým nebo metastatickým onemocněním. Dávkování a způsob podání:** 60mg, 90mg nebo 120mg každých 28 dnů formou hluboké subkutánní injekce do hýždí. U pacientů léčených pro akromegalii nebo symptomy související s neuroendokrinními tumory, může být podán buď pacientem, nebo poučenou osobou. V případě samoinjekce by měla být injekce podána do horní zevní části stehna. **Kontraindikace:** Přecitlivělost na somatostatin nebo příbuzné peptidy nebo na kteroukoliv pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Lanreotid může snižovat motilitu žlučníku a vést ke vzniku žlučových kamenů. Pacienti by měli být pravidelně sledováni. Podle farmakologické studie u zvířat a u lidí může způsobit přechodnou inhibici sekrece inzulinu a glukagonu. Proto se může u diabetiků, léčených přípravkem Somatuline Autogel, objevit hypoglykémie nebo hyperglykémie. Je třeba kontrolovat hladinu glukózy v krvi. U akromegalických pacientů bylo pozorováno mírné snížení funkce štítné žlázy. U pacientů bez kardiálních problémů může vést lanreotid ke snížení pulsové frekvence. U pacientů trpících na srdeční poruchy před léčbou lanreotidem se může objevit sinusová bradykardie. Pozornosti je třeba, pokud se zahajuje léčba lanreotidem u pacientů s bradykardií. **Interakce:** Souběžné podání injekce lanreotidu s cyclosporinem může snížit hladinu cyclosporinu v krvi, z toho důvodu je třeba hladinu cyclosporinu v krvi monitorovat. **Farmakodynamické vlastnosti:** \*Randomizovaná, dvojitě zaslepená, multicentrická, placebem kontrolovaná studie fáze III s fixní dobou trvání 96 týdnů s přípravkem Somatuline Autogel byla provedena u pacientů s gastroenteropankreatickými neuroendokrinními tumory za účelem hodnocení antiproliferativního účinku lanreotidu. Pacienti měli metastatické a/nebo lokálně pokročilé inoperabilní onemocnění s histologicky potvrzeným dobře nebo středně dobře diferencovaným tumorem primárně lokalizovaným v pankreatu (44,6% pacientů), středním střevě (35,8%), zadním střevě (6,9%) nebo jiné/neznámé primární lokalizaci (12,7%). Primárním cílem bylo přežití bez progresse (PFS) měřeno buď jako doba do progresse dle RECIST 1.0 nebo doba do úmrtí během 96 týdnů od prvního podání léčby. Analýza PFS využila nezávislého centrálního hodnoceního radiologického hodnocení progresse. **Lanreotid, ve srovnání s placebem, významně prodloužil přežití bez progresse** (medián nebyl dosažen vs. medián 18,0 měsíců;  $p < 0,001$  podle stratifikovaného log-rank testu; **poměrem rizik progresse nebo úmrtí 0,47** s 95% intervalem spolehlivosti [confidence interval, CI] 0,30–0,73. Příznivý účinek lanreotidu na snížení rizika progresse nebo úmrtí byl konzistentní bez ohledu na lokalizaci primárního nádoru, nálož tumoru v játrech, předchozí chemoterapii, počáteční Ki67, stupeň tumoru nebo dalších předem specifikovaných vlastnostech. V otevřené studii byl Somatuline Autogel 120mg podáván každých 28 dní po dobu 48 týdnů 90-11 dosud neléčeným akromegalickým pacientům s diagnostikovaným hypofyzárním makroadenomem. Pacienti, u kterých se v průběhu trvání studie očekávala potřeba operace hypofýzy nebo radioterapie, byli vyloučeni. Zátímco počet pacientů, kteří dosáhli požadovaných hodnot, nedosáhl statistické významnosti, u 56/89 pacientů (63%–95% CI: 52%–73%) bylo v týdnu 48 pozorováno klinicky významné zmenšení objemu tumoru o  $\geq 20\%$ . Zmenšení o méně než 20% bylo získáno u 24/89 pacientů (27%) a zvětšení objemu tumoru bylo pozorováno u 9/89 pacientů (10%). V týdnu 48 bylo průměrné procentuální zmenšení objemu tumoru 26,8%. Při počátečním vyšetření byly hladiny růstového hormonu  $\leq 2,5 \mu\text{g/l}$  u 13 (14,4%) pacientů a hladiny IGF-1 byly v normálním rozsahu u 1 (1,1%) pacienta. V týdnu 48 byly hladiny růstového hormonu pod  $2,5 \mu\text{g/l}$  u 77,8% pacientů a hladiny IGF-1 byly normalizovány u 50%. Normalizované hladiny IGF-1 se současnou hladinou růstového hormonu pod  $2,5 \mu\text{g/l}$  byly pozorovány u 43,5% pacientů. Většina pacientů hlásila zřetelnou úlevu od symptomů akromegalie jako je bolest hlavy (38,7%), únava (56,5%), nadměrné pocení (66,1%), artralgie (59,7%) a otoky měkkých tkání (66,1%). Snížení objemu tumoru stejně jako hladin růstového hormonu a IGF-1 bylo pozorováno od 12. až do 48. týdne. **\*Nežádoucí účinky:** Velmi časté nežádoucí účinky: průjem, řídká stolice, bolest břicha, cholelitiáza. **Zvláštní opatření pro uchování:** Uchovávejte při teplotě 2°C–8°C (v chladničce) v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Ipsen Pharma, Boulogne Billancourt, Francie. **Registrační číslo:** 56/002/03-C, 56/003/03-C, 56/004/03-C. **Datum registrace/prodloužení registrace:** 8. 1. 2003/23. 9. 2009. **Datum poslední revize textu:** 27. 2. 2015.

\*Prosím, všimněte si změny textu SPC.

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

**IPSEN**  
Innovation for patient care

**aifp**  
Asociace inovativního  
farmaceutického průmyslu

**Somatuline® autogel®**  
lanreotid

# OPDIVO® dává šanci více pacientům

# OPDIVO® (nivolumab)



pacientům s pokročilým maligním melanomem<sup>1,2,3</sup>



předlčeným pacientům s pokročilým NSCLC<sup>3,4,5</sup>



předlčeným pacientům s pokročilým renálním karcinomem<sup>3,6</sup>



pacientům s recidivujícím nebo rezistentním Hodgkinovým lymfomem po předchozí léčbě (ASCT a brentuximab vedotin)<sup>3,7,8</sup>



pacientům se SCCHN, kteří progredují při nebo po předchozí léčbě platinovými deriváty<sup>3,9</sup>



pacientům s pokročilým nebo metastazujícím uroteliálním karcinomem po selhání léčby platinovými deriváty<sup>3,10</sup>

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

## ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

**Název přípravku:** OPDIVO 10 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok

**Kvalitativní a kvantitativní složení:** Nivolumabum 10 mg v 1 ml koncentrátu. **Indikace:**\* Melanom: v monoterapii/kombinaci s ipilimumabem u pokročilého (neresekovatelného nebo metastatického) melanomu u dospělých. Nematobuněčný karcinom plic (NSCLC): monoterapie lokálně pokročilého nebo metastatického NSCLC po předchozí chemoterapii u dospělých. Renální karcinom (RCC): monoterapie pokročilého RCC po předchozí terapii u dospělých. Klasický Hodgkinův lymfom (cHL): monoterapie recidivujícího nebo rezistentního cHL po autologní transplantaci kmenových buněk (ASCT) a léčbě brentuximab vedotinem. Skvamózní karcinom hlavy a krku (SCCHN): monoterapie SCCHN progredujícího při nebo po léčbě platinovými deriváty u dospělých. Uroteliální karcinom (UC): monoterapie lokálně pokročilého neresekovatelného nebo metastazujícího UC u dospělých po selhání léčby platinovými deriváty. **Dávkování:** Monoterapie: dávka 3 mg/kg i.v. infuzí (60 minut) každé 2 týdny; kombinace s ipilimumabem: 1 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí (60 minut) s ipilimumabem 3 mg/kg i.v. infuzí (90 minut) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab i.v. infuzí (60 minut) každé 2 týdny. Léčba pokračuje, dokud je pozorován klinický přínos nebo dokud ji pacient snáší. **Způsob podání:** Pouze k i.v. podání, jako i.v. infuze (60 minut).

**Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:**\* Nivolumab je spojen s imunitně podmíněnými nežádoucími účinky. Pacienti mají být průběžně sledováni (min. do 5 měsíců po poslední dávce). Podle závažnosti NÚ se nivolumab vysadí a podají se kortikosteroidy. Po zlepšení se musí dávka kortikosteroidů snižovat postupně po dobu min. 1 měsíce. V případě závažných, opakujících se nebo jakýchkoli život ohrožujících imunitně podmíněných NÚ musí být nivolumab trvale vysazen. U pacientů s výchozím ECOG  $\geq 2$ , s aktivními mozgovými metastázami, očním melanomem, autoimunitním onemocněním, symptomatickým intersticiálním plicním onemocněním a u pacientů, kteří již užívali systémová imunosupresiva, je třeba přípravek používat jen s opatrností. **Interakce:** Nivolumab je humánní monoklonální protilátka, a nepředpokládá se, že inhibice nebo indukce enzymů cytochromu P450 (CYP) nebo jiných enzymů metabolizujících léky současně podávanými přípravky bude mít dopad na jeho farmakokinetiku. Vzhledem k potenciální interferenci systémových kortikosteroidů nebo jiných imunosupresiv s farmakodynamikou nivolumabu je třeba se jejich podávání na počátku, před zahájením léčby, vyhnout. Lze je nicméně použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků. **Těhotenství a kojení:** Nivolumab se nedoporučuje během těhotenství a fertilním ženám, které nepoužívají účinnou antikoncepci, pokud klinický přínos nepřevyšuje možné riziko. Není známo, zda se nivolumab vylučuje do mateřského mléka. **Nežádoucí účinky:**\* **Velmi časté:** neutropenie, únava, vyrážka, svědění, průjem a nauzea, zvýšení AST, ALT, alkalické fosfatázy, lipázy, amylázy, kreatininu, hypokalcémie, lymfopenie, leukopenie, trombocytopenie, anemie, hyperkalcémie, hypokalcémie, hypomagnezémie, hyponatremie; u kombinace s ipilimumabem i hypotyreóza, bolest hlavy, dušnost, kolitida, zvracení, bolest břicha, artralgie, horečka, a zvýšený celkový bilirubin. Další podrobnosti k NÚ, zvláště imunitně podmíněným, viz SPC. **Předávkování:** V případě předávkování musí být pacienti pečlivě monitorováni s ohledem na příznaky nežádoucích účinků a musí se okamžitě zahájit vhodná symptomatická léčba. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C – 8 °C) v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. Chraňte před mrazem. **Balení:** 4 ml nebo 10 ml koncentrátu v 10ml injekční lahvičce s uzávěrem a tmavě modrým, resp. šedým odklápacím uzávěrem. **Velikost balení:** 1 injekční lahvička. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bristol-Myers Squibb EEIG, Bristol-Myers-Squibb House, Uxbridge Business Park, Sanderson Road, Uxbridge, Middlesex UB8 1DH, Velká Británie. **Registrační číslo:** EU/1/15/1014/001-002. **Datum první registrace:** 19. 6. 2015. **Datum poslední revize textu:** září 2017.

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z veřejného zdravotního pojištění v indikaci pokročilý maligní melanom v monoterapii a s účinností od 1. 10. 2017 také v indikaci pokročilý renální karcinom. Podrobné informace o tomto přípravku jsou dostupné na adrese zástupce držitele rozhodnutí o registraci v ČR: Bristol-Myers Squibb spol. s r.o., Budějovická 778/3, 140 00 Praha 4, www.b-ms.cz. Před předepsáním se seznamte s úplnou informací o přípravku.

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

1. Weber JS, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment: a randomized, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015;16:375-84. 2. Robert C, et al. Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation. *N Engl J Med* 2015;372:320-30. 3. Opdivo® Souhrn údajů o přípravku, 2017. 4. Brahmer J, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373(2):123-35. 5. Borghaei H, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015;373(17):1627-39. 6. Motzer JR, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 2015;373:1803-1813. 7. Ansell SM, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *NEJM* 2015;372(4):311-9. 8. Younes A, et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem-cell transplantation and brentuximab vedotin: a multicentre, multicohort, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(9):1283-94. 9. Ferris RL, Blumenschein C Jr, Fayette J, et al. Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *NEJM* 2016;375(19):1856-1867. 10. Sharma P, et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicenter single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017;18:312-22.

# Potenciál vitamínu D v adjuvantnej liečbe malígneho melanómu kože

## Potential of Using Vitamin D as an Adjuvant Treatment of Malignant Melanoma

Bolerázka B.<sup>1,2</sup>, Ďurovcová E.<sup>1,2</sup>, Mareková M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav lekárskej a klinickej biochémie, LF UPJŠ v Košiciach, Slovenská republika

<sup>2</sup> Oddelenie klinickej biochémie, Medirex, a.s., Košice, Slovenská republika

### Súhrn

Výskyt malígneho melanómu celosvetovo neustále rastie, a to aj napriek obrovskému pokroku v lokálnej a systémovej terapii. Objektívny nárast výskytu sponchýbňuje stabilná až relatívne klesajúca úmrtnosť na toto ochorenie a skutočnosť, že tento nárast je pravidelne zaznamenaný v krajinách, v ktorých na podnet verejných kampaní dochádza častejšie k dermatologickému vyšetreniu a následnému ošetrovaniu. K dobre známym rizikovým faktorom pre vznik malígneho melanómu patrí spálenie a občasné nepravidelné slnenie, avšak pri pravidelnom slnení bol zaznamenaný výskyt práve naopak nižší. Expozícia slnečnému žiareniu má za následok okrem možného poškodenia DNA buniek aj syntézu vitamínu D (cholecalciferol) v koži a tá je zodpovedná za viac ako 90 % z hodnoty sérovej hladiny cirkulujúceho kalcidiolu (25(OH)D). Súčasné kultúrne normy (oblekanie, práca v interiéri, vyhýbanie sa slnku, výber stravy) túto hladinu ovplyvňujú, čo má za následok značné ochudobnenie dnešnej modernej spoločnosti o tento vitamín. Neustále sa objavujú údaje o tom, že mortalita v dôsledku nádorových ochorení môže byť znížená miernou nechránenou expozíciou UV žiarenia alebo orálnou substitúciou vitamínom D. U viacerých typov nádorov (napr. nádory hrubého čreva, prostaty, prsníka) sa preukázalo, že suplementácia vitamínom D alebo alternatíva vo forme expozície UV žiarenia môže byť považovaná za adjuvans v liečbe nádorového ochorenia. Východiskom pre predpoklad účinku vitamínu D taktiež u malígneho melanómu sú jeho nekalcemické účinky, ktoré sa uplatňujú systémovo a v koži navyše vďaka jedinečnej schopnosti keratinocytov syntetizovať aktívnu formu vitamínu D aj lokálne.

### Kľúčové slová

malígný melanóm – vitamín D – adjuvantná liečba – klinická onkológia

### Summary

The incidence of malignant melanoma worldwide continues to grow despite the enormous advances in topical and systemic therapy. This increase is recorded regularly even in countries where, as a result of public health campaigns, dermatological examination and subsequent treatment have become more frequent. However, there have been reports of a stable or even decreasing mortality rate that seem to contradict the objective increase in its incidence. The well-known risk factors for malignant melanoma include sunburns and occasional sunbathing, whereas regular sunbathing is associated with a lower incidence. Besides DNA damage, exposure to the sun also results in the synthesis of vitamin D (cholecalciferol) in the skin, which contributes to over 90% of circulating Calcidiol (25(OH)D) in serum. Current cultural norms (dressing, working indoors, avoiding sun exposure, and dietary choices) affect the serum vitamin D level, resulting in severely low serum levels of vitamin D in some sectors of today's society. Emerging data suggests that mild, unprotected exposure to UV radiation or dietary supplementation with oral vitamin D can reduce cancer mortality. Supplementation with vitamin D or alternatively UV exposure may be regarded as an adjuvant for the treatment of many types of tumors (e. g. tumors of the colon, prostate, and breast). The effect of vitamin D on malignant melanoma may be due to its non-calcemic systemic effects. Additionally, vitamin D may have more pronounced effects locally in the skin because of the unique ability of keratinocytes to synthesize the active form of vitamin D.

### Key words

malignant melanoma – vitamin D – adjuvant treatment therapy – clinical oncology

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

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

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

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



**MUDr. Beáta Bolerázka**  
Ústav lekárskej a klinickej biochémie  
LF UPJŠ v Košiciach  
Trieda SNP 1  
040 01 Košice  
Slovenská republika  
e-mail: beata@moly.sk

Obdržané/Submitted: 7. 10. 2016

Prijaté/Accepted: 26. 7. 2017

doi: 10.14735/amko2017327

**Úvod**

Doteraz najúčinnjšou liečbou malígneho melanómu (MM) je jednoznačne chirurgické odstránenie neoplastických lézií. Konzervatívna liečba u tohto ochorenia prešla v priebehu 30 rokov výraznými zmenami od jedného cytotoxického chemoterapeutika k imunoterapii a až k cielej molekulovej liečbe signálnymi inhibítormi, na ktoré sú kladené v súčasnosti najväčšie očakávania. Najvýraznejšie pokroky boli zaznamenané v liečbe pokročilejších štádií MM, predovšetkým ako dôsledok pokroku v oblasti nádorovej bunkovej biológie, imunológie, chirurgických techník, rádiokirurgie, ale aj zobrazovacích metód [1]. Vedecko-výskumné výsledky dosiahnuté pri štúdiu MM nielen vo vyššie spomínaných oblastiach budú pravdepodobne aj ďalej prispievať k pozitívnym zmenám v diagnostike i liečbe MM.

Adjuvantná liečba slúži vo všeobecnosti na redukciiu rizika relapsu u pacientov, u ktorých po chirurgickej liečbe je už ochorenie dostupnými prostriedkami nedetegovateľné. Táto forma liečby je vykonávaná u MM, ale aj u iných solídnych nádorových ochorení u pacientov po chirurgickej terapii bez príznakov ochorenia a jej cieľom sú možné mikrometastázy. Napriek rapidným zmenám v liečebných postupoch zostáva toto ochorenie stále pre mnohých pacientov neliečiteľné, a preto je MM stále v pozornosti vedecko-výskumných kolektívov na celom svete. Veľa nedávnych štúdií poukazuje na vzťah medzi nedostatkom vitamínu D a vznikom i priebehom nádorových ochorení. Mnohé štúdie analyzujú aj jeho vplyv na mortalitu [2,3]. Nie je teda prekvapujúce, že pribúdajú tiež štúdie poukazujúce na to, že vývoj MM môže byť spojený s nedostatkom vitamínu D alebo

poruchami jeho signálnej cesty [4,5]. Vysvetlenie sa hľadá v stále sa rozširujúcich poznatkoch o nekalcemických účinkoch vitamínu D, ku ktorým patrí napr. regulácia rastu, opráv DNA, diferenciácie, apoptózy, membránového transportu, bunkovej adhézie či oxidačného stresu. V kontexte s non-kalcemickými účinkami vitamínu D sa v súčasnej dobe zvažuje aj adjuvantná liečba vitamínom D u pacientov s diagnózou MM, od ktorej sa očakáva zníženie nádorovej invázivnosti a mikrometastázovania, a tým zlepšenie prognózy pacienta a zníženie rizika recidívy [6]. Základná terminológia vitamínu D je uvedená v tab. 1.

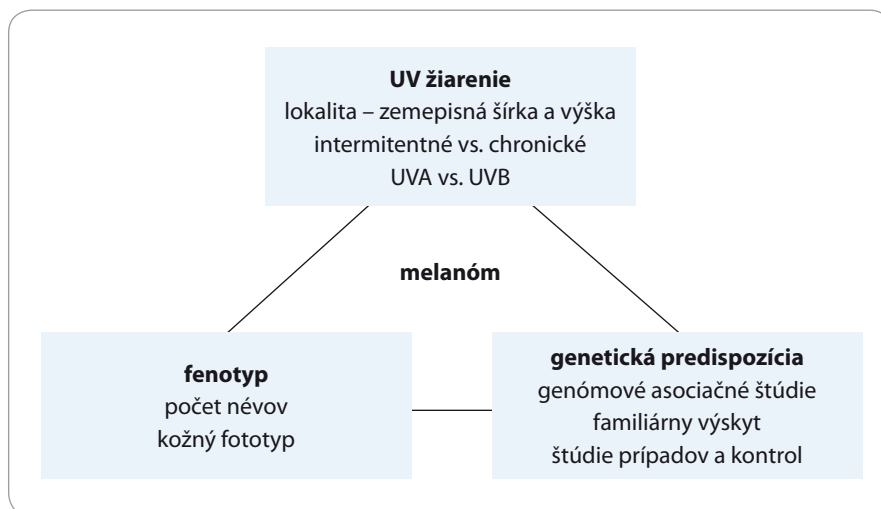
**Malígný melanóm**

Najrozšírenejšou aktuálnou hypotézou vzniku MM je vývoj v dôsledku spálenia u ľudí, ktorí prevažnú väčšinu času trávajú v interiéri a počas dovolenky sú vystavení nadmernému slneniu [7–9]. To má za následok lokálne poškodenie DNA a imunosupresiu, čo vedie s odstupom času k zvýšeniu rizika vzniku MM na intermitentne zakrytých častiach tela [10,11]. Väčšina MM vzniká ako nová lézia (z rezidentných melanocytov v koži), aj keď významný podiel (25–40 %) majú MM vznikajúce z už existujúcich névov. Základný komplex interakcií uplatňujúcich sa pri vzniku MM zobrazuje schéma 1. Najvyšší prínos pre včasné odhalenie choroby prináša klinické celotelové vyšetrenie pleti.

Výsledkom diferenciácie a migrácie melanocytov, ktoré sú podmienené pohlavím, je častejší výskyt névov u mužov na trupe a u žien na nohách a túto distribúciu névov je možné pozorovať už u malých detí [12]. Podobne aj rozloženie typov névov nie je náhodné. Napr. zrelé intradermálne névy majúce nízky potenciál pre malígnu transformáciu sa vo všeobecnosti nachádzajú bežne napr. na tvári, ale zriedkavo na končatinách. Na druhej strane junkčné a atypické névy, ktoré sú viac nestabilné, čo sa týka rizika vzniku MM, sa veľmi zriedkavo nachádzajú na tvári, ale pravidelne na tele a proximálnych častiach končatín [13]. Špecifická génová expresia v melanocytoch v rôznych častiach tela je pravdepodobne kľúčom k vysvetleniu týchto pozorovaní. Podobne aj loka-

**Tab. 1. Terminológia vitamínu D, ekvivalenty, skratky a synonymá.**  
Upravené podľa [94].

| Ekvivalenty          | Skratky a synonymá   |
|----------------------|--|
| vitamín D            | 25 hydroxyvitamín D – 25(OH)D – kalcidiol                      |
| 1 µg = 2,5 nmol      | 1,25 dihydroxyvitamín D – 1,25(OH) <sub>2</sub> D – kalcitriol |
| 1 µg = 40 IU         | vitamín D – kalciferol   |
| plazmatický 25(OH)D  | vitamín D <sub>3</sub> – cholekalciferol                       |
| 1 ng/ml = 2,5 nmol/l | vitamín D <sub>2</sub> – ergokalciferol                        |

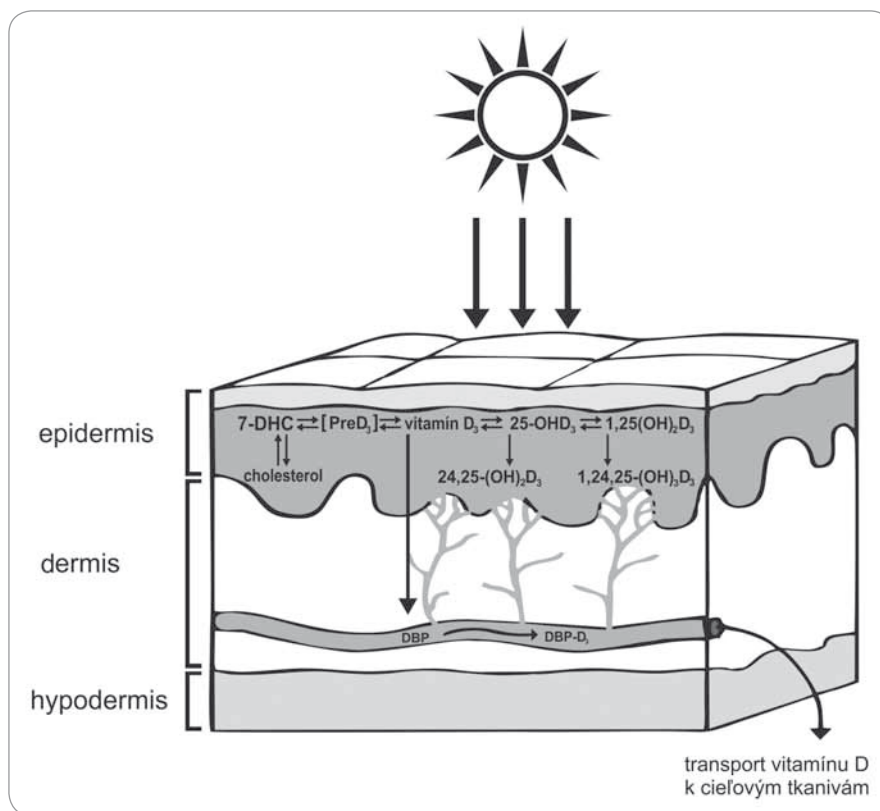


**Schéma 1. Komplex interakcií uplatňujúcich sa v etiológii malígneho melanómu.**  
Upravené podľa [95].

lizácia melanómových lézií je u mužov častejšia na trupe a u žien na nohách a takto je konštantne zaznamenaná celosvetovo [14]. Pozorované je tiež signifikantne dlhšie prežívanie žien v porovnaní s mužmi s diagnostikovaným MM, čo opäť potvrdzuje vplyv pohľavia ako jedného z kľúčových faktorov tohto ochorenia. Podobný nárast v prežívaní žien bol zaznamenaný aj u nádorov mozgu a vzhľadom na spoločný pôvod melanocytov a neurónov by pravdepodobne mohla poskytnúť vysvetlenie práve pohľadom ovplyvnená diferenciácia buniek neurálnej lišty [15,16]. Rastúci dopyt po podrobnejšom preskúmaní rozdielov v chovaní névov a MM v súvislosti s ich histologickými subtypmi a pohľadom by nám v blízkej budúcnosti mohli objasniť štúdie na molekulovej úrovni.

### Antikancerogénne účinky vitamínu D aplikovateľné u MM

Biologické účinky vitamínu D sa v súvislosti s nádorovými ochoreniami, najmä MM, môžu uplatniť lokálne, teda v mieste primárneho nádoru a po uvoľnení do systémovej cirkulácie ovplyvniť schopnosť mikrometastázovania. Všeobecne známy proces ľudskej endogénnej syntézy vitamínu D začína v koži účinkom UV žiarenia a k jeho premene na aktívnu formu dochádza hydroxyláciou v pečeni a obličkách. Menej je známe, že táto endogénna syntéza súčasne a dokonca kompletne prebieha aj v keratinocytoch [17]. Keratinocyty, ako jediné bunky v ľudskom tele, syntetizujú enzýmy pre úplný priebeh syntézy vitamínu D provitaminom (7-dehydrocholesterol) počínajúc a aktívnou formou, 1,25-dihydroxyvitamín D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, kalcitriol) končiac (obr. 1). Kožnej syntéze kalcitriolu sa pripisuje intrakrinný a/alebo autokrinný účinok na samotné keratinocyty a aj parakrinný na susediace bunky, ktorými môžu byť aj melanocyty, event. bunky MM [18]. Keratinocyty interagujú s okolitými, a teda aj melanocytárnymi bunkami, doteraz však tieto vzájomné interakcie medzi nimi neboli detailne popísané. Podobne ako v keratinocytoch aj v melanocytoch bola dokázaná nielen lokálna syntéza aktívnej formy vitamínu D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) z prekursora 25(OH)D<sub>3</sub>, ale



Obr. 1. Priebeh syntézy vitamínu D v keratinocytoch.

Najvyšší potenciál pre tvorbu vitamínu D majú vrstvy epidermy stratum basale a spinosum, pretože obsahujú najvyššiu koncentráciu 7-dehydrocholesterolu (7-DHC, provitamin D<sub>3</sub>). Účinkom ultrafialového žiarenia dochádza k rozštiepeniu B-kruhu medzi 9. a 10. uhlíkom (s-ciskonformácia) a vzniká menej stabilná forma s-cisprevitamin D<sub>3</sub> (PreD<sub>3</sub>, pre-cholecalciferol). Následná rotácia okolo 5. a 6. uhlíka dáva vznik termodynamicky viac stabilnej s-transkonformácii (cholecalciferol, vitamín D<sub>3</sub>). Tento sa viaže na DBP (vitamín D<sub>3</sub> binding protein – VDBP) a v takejto forme je transportovaný v systémovej cirkulácii. Hydroxyláciou v pečeni z neho vzniká 25-hydroxyvitamín D<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>, kalcifediol, všeobecne kalcidiol), ktorý je následne v obličkách hydroxylovaný na 1,25-dihydroxyvitamín D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, kalcitriol, aktívna forma vitamínu D). Kompletný enzymatický aparát pre syntézu aktívnej formy vitamínu D obsahujú ako jediné bunky v ľudskom tele keratinocyty.

aj expresia receptora pre vitamín D (vitamin D receptor – VDR) [19]. Schopnosť syntézy 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> z 25(OH)D<sub>3</sub> sa potvrdila aj v bunkách MM, vrátane expresie VDR [20]. Avšak v oboch typoch buniek (melanocyty, bunky MM) absentuje kompletne enzymatické vybavenie pre úplnú syntézu vitamínu D od 7-dehydrocholesterolu (7-DHC, provitamin D<sub>3</sub>) cez previtamin (PreD<sub>3</sub>, pre-cholecalciferol) na vitamín D<sub>3</sub> (cholecalciferol), ktorý je postupnou dvojitou hydroxyláciou v polohe 1 a 25 aktivovaný na 1,25-dihydroxyvitamín D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, kalcitriol), a preto sú tieto bunky závislé od intermediátov alebo priamo od aktívneho produktu zo svojho okolia.

Vzdialené aj lokálne účinky vitamínu D sprostredkúva prevažne VDR. Je to predominantne jadrová bielkovina viažuca aktívnu formu vitamínu D s vysokou afinitou a špecificitou. Najvyššia expresia tohto receptora bola zaznamenaná v metabolicky aktívnych tkanivách, akými sú koža, črevo, obličky a štítna žľaza. Expri-movaný je aj nádorovými tkanivami [21]. Na základe imunohistochemických analýz kožného tkaniva bolo preukázané, že expresia VDR klesá v nasledujúcom poradí – normálna koža, melanocytárne név, MM bez prítomnosti metastáz, s prítomnosťou metastáz. Expresia VDR klesá tiež s rastúcou progresiou štádia tumoru [22]. U ľudí má VDR viacero variant, ktoré môžu ovplyv-

niť expresiu proteínu a aktivitu VDR. Detegovaných bolo viac ako 1 000 polymorfnych lokalít génu pre VDR, z ktorých niektoré korelovali so zvýšeným rizikom MM. Analýza expície VDR a jeho polymorfizmov môže v budúcnosti slúžiť ako dôležitý prognostický faktor pre liečbu MM vitamínom D alebo jeho analógmi. Jedným z dôvodov je predpoklad, že  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ovplyvňuje transkripciu najmenej 3 000 génov ľudského genómu, čo je pravdepodobne výsledkom vývoja života na Zemi v harmónii so Slnkom [23]. Navyše citlivosť MM k pridanému  $1,25$ -dihydroxyvitamínu  $\text{D}_3$  ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) koreluje s mierou stimulácie génovej expície. Príkladom je citlivosť melanómových kultúr MeWo a SK Mel-28 k  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , ktorá má za následok alteráciu expície génov závislých od vitamínu D. U ďalších typov MM, akými sú napr. SK Mel 5 a SK Mel 25, pridanie  $1,25$ - $(\text{OH})_2\text{D}_3$  viedlo k narušeniu génovej expície a inhibícii bunkového rastu [24].

Medzi najdôležitejšie protinádorové účinky vitamínu D patrí indukcia zastavenia bunkového cyklu, stimulácia apoptózy a inhibícia angiogenézy [25]. Najväčší antiproliferačný účinok má indukcia zastavenia bunkového cyklu založená na blokáde G1 fázy [26], ktorú je možné dosiahnuť navodením zvýšenej tvorby proteínov p21 a p27. Navyše  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  preukázal tiež schopnosť zastaviť bunkový cyklus v nádorových bunkových líniiach aj vo fáze G2/M [27]. Vitamín D je schopný navodiť apoptózu nádorových buniek už na génovej úrovni prostredníctvom inhibície známeho anti-apoptotického génu *Bcl-2* [28], indukciou pro-apoptotických génov, ako sú *DAP*, *CFKAR* a *FADD* [29] a dokáže dokonca aktivovať aj pro-autofagický gén *beclin-1* [30]. Navyše kalcitriol zvyšuje aj aktivitu pro-apoptotických proteínov Bax a  $\mu$ -calpain [27,31–33]. Schopnosť navodenia apoptózy je jednoznačne jednou z najdôležitejších funkcií proteínu p53, známeho hlavného regulátora apoptózy a produktu tumor supresorového génu *TP53*. U viacerých nádorových bunkových líniiach bolo zistené, že mechanizmus indukcie apoptózy prostredníctvom vitamínu D varíruje v závislosti od typu bunky a môže byť sprostredkovaný cestou proteínu p53, ale aj bez jeho prí-

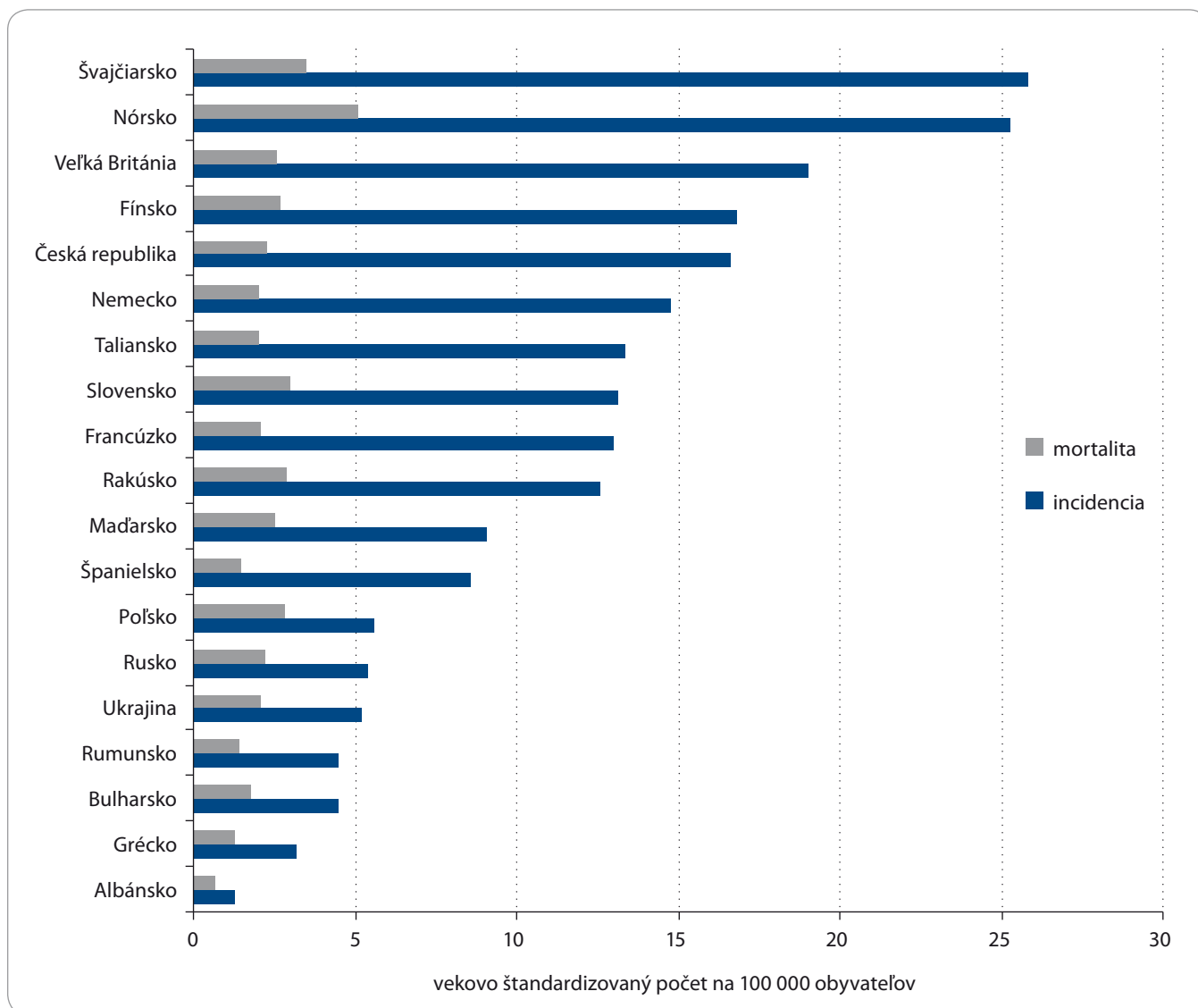
tomnosti [34,35]. Funkčná konvergencia medzi rodinou proteínu p53 a signalizáciou vitamínu D cez VDR, ktorá nastáva v dermis kože, znamená pravdepodobne evolučnú adaptáciu za účelom vyváženia medzi fyziologickou potrebou syntézy vitamínu D a ochranou genómu pred genotoxickými inzultami z okoliťného prostredia alebo lokálnej zápalovej reakcie [36]. Podpora nádorovej angiogenézy, invázie a metastázovania môže byť dôsledkom aktivácie tzv. spínačov angiogenézy, ktorých aktiváciu kontroluje predovšetkým endoteliálny rastový faktor (vascular endothelial growth factor – VEGF) [37]. Bolo preukázané, že vitamín D dokáže znižovať expresiu VEGF v nádorových bunkách a tiež znižuje odpoveď endoteliálnych buniek na tento faktor [38]. Zákonito je hypoxia výrazný induktor tvorby VEGF a počas jej pôsobenia, za súčasnej aplikácie vitamínu D dochádzalo k signifikantnému zníženiu tvorby VEGF [39]. K potvrdeným účinkom vitamínu D taktiež patrí schopnosť znižovať tvorbu prozápalových cytokínov a aj ich biologickú aktivitu, čo má významný protizápalový efekt [40]. Zápalová reakcia sprevádzajúca rast nádoru, tiež aj MM, je vo všeobecnosti charakterizovaná prítomnosťou zápalových buniek, mediátorov zápalovej reakcie, akými sú cytokíny, chemokíny, prostaglandíny a kyslíkové radikály [41]. A práve aktivita VEGF významne závisí aj od mediátorov zápalu. Schopnosťou znížiť zápalovú reakciu môže teda vitamín D prostredníctvom VEGF zasahovať aj do nádorovej angiogenézy. V literatúre sa popisuje tiež vznik nádorových ochorení v dôsledku chronického zápalového procesu. So vznikom nádorových ochorení, obzvlášť s procesom, ktorý vedie od zápalu ku kancerogéneze, sa opakovane spája skupina transkripčných faktorov známych pod označením NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B), ktoré sa podieľajú na kontrole transkripcie DNA, produkcie cytokínov a bunkového prežívania [42]. V porovnaní so zdravými bunkami mali mnohé nádorové bunky zvýšené hodnoty NF- $\kappa$ B. Potvrdilo sa, že kalcitriol je schopný blokovat aktiváciu NF- $\kappa$ B [43], a táto inhibícia sa javí ako veľmi sľubná možnosť protinádorovej liečby, vrátane liečby MM [44].

### **In vitro a in vivo výskum MM**

Prevažná väčšina štúdií MM je vykonávaná *in vitro* s použitím bunkových kultúr melanómových buniek v podmienkach, ktoré ale nedokážu presne imitovať prirodzené mikroprostredie nádoru [45]. Napríklad aktivita buniek MM závisí okrem iných faktorov aj od zápalových buniek infiltrujúcich nádor, keratinocytov a fibroblastov. A naopak, melanómové bunky sú schopné ovplyvniť diferenciáciu keratinocytov produkciou napr. FGF-2 (fibroblast growth factor 2), VEGF A (vascular endothelial growth factor A), IL-8 (interleukin 8) a CXCL-1 (chemokín C-X-C motif ligand 1) [46]. Na objasnenie významu keratinocytov aktivovaných bunkami MM v procese kancerogenézy je potrebné vykonanie ďalších štúdií.

V niektorých melanómových bunkových kultúrach sa preukázal anti-proliferatívny a pro-diferenciačný účinok vitamínu D a jeho prekurzorov, avšak nie vo všetkých [47]. Aktívna forma vitamínu D dokázala potlačiť invazívne správanie nádoru a s tým spojenú angiogézu v bunkových kultúrach MM [48], a dokonca tiež potlačala rast ľudských MM prenesených vo forme xenotransplantátu na imunosuprimované myši s potvrdenou expresiou VDR. Tieto výsledky sa nepotvrdili v bunkových líniiach MM, ktoré mali zablokovanú expresiu VDR [49]. Následne sa ukázalo, že niektoré melanómové bunkové línie boli rezistentné voči účinkom vitamínu D. Tieto bunkové línie vykazovali zníženú expresiu mRNA pre gén kódujúci VDR alebo zvýšenú aktivitu  $24$ -hydroxylázy (CYP24A1), čiže kľúčového enzýmu, ktorý mení aktívnu formu vitamínu D ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) na neaktívny  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  [19,47].

Nedávno boli účinky  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  rozšírené o vplyv na opravy poškodenej DNA prostredníctvom excízie nukleotidov (nucleotide excision repair – NER), ktorý sa aktivuje po expozícii UV žiarením. Rozpoznanie poškodenia za pomoci špecifických (tzv. damage sensing) proteínov vedie k odstráneniu krátkeho jednoreťazcového úseku DNA, v ktorom je obsiahnuté poškodenie. Súčasťou procesu vykonávaného NER systémom je syntéza komplementárneho reťazca a následná ligácia. Je veľmi pravdepodobné,



**Graf 1. Incidencia a mortalita malígneho melanómu u oboch pohlaví vo vybraných európskych krajinách.** Upravené podľa [96].

že 1,25-dihydroxyvitamín D<sub>3</sub> dokáže systém NER stimulovať, čo vedie k efektívnejšiemu odstraňovaniu karcinogénnych, UV žiarením spôsobených fotoproduktov a iných poškodení, ktoré sa podieľajú na kožnej neoplastической transformácii [50]. Výsledky štúdie realizovanej *in vivo* na bezsrstých myšiach s UV žiarením indukovanými nádormi kože ukázali, že lokálna aplikácia 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> po ožiarení znižovala rozsah poškodenia DNA meraný na základe množstva vytvorených cyklobutánových pyrimidínových dimérov (CPDs) [51]. Vo svete, ktorý sa snaží orientovať na personalizovanú medicínu, sa objavil už aj návrh individualizovaného podávania vitamínu D na základe analýzy

NER systému za účelom prevencie/liečby kožných nádorov. Podľa Pawlovskej et al by takéto vyšetrenie bolo založené na izolácii keratinocytov od pacienta a následnom hodnotení NER systému (funkčné testy), na základe ktorých by sa stanovila odporúčaná dávka vitamínu D [50].

**Výsledky epidemiologických štúdií o účinkoch slnečného žiarenia na MM**

Signifikantný rozdiel v incidencii MM medzi Austráliou a Európou je dôvodom pre považovanie slnečného žiarenia za jednu z príčin vzniku MM. Avšak podrobnejšie preskúmanie epidemiologických údajov neukazuje na slnko ako

na hlavnú príčinu. Napríklad rýchly celosvetový nárast výskytu MM bol predovšetkým u veľmi tenkých MM (nádory s hrúbkou ≤ 1 mm podľa Breslowovej klasifikácie), ktoré nemajú vplyv na úmrtnosť za to isté obdobie zostávajúcej bez zmeny. Poskytovanie dermatologickej starostlivosti je značne odlišné v Austrálii oproti európskym krajinám, hlavne oproti Veľkej Británii. Dermatológovia a aj praktickí lekári v Austrálii ponúkajú skrining tohto ochorenia prostredníctvom mnohých kampaní v záujme verejného zdravia a v rámci nich je veľké množstvo nádorov odstránených. A práve tieto skriningové kampane viedli k rýchlemu nárastu počtu týchto veľmi

tenkých a diagnosticky hraničných MM, čo v podstate zvyšuje celkový výskyt. Napriek tomu, že neexistujú žiadne návrhy pre nerealizovanie skorého záchytu MM, vplyv aktívneho skríningu a kampaní v záujme verejného zdravia na incidenciu MM je evidentný. Epidemiologické údaje týkajúce sa MM podľa Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny (IARC, WHO) z vybraných európskych krajín za rok 2012 zobrazuje graf 1. V západnej Európe sa eviduje viac ako 70 % novo diagnostikovaných MM s hrúbkou < 1 mm a incidencia tu významne narástá v ostrom kontraste napr. ku Bulharsku a Rumunsku, kde sa približne 25 % novo diagnostikovaných pacientov nachádza už v III. alebo až IV. štádiu ochorenia, zatiaľ čo zachytených MM s hrúbkou < 1 mm je tu < 10 %. Tiež v rámci východoeurópskych krajín (vrátane ČR) je omnoho vyšší trend nárastu incidence v mestách, kde sú súčasne častejšie diagnostikované tenšie nádory (nádory s hrúbkou  $\leq$  1 mm podľa Breslowovej klasifikácie). Naproti tomu údaje o mortalite, ktorých zber je menej ovplyvnený vonkajšími faktormi, ukazujú minimálne rozdiely medzi západnou a východnou Európou. Prevažujúci nález MM odstránených počas skrínigových kampaní, ktoré môžeme zaradiť medzi veľmi tenké podľa Breslowovej klasifikácie, podporuje tieto výsledky epidemiologických ukazovateľov. Mohlo by to znamenať, že zmeny v správaní voči slnečnému žiareniu (napr. nárast sezónnych dovolení pri mori, užívanie solárií) nemusia byť jednou z hlavných príčin zvýšenia výskytu tohto ochorenia. Ďalším argumentom, ktorý oslabuje škodlivý účinok UV žiarenia v súvislosti s MM, je prítomnosť podobného sa správania MM v rámci podobných etnických skupín po celom svete, a to aj napriek rôznej intenzite UV žiarenia. Priemerný vek, v ktorom je ochorenie diagnostikované, je 50 rokov a ten je konštantný vo Veľkej Británii aj v Austrálii. Ak by slnečné žiarenie bolo spúšťačom ochorenia v Austrálii, to by teoreticky mohlo znížiť vek začiatku ochorenia. Avšak v krajinách s vysokou intenzitou UV žiarenia sa so stúpajúcou incidenciou nepreukázalo predpokladané zníženie priemerného veku nástupu ochore-

nia a ani nedošlo k žiadnym zmenám v najčastejších lokalizáciách MM [52,53]. Vo východoeurópskych krajinách bol nárast výskytu MM zaznamenaný iba v krajinách s dobrou dostupnosťou dermatologického vyšetrenia a kde prebiehali takéto kampane. V ostatných krajinách bola zaznamenaná nižšia incidencia a vyššia hrúbka MM [54,55]. Údaje boli porovnateľné s údajmi vo Veľkej Británii pred 30 rokmi. Vplyv skríningu na incidenciu nádorových ochorení bol už v minulosti dobre zdokumentovaný, napr. u rakoviny prsníka a prostaty [56,57].

Incidencia MM na koži intermitentne vystavenej slnečnému žiareniu je signifikantne menej častá u ľudí pracujúcich v exteriéri ako u ľudí pracujúcich v interiéri [58]. Tento poznatok môže znamenať nižšiu pravdepodobnosť spálenia sa u ľudí, ktorí sú častejšie vystavení slnečnému žiareniu, ale alternatívnou hypotézou je aj to, že títo ľudia majú menej pravdepodobne deficienciu vitamínu D. Do úvahy prichádza aj odlišná patogenéza MM, ktoré vznikajú u ľudí s vyšším rizikom aktinického poškodenia kože (kožný fototyp). V roku 2005 bola prezentovaná štúdia, v ktorej sa sledovala prítomnosť elastózy (dermálne post-solárne poškodenie kože) vo vzorkách MM. Výsledky naznačovali, že prítomnosť tohto dermálneho poškodenia kože v excíziách MM znamená pre pacientov lepšiu prognózu [59]. Jedným z vysvetlení tohto zistenia je, že chronické poškodenie slnkom môže spôsobiť menej agresívnu formu MM. Ďalším možným vysvetlením je prítomnosť vyššej hladiny vitamínu D u jedincov vystavených častejšie slnečnému žiareniu, ktorá môže chrániť pred vznikom recidívy, napriek súvislosti UV žiarenia s etiológiou tohto ochorenia [60]. Zaznamenaná bola redukcia poškodenia kože v dôsledku UVA žiarenia účinkom vitamínu D a tiež zníženie UV žiarením indukovanej imunopresie v štúdiách *in vitro*, na myšiacich modeloch a aj v ľudskej koži [61]. Taktiež boli tieto účinky vitamínu D preukázané aj pri lokálnej aplikácii analógov vitamínu D na ožiarenú kožu [62].

Ak teda predpokladáme, že anti-proliferatívny účinok vitamínu D je dôle-

žitý pre modifikáciu vývoja ochorenia pacientov s MM, potom by prognóza týchto pacientov mala byť priaznivejšia v krajinách s vyššou intenzitou slnečného žiarenia ako v krajinách, kde je nižšia. Skutočnosťou je, že vyhlídky pacientov diagnostikovaných v Austrálii sú lepšie ako tých, ktorí boli diagnostikovaní vo Veľkej Británii. Obe skupiny pacientov sú si geneticky podobné, keďže obyvateľstvo Austrálie je z veľkej časti britského pôvodu [63]. Rozsiahla retrospektívna štúdia dát z rokov 1993–2003 porovnávajúca 5-ročné prežívanie pacientov v Yorkshire (n = 4 170) a Novom Južnom Walesse (n = 30 520) ukázala relatívne nižšie riziko úmrtia v Novom Južnom Walesse. Pripisovalo sa to predovšetkým častejšie sa vyskytujúcim tenším typom nádorov podľa Breslowovej klasifikácie v tejto lokalite, ktoré sú prítomné vďaka detekcii tumoru v skorších štádiách. Austrálski pacienti mali súčasne aj vyššie priemerné hodnoty vitamínu D [64]. Analýzou dát pacientov len z Veľkej Británie sa preukázalo, že vyššie sérové koncentrácie 25-hydroxyvitamínu D v čase stanovenia diagnózy sa vyskytovali častejšie u tenších typov nádorov. Záverom týchto dvoch štúdií bol poznatok, že rozdiel medzi týmito krajinami spočíval v rozdielnej hrúbke nádorov podľa Breslowa v čase stanovenia diagnózy, pričom táto hrúbka súvisela so sérovou hladinou vitamínu D [63]. Porovnanie týchto dvoch skupín s podobným genetickým pozadím, ale s odlišným životným prostredím je predmetom stále prebiehajúcich vedeckých výskumov venujúcich sa objasneniu okolností vzniku ochorenia MM.

### Hodnotenie úrovne vitamínu D

V dôsledku prítomnosti viacerých foriem a ich rôznej sily väzby k VDBP (vitamin D binding protein) je vitamín D zložitým analytom na stanovenie. Za najlepší indikátor úrovne hladiny vitamínu D v ľudskom tele je momentálne doporučený tzv. total vitamín D (25-OHD<sub>2</sub> + 25OHD<sub>3</sub>) v sére pre jeho dlhý polčas – viac ako 250 hod (2–3 týždne) [65]. V prípade posúdenia účinkov vitamínu D na kožné tkanivá sa vychádza z predpokladu, že sérová hodnota odráža produkciu v koži [66]. Podiel stravy ako zdroja vita-



mínu D stúpa na významne v zimných mesiacoch. Časť kožnej produkcie je uvoľnená do systémovej cirkulácie, ale vždy určitá časť podlieha reakciám vedúcim k vzniku aktívnej formy vitamínu D priamo v kožnom tkanive. Na základe tohto vzťahu sa predpokladá, že sérová hladina je obrazom predovšetkým kožnej tvorby vitamínu D v miestach vystavených UV žiareniu, a teda aj lokálnej kožnej tvorby aktívnej formy.

Čo sa týka pacientov so stanovenou diagnózou MM alebo rizikovej skupiny pre toto ochorenie, v súčasnosti nemáme definitívne určenú optimálnu sérovú hladinu vitamínu D [67]. Field a Newton-Bishop navrhli hodnotu medzi 70 a 100 nmol/l (28–40 ng/ml; nmol/l  $\times$  0,40 = ng/ml) pre pacientov s už stanovenou diagnózou, pretože štúdie ukazujú, že vyššia sérová hladina vitamínu D môže vo všeobecnosti ovplyvniť proliferáciu nádorových buniek. V prospektívnej kohortovej štúdii realizovanej na 872 pacientoch sa vyššie sérové hodnoty vitamínu D v čase stanovenia diagnózy spájali s nižšou hodnotou v Breslowovej klasifikácii hrúbky MM [4]. Taktiež sa objavili výsledky, ktoré ukazovali nižšie riziko relapsu MM u pacientov cielene suplementovaných vitamínom D oproti kontrolnej skupine [8]. Navyše progresia tohto ochorenia sa spája so štatisticky významným znížením sérovej hladiny vitamínu D [68].

Nürnberg et al vo svojej štúdii sledovali sérovú hladinu celkového vitamínu D (total vitamín D) u pacientov s diagnózou MM a zaznamenali významné zníženie u pacientov v IV. štádiu MM v porovnaní s pacientmi v I. štádiu MM, pričom pacienti s hodnotou < 10 ng/ml mali tendenciu mať skôr vzdialené metastázy v porovnaní s pacientmi s hodnotou > 20 ng/ml. Keďže prezentované sérové hladiny vitamínu D sú pravdepodobne obrazom stavu pred skorým vývojom MM a počas neho, zdá sa, že vitamín D by mohol inhibovať lokálnu inváziu a mikrometastázovanie počas skorého tumorogénneho MM.

### **Terapia vitamínom D u MM – potenciálna adjuvantná terapia**

Donedávna sa odporúčali dávky vitamínu D týkali účinkov, ktoré má na

koži a metabolizmus vápnika a fosforu. V súčasnosti sa na základe metaanalýz stanovujú aj možné dávky a doporučené hodnoty pre pacientov trpiacich alebo vystavených riziku vzniku rakoviny [69]. Odhadovaná minimálna sérová hladina 25(OH)D pre prevenciu nádorových ochorení  $\geq$  30 ng/ml bola stanovená už pred vyše 10 rokmi na sympóziu venovanom vitamínu D a rakovine realizovanom za podpory Národného inštitútu zdravia v USA (National Institute of Health – NIH), ktorý sa radí medzi popredné svetové výskumné centrá [70,71]. Otázka dávky je stále diskutovanou témou [69]. Predpokladá sa, že meranie a možno v budúcnosti aj zmiernenie (modulácia) zápalových reakcií prostredníctvom vitamínu D a iných metód môže byť dôležitý spôsob, ktorým by sa mohla zvýšiť miera odpovede na imunoterapiu a iné liečby MM, prípadne aj iných druhov rakoviny [72].

K teoretickým možnostiam liečby MM vitamínom D patrí indukcia tvorby UV žiarením, lokálna aplikácia a celkové, čiže perorálne podanie vo forme suplementov. Špecifické potravinové zdroje limitujú takmer úplne prirodzenú alimentárnu formu [73]. V prípade prvej možnosti sa zároveň uskutoční aj kožná syntéza aktívnej formy vitamínu D a jeho účinky sú v tomto prípade najviac komplexné. Stále zostáva nezodpovedaná otázka optimálnej časovej dĺžky expozície UV žiarenia, ktorá by minimalizovala poškodenie DNA a znamenala maximálny benefit v podobe syntézy vitamínu D. Vzhľadom na to je stále považované za najbezpečnejšie perorálne užívanie, od ktorého možno však očakávať aj systémove účinky [74]. Je známe, že deficiencia vitamínu D je bežnejšia v pokročilom štádiu MM a koreluje s nepriaznivou prognózou [75,68]. Nedávna retrospektívna štúdia [76] zaznamenala účinky podávaného vitamínu D práve u pacientov s metastázujúcim MM a ukázala obzvlášť zaujímavé výsledky. Skupine pacientov s počiatočne deficientnou sérovou hladinou 25(OH)D<sub>3</sub> (< 20 ng/ml) bola podávaná dávka 50 000 IU v týždňových intervaloch po dobu 8 týždňov a následne dávka 4 000 IU týždenne. U pacientov, u ktorých došlo k nárastu

hladiny vitamínu D > 20 ng/ml, sa znamenala lepšia prognóza a dokonca podobne aj u pacientov s dobrou počiatočnou hladinou vitamínu D, ktorí mali aj v neskoršom meraní hladinu vitamínu D > 20 ng/ml. Horšiu prognózu mali pacienti, ktorí mali hladiny vitamínu D v oboch meraniach deficientné, ale aj s počiatočne dostatočnou a v neskoršom meraní s hladinou vitamínu D < 20 ng/ml. Závety tejto štúdie naznačujú, že počiatočná deficiencia vitamínu D ako aj nedostatočné dopĺňanie predpovedajú horšiu prognózu u pacientov s MM. Ďalšia nedávna štúdia tiež ukázala, že zmena v hladine vitamínu D vrátane veľkých vzrastov aj poklesov bola nezávislým markerom u pacientov s MM [77]. Protinádorové účinky vitamínu D<sub>3</sub> slúžili aj ako zdôvodnenie pre pokračovanie austrálskej klinickej štúdie ANZMTG (Australia and New Zeland Melanoma Trials Group) 02.09 Mel-D, ktorá hodnotila využitie vitamínu D ako adjuvans pre pacientov s vysokým rizikom recidivácie MM [78]. Táto placebo kontrolovaná randomizovaná štúdia v aktuálne prebiehajúcej fáze II sleduje bezpečnosť a možnú toxicitu veľkej orálnej dávky vitamínu D (500 000 IU) podanej po pravidelnej mesačnej dávke 50 000 IU užíwanej počas 2 rokov pacientmi, ktorí podstúpili chirurgické odstránenie primárneho kožného MM. Zistenia tejto štúdie by mali byť prínosom pre možné použitie vitamínu D podávaného orálne v liečbe tohto ťažko liečiteľného nádorového ochorenia.

Dopĺňaním vitamínu D v štandardnej dennej dávke 25 alebo 50  $\mu$ g (1 000 alebo 2 000 IU) dôjde k dosiahnutiu stabilnej hladiny koncentrácie vitamínu D približne po 3 mesiacoch [79], pričom sa vie, že denné podávanie liečiv je problematické, čo sa týka dodržiavania [80]. Podanie jednorázovej vysokej dávky s cieľom čo najskôr dosiahnuť nárast sérovej koncentrácie vitamínu D so sebou nesie aj riziko vzniku nežiadúcich následkov. Intoxikácia vitamínom D je vo všeobecnosti extrémne zriedkavá a môže byť zapríčinená neúmyselným alebo úmyselným požitím príliš vysokých dávok. Bola pozorovaná pri sérových hladinách 25(OH)D > 150 ng/ml (374 nmol/l). Dávky vita-

mínu D > 50 000 IU/d zvyšujú hladinu 25(OH)D na > 150 ng/ml (374 nmol/l) a sú v literatúre spojené s hyperkalcémiou a hyperfosfatémiou. Za nižšie hodnoty spôsobujúce už nežiadúce účinky (lowest observed adverse effect level – LOAL) sú považované v publikovaných prácach o toxicite vitamínu D s presvedčivými dôkazmi hyperkalcémie sérovej koncentrácie 25(OH)D > 200 nmol/l, čo si vyžaduje denný príjem > 40 000 IU [81,82,83]. Bacon et al vo svojej štúdii navrhli dávkovací protokol s počiatočnou dávkou vitamínu D 12,5 mg (500 000 IU) vitamínu D<sub>3</sub> nasledovanou mesačným podávaním dávky 1,25 mg (50 000 IU) ako spôsobu pre skoré dosiahnutie nárastu sérovej hladiny vitamínu D s dobrou udržateľnosťou bez zapríčinenia hyperkalcémie [84]. Napriek tomu, že sa primeraná suplementácia samotným vitamínom D považuje za všeobecne bezpečnú, hľadajú sa aj analógy, ktoré by vykazovali podobné účinky ako podávanie vitamínu D vo vysokých dávkach a za súčasnej minimalizácie výskytu nežiadúcich účinkov. Nižšiu hyperkalcemickú aktivitu vykazujú analógy vitamínu D s krátkym postranným reťazcom alebo úplne bez neho [85,86]. Tieto analógy preukázali účinnejšiu inhibíciu proliferácie buniek MM v porovnaní s normálnymi keratinocytmi a melanocytmi [87].

Pre verifikáciu vyššie uvedených výsledkov klinických štúdií sa opakovane odporúča vykonať sledovanie suplementovaných pacientov v omnoho širšom meradle [69,76]. Podľa NIH je aktuálne zaevidovaných 142 prebiehajúcich klinických štúdií sledujúcich súvislosť medzi vitamínom D a nádorovými ochoreniami, avšak iba dve sú zamerané na MM (NCT01264874 [88], NCT01748448 [89]). Súdiac podľa rastúceho záujmu o vitamín D a jeho deriváty sa predpokladá výbuch animálnych, predklinických a klinických štúdií zacielených na ich využitie ako potenciálnych antimelanómových faktorov. Samotnej liečbe založenej na vitamíne D by v budúcnosti mohla predchádzať analýza signálnej cesty, čiže napr. VDR expresie a polymorfizmov, a táto analýza by sa mohla stať dôležitým prognostickým faktorom

pred začatím liečby vitamínom D a jeho analógmi [90].

V najnovších prácach už nachádzame odporúčanie pre adjuvantnú liečbu vitamínom D v III. a IV. štádiu ochorenia MM súčasne s akoukoľvek onkologickou liečbou. Vychádzajú z dôkazov o častejšom výskyte pokročilých štádií ochorenia a progresie ochorenia u pacientov s deficitom vitamínu D. V I. a II. štádiu ochorenia doporúčajú profylaktické užívanie veľmi vysokých dávok vitamínu D (50 000–100 000 IU denne) pri nízkej hladine vitamínu D (30 ng/ml). Po dosiahnutí sérovej hladiny medzi 50–100 ng/ml sa dávka znižuje na 4 000–6 000 IU, pričom sú súčasne sledované aj hladiny séroveho vápnika. Tento postup by mohol byť obzvlášť prospešný pre pacientov s vysokým rizikom vzniku metastáz (mitoticky aktívne MM vo vertikálnej rastovej fáze, ktoré sú relatívne hrubé, alebo je súčasne pozitívna biopsia sentinelovej uzliny) [91].

Na objasnenie vzťahov medzi vitamínom D a MM je potrebné dôkladnejšie porozumieť komplexným a pleiotropným účinkom vitamínu D na živé bunky. Je zrejme, že hladina 25-hydroxyvitamínu D v sére nie je v žiadnom prípade jediným determinantom povahy a veľkosti aktivity vitamínu D. Väzbový proteín vitamínu D, polymorfizmus receptora vitamínu D, užívanie vápnika, renálna aktivácia vitamínu D a ďalšie zložky signálnej cesty vitamínu D a metabolismu tiež ovplyvňujú jeho účinky a zasluhujú si ďalšie štúdium možnej úlohy vitamínu D pri vzniku a progresii MM, a preto je potrebné brať do úvahy aj názor, že plošná suplementácia vitamínom D v praxi je zatiaľ ešte stále predčasná [92].

### Záver

V súčasnosti sa na vitamín D nahliada ako na steroidný hormón rozpustný v tukoch, ktorého genómové účinky sú sprostredkované po naviazaní sa na špecifický receptor. K potvrdeným účinkom vitamínu D dnes okrem uchovania zdravých kostí (tzv. klasické účinky) radíme aj tzv. neklasické, pleiotropné účinky. Tieto neklasické účinky sú aktuálne sledované u autoimunitných a kardiovaskulárnych ochorení, precitlivenosti voči

infekciám, pri vzniku nádorový ochorení, ale aj v súvislosti s priebehom fyziologického starnutia [93]. Ich uplatnenie u MM je omnoho kontroverznejšie. Dôvodom je predovšetkým schopnosť kožnej samotvorby aktívnej formy vitamínu D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) keratinocytmi a jeho lokálne parakrinné účinky na okolité bunky, a teda aj melanocyty alebo bunky MM. Epidemiologické štúdie opakovane poukazujú na vzťah medzi slnečným žiarením a rizikom vzniku MM, avšak povaha tohto vzťahu je zložitejšia. Klasický vzťah dávky a rizika – čím vyššia dávka, tým vyššie riziko – tu ale neplatí. Dominantným rizikovým faktorom je spálenie a nie kumulatívna slnečná expozícia. Proces spálenia pravdepodobne spôsobuje potlačenie imunitných reakcií, čo sa následne podieľa na priebehu kancerogenézy u MM.

Doterajšie uskutočnené predklinické a klinické štúdie potvrdili schopnosť vitamínu D ovplyvniť proces kancerogenézy aj u MM, kde pravdepodobne zasahuje do invázivnosti a schopnosti nádoru tvoriť metastázy. Navrhovanou optimálnou sérovou hladinou 25(OH)D pre pacientov so stanovenou diagnózou MM je hodnota medzi 70–100 nmol/l (28–40 ng/ml), pretože vyššie sérové hladiny vitamínu D boli zaznamenané u pacientov s tenšími typmi MM a taktiež ich nález v čase stanovenia diagnózy súvisel s lepšou prognózou a nižším rizikom relapsu. Z týchto dôvodov sa na základe výsledkov súčasných štúdií odporúčajú vyššie sérové hladiny a k ich dosiahnutiu v I. a II. štádiu tohto ochorenia je potrebné užitie veľmi vysokých dávok vitamínu D (50 000–100 000 IU denne) za súčasnej kontroly metabolismu vápnika a hladiny vitamínu D a následne po dosiahnutí sérovej hladiny medzi 50–100 ng/ml je možné dávku znížiť na 4 000–6 000 IU. Suplementácia vitamínom D je doporučená aj v pokročilejších štádiách ochorenia. Pre úplnú verifikáciu týchto predbežných doporučení prebieha aj v súčasnosti niekoľko vyššie spomenutých perspektívnych štúdií. Každopádne sa dnes vo všeobecnosti odporúča u onkologických pacientov stanovovať hodnotu vitamínu D a v prípade zistenia jeho nedostatku ho dopĺňať za súčasnej kontroly.

Pravdepodobne ďalšie závery ešte neukončených prebiehajúcich výskumov nám rozšíria poznatky o možnostiach využitia vitamínu D ako adjuvantnej liečby pre pacientov s MM a podrobnejšie zhodnotia očakávania spočívajúce v znížení nádorovej invazívnosti a mikro-metastázovania, a tým v znížení rizika recidívy a zlepšení prognózy aj u týchto onkologických pacientov.

## Literatúra

- Garbe C, Peris K, Hauschild A et al. Diagnosis and treatment of melanoma: European consensus-based interdisciplinary guideline. *Eur J Cancer* 2010; 46(2): 270–283. doi: 10.1016/j.ejca.2009.10.032.
- Tomiška M, Novotná Š, Klvačová L et al. Vitamin D during cancer treatment. *Klin Onkol* 2015; 28(2): 99–104. doi: 10.14735/amko201599.
- Jacobs ET, Kohler LN, Kunihiro AG et al. Vitamin D and Colorectal, Breast, and Prostate Cancers: A Review of the Epidemiological Evidence. *J Cancer* 2016; 7(3): 232–240. doi: 10.7150/jca.13403.
- Newton-Bishop JA, Beswick S, Randerson-Moor J et al. Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels are associated with breslow thickness at presentation and survival from melanoma. *J Clin Oncol* 2009; 27(32): 5439–5444. doi: 10.1200/JCO.2009.22.1135.
- Wyatt C, Lucas RM, Hurst C et al. Vitamin D deficiency at melanoma diagnosis is associated with higher Breslow thickness. *PLoS One* 2015; 10(5): e0126394. doi: 10.1371/journal.pone.0126394.
- Slominski AT, Brożyna A, Jozwicki W et al. Vitamin D as an adjuvant in melanoma therapy. *Melanoma Manag* 2015; 2(1): 1–4. doi: 10.2217/mmt.14.36.
- Nelemans PJ, Groenendal H, Kiemeny LA et al. Effect of intermittent exposure to sunlight on melanoma risk among indoor workers and sun-sensitive individuals. *Environ Health Perspect* 1993; 101(3): 252–255.
- Gandini S, Raimondi S, Gnagnarella P et al. Vitamin D and skin cancer: a meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009; 45(4): 634–641. doi: 10.1016/j.ejca.2008.10.003.
- Newton-Bishop JA, Chang YM, Elliott F et al. Relationship between sun exposure and melanoma risk for tumours in different body sites in a large case-control study in a temperate climate. *Eur J Cancer* 2011; 47(5): 732–741. doi: 10.1016/j.ejca.2010.10.008.
- Bataille V, de Vries E. Melanoma – part 1: epidemiology, risk factors, and prevention. *BMJ* 2008; 337: a2249. doi: 10.1136/bmj.a2249.
- Brożyna AA, Jozwicki W, Janjetovic Z et al. Expression of vitamin D receptor decreases during progression of pigmented skin lesions. *Hum Pathol* 2011; 42(5): 618–631. doi: 10.1016/j.humpath.2010.09.014.
- MacLennan R, Kelly JW, Rivers JK et al. The Eastern Australian Childhood Naevus Study: site differences in density and size of melanocytic nevi in relation to latitude and phenotype. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48: 367–375. doi: 10.1067/mjd.2003.30.
- Larue L, de Vuyst F, Delmas V. Modeling melanoblast development. *Cell Mol Life Sci* 2013; 70(6): 1067–1079. doi: 10.1007/s00018-012-1112-4.
- Bulliard JD, De Weck D, Fisch T et al. Detailed distribution of melanoma and sunlight exposure: aetiological patterns from a Swiss series. *Ann Oncol* 2007; 18: 789–794. doi: 10.1093/annonc/mdl490.
- Jooisse A, de Vries E, Eckel R et al. Gender differences in melanoma survival: female patients have a decreased risk of metastasis. *J Invest Dermatol* 2011; 131(3): 719–726. doi: 10.1038/jid.2010.354.
- O'Hara C, Birch J, McCabe M et al. Gender differences in survival among teenagers and young adults with CNS tumours. *Cancer Outcomes Conference*. [online]. Available from: www.ncin.org.uk/conference.
- Lehmann B, Rudolph T, Pietzsch J et al. Conversion of vitamin D3 to 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 in human skin equivalents. *Exp Dermatol* 2000; 9(2): 97–103.
- Morris HA, Anderson PH. Autocrine and paracrine actions of vitamin D. *Clin Biochem Rev* 2010; 31(4): 129–138.
- Seifert M, Rech M, Meineke V et al. Differential biological effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on melanoma cell lines in vitro. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89–90(1–5): 375–379. doi: 10.1016/j.jsbmb.2004.03.002.
- Colston K, Colston MJ, Feldman D. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology* 1981; 108(3): 1083–1086. doi: 10.1210/endo-108-3-1083.
- Norman AW. Minireview: vitamin D receptor: new assignments for an already busy receptor. *Endocrinology* 2006; 147: 5542–5448. doi: 10.1210/en.2006-0946.
- Brożyna A, Zbytek B, Granese J et al. Mechanism of UV-related carcinogenesis and its contribution to nevi/melanoma. *Expert Rev Dermatol* 2007; 2(4): 451–469.
- Haussler MR, Jurutka PW, Mizwicki M et al. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1 $\alpha$ ,25(OH) $_2$ vitamin D3: Genomic and non-genomic mechanisms. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25: 543–559. doi: 10.1016/j.beem.2011.05.010.
- Szyska P, Zmijewski MA, Slominski AT. New vitamin D analogs as potential therapeutics in melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012; 12(5): 585–599. doi: 10.1586/era.12.40.
- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357(3): 266–281. doi: 10.1056/NEJMra070553.
- Jensen SS, Madsen MW, Lukas J et al. Inhibitory effects of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D(3) on the G(1)-S phase-controlling machinery. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 1370–1380. doi: 10.1210/mend.15.8.0673.
- Jiang F, Li P, Fornace AJ Jr et al. G2/M arrest by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in ovarian cancer cells mediated through the induction of GADD45 via an exonic enhancer. *J Biol Chem* 2003; 278(48): 48030–48040. doi: 10.1074/jbc.M308430200.
- Blutt SE, McDonnell TJ, Polek TC et al. Calcitriol-induced apoptosis in LNCaP cells is blocked by overexpression of Bcl-2. *Endocrinology* 2000; 141(1): 10–17. doi: 10.1210/endo.141.1.7289.
- Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol* 2014; 21(3): 319–329. doi: 10.1016/j.chembiol.2013.12.016.
- Høyer-Hansen M, Bastholm L, Mathiasen IS et al. Vitamin D analog EB1089 triggers dramatic lysosomal changes and Beclin 1-mediated autophagic cell death. *Cell Death Differ* 2005; 12(10): 1297–1309. doi: 10.1038/sj.cdd.4401651.
- James SY, Mackay AG, Colston KW. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and its analogues on induction of apoptosis in breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1996; 58(4): 395–401. doi: 10.1016/0960-0760(96)00048-9.
- Diaz GD, Paraskeva C, Thomas MG et al. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D3 and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res* 2000; 60(8): 2304–2312.
- Kumagai T, Shih LY, Hughes SV et al. 19-Nor-1,25(OH) $_2$ D2 (a novel, noncalcemic vitamin D analogue), combined with arsenic trioxide, has potent antitumor activity against myeloid leukemia. *Cancer Res* 2005; 65(6): 2488–2497. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2800.
- Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene* 2003; 22(56): 9030–9040. doi: 10.1038/sj.onc.1207116.
- Chakraborti CK. Vitamin D as a promising anticancer agent. *Indian J Pharmacol* 2011; 43(2): 113–120. doi: 10.4103/0253-7613.77335.
- Gupta R, Dixon KM, Deo SS et al. Photoprotection by 1,25-dihydroxyvitamin D3 is associated with an increase in p53 and a decrease in nitric oxide products. *J Invest Dermatol* 2007; 127(3): 707–715. doi: 10.1038/sj.jid.5700597.
- Kundu JK, Surh YJ. Inflammation: gearing the journey to cancer. *Mutat Res* 2008; 659(1–2): 15–30. doi: 10.1016/j.mrrev.2008.03.002.
- Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ et al. 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res* 2000; 87(3): 214–220. doi: 10.1161/01.RES.87.3.214.
- Ben-Shoshan M, Amir S, Dang DT et al. 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol) inhibits hypoxia-inducible factor-1/vascular endothelial growth factor pathway in human cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2007; 6(4): 1433–1439. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-06-0677.
- Moreno J, Krishnan AV, Swami S et al. Regulation of prostaglandin metabolism by calcitriol attenuates growth stimulation in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2005; 65(17): 7917–7925. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1435.
- Mantovani A, Allavena P, Sica A et al. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454(7203): 436–444. doi: 10.1038/nature07205.
- Hoessel B, Schmid JA. The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 86. doi: 10.1186/1476-4598-12-86.
- Cohen-Lahav M, Shany S, Tobin D et al. Vitamin D decreases NF $\kappa$ B activity by increasing I $\kappa$ B $\alpha$  levels. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21(4): 889–897. doi: 10.1093/ndt/gfi254.
- Madonna G, Ullman CD, Gentilcore G et al. NF- $\kappa$ B as potential target in the treatment of melanoma. *J Transl Med* 2012; 10: 53. doi: 10.1186/1479-5876-10-53.
- Villanueva J, Herlyn M. Melanoma and the tumor microenvironment. *Curr Oncol Rep* 2008; 10(5): 439–446.
- Kodet O, Lacinia L, Krejčí E et al. Melanoma cells influence the differentiation pattern of human epidermal keratinocytes. *Mol Cancer* 2015; 14: 1. doi: 10.1186/1476-4598-14-1.
- Reichrath J, Rech M, Moeini M et al. In vitro comparison of the vitamin D endocrine system in 1,25(OH) $_2$ D3-responsive and -resistant melanoma cells. *Cancer Biol Ther* 2007; 6(1): 48–55.
- Osborne JE, Hutchinson PE. Vitamin D and systemic cancer: is this relevant to malignant melanoma? *Br J Dermatol* 2002; 147(2): 197–213. doi: 10.1046/j.1365-2133.2002.04960.x.
- Eisman JA, Barka DH, Tutton PJ. Suppression of in vivo growth of human cancer solid tumor xenografts by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Cancer Res* 1987; 47(1): 21–25.
- Pawlowska E, Wysokinski D, Blasiak J. Nucleotide Excision Repair and Vitamin D—Relevance for Skin Cancer Therapy. *Int J Mol Sci* 2016; 17(4): 372. doi: 10.3390/ijms17040372.
- Dixon KM, Deo SS, Wong G et al. Skin cancer prevention: a possible role of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and its analogs. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97(1–2): 137–143. doi: 10.1016/j.jsbmb.2005.06.006.
- Bataille V, Grulich A, Sasieni P et al. The association between naevi and melanoma in populations with different sun exposure: a joint case-control study of melanoma in the UK and Australia. *Br J Cancer* 1998; 77(3): 505–510.
- Erdei E, Torres SM. A new understanding in the epidemiology of melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2010; 10(11): 1811–1823. doi: 10.1586/era.10.170.
- Garbe C, Leiter U. Melanoma epidemiology and trends. *Clin Dermatol* 2009; 27: 3–9. doi: 10.1016/j.clindermatol.2008.09.001.

55. Welch HG, Black WC. Overdiagnosis in cancer. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102(9): 605–613. doi: 10.1093/jnci/djq099.
56. Bleyer A, Welch HG. Effect of three decades of screening mammography on breast-cancer incidence. *N Engl J Med* 2012; 367(21): 1998–2005. doi: 10.1056/NEJMoa1206809.
57. Esserman L, Shieh Y, Thompson I. Rethinking Screening for Breast Cancer and Prostate Cancer *JAMA* 2009; 302(15): 1685–1692. doi: 10.1001/jama.2009.1498.
58. Godar DE, Landry RJ, Lucas AD: Increases UVA exposures and decreases cutaneous Vitamin D(3) may be responsible for the increasing incidence of melanoma. *Med Hypotheses* 2009; 72(4): 434–443. doi: 10.1016/j.mehy.2008.09.056.
59. Berwick M, Armstrong BK, Ben-Porat L et al. Sun exposure and mortality from melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97(3): 195–199. doi: 10.1093/jnci/dji019.
60. Field S, Newton-Bishop JA. Melanoma and vitamin D. *Mol Oncol* 2011; 5(2): 197–214. doi: 10.1016/j.molonc.2011.01.007.
61. Mason RS, Sequeira VB, Dixon KM et al. Photoprotection by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D and analogs: further studies on mechanisms and implications for UV-damage. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121(1–2): 164–168. doi: 10.1016/j.jsbmb.2010.03.082.
62. Damian DL, Kim YJ, Dixon KM et al. Topical calcitriol protects from UV-induced genetic damage but suppresses cutaneous immunity in humans. *Exp Dermatol* 2010; 19(8): e23–e30. doi: 10.1111/j.1600-0625.2009.00955.x.
63. Bishop DT, Demenais F, Iles MM et al. Genome-wide association study identifies three loci associated with melanoma risk. *Nat Genet* 2009; 41(8): 920–925. doi: 10.1038/ng.411.
64. Downing A, Yu XQ, Newton-Bishop JA et al. Trends in prognostic factors and survival from cutaneous melanoma in Yorkshire, UK and New South Wales, Australia between 1993 and 2003. *Int J Cancer* 2008; 123(4): 861–866. doi: 10.1002/ijc.23495.
65. de Luca HF. Evolution of our understanding of vitamin D. *Nutr Rev* 2008; 66(10 Suppl 2), 73–87. doi: 10.1111/j.1753-4887.2008.00105.x.
66. Webb AR, DeCosta BR, Holick MF. Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D3 by causing its photodegradation. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 68(5): 882–887. doi: 10.1210/jcem-68-5-882.
67. Tang JY, Fu T, Lau C et al. Vitamin D in cutaneous carcinogenesis: part II. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67(5): 817.e1–e11; quiz 827–828. doi: 10.1016/j.jaad.2012.07.022.
68. Nürnberg B, Gräber S, Gärtner B et al. Reduced serum 25-hydroxyvitamin D levels in stage IV melanoma patients. *Anticancer Res* 2009; 29(9): 3669–3674.
69. Gandini S, Franceschi F, Johanson H et al. Why vitamin D for cancer patients? *Ecancermedicalscience* 2009; 3: 160. doi: 10.3332/ecancer.2009.160.
70. Gorham ED, Garland CF, Garland FC, et al. Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97(1–2): 179–194. doi: 10.1016/j.jsbmb.2005.06.018.
71. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC et al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(1): 18–28.
72. Coyne health care. Vitamin D: A New Intervention for Melanoma? [online]. Available from: <https://coynehealthcare.coza/vitamin-d-a-new-intervention-for-melanoma/>.
73. Flynn A, Hirvonen T, Mensink GB et al. Intake of selected nutrients from foods, from fortification and from supplements in various European countries. *Food Nutr Res* 2009; 53. doi: 10.3402/fnr.v53i0.2038.
74. Balvers MG, Brouwer-Brolsma EM, Endenburg S et al. Recommended intakes of vitamin D to optimise health, associated circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations, and dosing regimens to treat deficiency: workshop report and overview of current literature. *J Nutr Sci* 2015; 4: e23. doi: 10.1017/jns.2015.10.
75. Bade B, Zdebek A, Wagenpfeil S et al. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with increased risk for melanoma and unfavourable prognosis. *PloS One* 2014; 9: e112863. doi: 10.1371/journal.pone.0112863.
76. Timerman D, McEnery-Stonelake M, Joyce CJ et al. Vitamin D deficiency is associated with a worse prognosis in metastatic melanoma. *Oncotarget* 2017; 8(4): 6873–6882. doi: 10.18632/oncotarget.14316.
77. Saiag P, Aegerter P, Vitoux D et al. Prognostic Value of 25-hydroxyvitamin D3 Levels at Diagnosis and During Follow-up in Melanoma Patients. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(12). doi: 10.1093/jnci/djv264.
78. Saw RP, Armstrong BK, Mason RS et al. Adjuvant therapy with high dose vitamin D following primary treatment of melanoma at high risk of recurrence: a placebo controlled randomised phase II trial (ANZMTG 02.09 Mel-D). *BMC Cancer* 2014; 14: 780. doi: 10.1186/1471-2407-14-780.
79. Heaney RP, Davies KM, Chen TC et al. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(1): 204–210.
80. Sambrook P. Vitamin D and fractures: quo vadis? *Lancet* 2005; 365(9471): 1599–1600. doi: 10.1016/S0140-6736(05)66385-4.
81. Adams JS, Lee G. Gains in bone mineral density with resolution of vitamin D intoxication. *Ann Intern Med* 1997; 127(3): 203–206. doi: 10.7326/0003-4819-127-3-199708010-00004.
82. Koutkia P, Chen TC, Holick MF. Vitamin D intoxication associated with an over-the-counter supplement. *N Engl J Med* 2001; 345(1): 66–67. doi: 10.1056/NEJM200107053450114.
83. Hathcock JN, Shao A, Vieth R et al. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(1): 6–18.
84. Bacon CJ, Gamble GD, Horne AM et al. High-dose oral vitamin D3 supplementation in the elderly. *Osteoporos Int* 2009; 20(8): 1407–1415. doi: 10.1007/s00198-008-0814-9.
85. Plum LA, Prah JM, Ma X et al. Biologically active noncalcemic analogs of 1alpha, 25dihydroxyvitamin D with an abbreviated side chain containing no hydroxyl. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(18): 6900–6904. doi: 10.1073/pnas.0401656101.
86. Holick MF, Garabedian M, Schnoes HK et al. Relationship of 25-hydroxyvitamin D3 side chain structure to biological activity. *J Biol Chem* 1975; 250(1): 226–230.
87. Zmijewski MA, Li W, Chen J et al. Synthesis and photochemical transformation of 3β,21-dihydroxypregna-5,7-dien-20-one to novel secosteroids that show anti-melanoma activity. *Steroids* 2011; 76(1–2): 193–203. doi: 10.1016/j.steroids.2010.10.009.
88. ClinicalTrials.gov. MelaViD: A Trial on Vitamin D Supplementation for Resected Stage II Melanoma Patients. [online]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01264874>.
89. ClinicalTrials.gov. Vitamin D Supplementation in Cutaneous Malignant Melanoma Outcome (ViDMe). [online]. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01748448>.
90. Szyszka P, Zmijewski MA, Slominski AT. New vitamin D analogs as potential therapeutics in melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012; 12(5): 585–599. doi: 10.1586/era.12.40.
91. Slominski AT, Brozyna A, Jozwicki W et al. Vitamin D as an adjuvant in melanoma therapy. *Melanoma Manag* 2015; 2(1): 1–4. doi: 10.2217/mmt.14.36.
92. Sondak VK, McIver B, Kanetsky PA. Vitamin D and Melanoma: What Do We Tell Our Patients? *J Clin Oncol* 2016; 34(15): 1713–1714. doi: 10.1200/JCO.2016.66.5240.
93. Kubešová Matějovská H, Tůmová J, Polcarová V et al. Vitamin D – remarks of known and overview of new facts. *Vnitr Lek* 2012; 58(3): 196–201.
94. Vidailhet M, Mallet E, Bocquet A et al. Vitamin D: still a topical matter in children and adolescents. A position paper by the Committee on Nutrition of the French Society of Paediatrics. *Arch Pediatr* 2012; 19(3): 316–328. doi: 10.1016/j.arcped.2011.12.015.
95. Erdei E, Torres SM. A new understanding in the epidemiology of melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2010; 10(11): 1811–1823. doi: 10.1586/era.10.170.
96. 99. EUCAN/WHO. Malignant melanoma of skin: Estimated incidence, mortality and prevalence of both sexes. [online]. Available from: <http://eco.iarc.fr/eucan/Cancer.aspx?Cancer=20>.

# Kontroverze v pooperační léčbě low-grade gliomů

## Controversy in the Postoperative Treatment of Low-grade Gliomas

Kazda T.<sup>1,2</sup>, Lakomý R.<sup>3</sup>, Poprach A.<sup>3</sup>, Pospíšil P.<sup>1</sup>, Jančálek R.<sup>4</sup>, Šlampa P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Klinika radiační onkologie LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>2</sup> CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU, Brno

<sup>3</sup> Klinika komplexní onkologické péče LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>4</sup> Neurochirurgická klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně

### Souhrn

**Východiska:** Optimální léčba low-grade gliomů je stále kontroverzní. K hlavním léčebným metodám patří chirurgie, radioterapie a chemoterapie. Přes pokroky v onkologii stále neznáme ani optimální sekvenci a kombinaci léčebných metod, ani jejich správné načasování. Pořád není jasné, zda temozolomid může nahradit efektivní, ale příliš toxický režim PCV (prokarbazin, lomustin, vinkristin) a zda může být použit v 1. linii léčby místo radioterapie. Na tyto otázky nám možná odpoví zralá data z dalších studií fáze III (CODEL, EORTC 22033-26033). Analýza přežití v korelaci s molekulárními markery (kodelece 1p/19q, mutace genu pro IDH1/2 a metylace promotoru genu pro MGMT) je nezbytná. Obecným problémem všech klinických studií zabývajících se low-grade gliomy je nutnost dlouhodobého sledování pro získání validních dat. Jedná se totiž o pomalu progredující onemocnění. V mezidobí jsou však k dispozici nové léčebné postupy a poznatky ze základního výzkumu a zralá data proběhlých klinických studií jsou tak těžko uplatnitelná v klinické praxi. Příkladem je nedávno publikovaná studie RTOG 9802 hodnotící význam přidání adjuvantní chemoterapie PCV k radioterapii u vysokorizikových pacientů s low-grade gliomy, kde nábor pacientů probíhal před téměř dvěma dekádami. Kvalita života po léčbě u pacientů s pravděpodobným dlouhodobým přežitím je také velmi důležitá a na její zachování je kladen čím dál větší důraz. **Cíl:** Cílem sdělení je shrnout výsledky z klíčových klinických studií a poukázat na řadu sporných otázek, se kterými se budeme potýkat v běžné klinické praxi. Cílem je také diskutovat tuto problematiku ve světle nově etablovaných molekulárních markerů z nové WHO klasifikace mozkových nádorů.

### Klíčová slova

gliom – astrocytom – radioterapie – temozolomid – PCV – kognitivní funkce

### Summary

**Background:** The optimal treatment for low-grade gliomas remains controversial. Neurosurgery, radiotherapy, and chemotherapy are the main treatment options. Despite advances in oncology, there are still a lot of uncertainties, and the optimal sequences, combinations, and timings of these procedures have not yet been optimized. It is still unclear whether temozolomide can replace effective, but toxic PCV chemotherapy (procarbazine, lomustine, vincristine) and whether temozolomide can be used upfront alone instead of radiotherapy alone. Mature results from phase III trials (CODEL, EORTC 22033-26033) will provide answers to these questions. Correlative analyses of survival data and molecular marker findings (1p/19q co-deletion, IDH1/2 mutation, and MGMT promoter methylation status) are essential. Due to slow progressive nature of the disease, all clinical trials with low-grade gliomas are complicated by the need for long-term follow-up to obtain valid mature data, which makes any new treatment procedures or developments in basic research developed during the course of closed clinical trials difficult to apply in daily clinical practice. An example is the recently published RTOG 9802 study evaluating the role of adjuvant PCV in combination with radiotherapy for the treatment of high-risk low-grade glioma patients where the recruitment of patients was initiated almost two decades ago. Health-related quality of life after treatment of patients with expected long-term survival is also very important and its maintenance is currently the focus of considerable interest. **Aim:** The main objective of the present review is to summarize the results of key clinical trials and highlight controversial issues that could have an impact on future daily practice. Another aim is to discuss these issues in the light of newly established molecular markers from the new 2016 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System.

### Key words

glioma – astrocytoma – radiotherapy – temozolomide – PCV – cognition

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805) a projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky CEITEC 2020 (LQ1601).

This work was supported by MH CZ – RVO (MMCI, 00209805) and by project of the Ministry of Education, Youths and Sports of the Czech Republic CEITEC 2020 (LQ1601).

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

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

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

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



MUDr. Radek Lakomý, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče  
LF MU a Masarykův onkologický  
ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: lakomy@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 2. 2017

Přijato/Accepted: 20. 3. 2017

doi: 10.14735/amko2017337

## Úvod

Low-grade gliomy (LGG) představují cca 5–10 % všech primárních mozkových nádorů u dospělých. Nejčastěji postihují mladé pacienty ve 3. a 4. dekádě jejich života. Téměř u všech pacientů dochází během několika roků k progresi onemocnění, s postupnou neurologickou deteriorací a následným předčasným úmrtím. K základním léčebným metodám stále patří neurochirurgický výkon, radioterapie (RT) a chemoterapie (CHT). Možnosti jednotlivých metod, stejně jako diagnostiky se v posledních letech významně zlepšily. Pacientům jsme tak schopni nabídnout radikálnější operační výkony, modernější RT techniky či méně toxickou CHT. Jejich optimální sekvence, kombinace, ale i načasování jsou však stále kontroverzní a jsou předmětem dalšího výzkumu [1–3]. Cílená léčba nebo moderní imunoterapie s checkpoint inhibitory se v léčbě LGG zatím neuplatnily. S přibývajícím znalostmi z oblasti molekulární biologie a genetiky můžeme již lépe predikovat biologické chování onemocnění a jeho prognózu, což se také odráží v nové WHO klasifikaci z roku 2016 [4,5]. Je jen otázkou času, kdy budeme znát u LGG nejen prognostické, ale i prediktivní molekulární markery a budeme mít také k dispozici nové terapeutické cíle. Naše léčba pak bude efektivnější, což se projeví v lepších léčebných výsledcích se zachováním dobré kvality života těchto převážně mladých pacientů. Cílem sdělení je shrnout základní informace o jednotlivých léčebných metodách a především poukázat na sporné otázky, se kterými se potýkáme v běžné klinické praxi.

## Optimální čas zahájení pooperační léčby

Rozsah resekcí výkonu a jeho vliv na parametry přežití byl předmětem řady retrospektivních analýz. Podobně jako u high-grade gliomů, i u LGG pacienti profitují z maximální možné a časné resekce [6–10]. Pomineme-li konkrétní operační techniku a taktiku, zůstávají významnější nejasnosti u primárně radikálně inoperabilních LGG, kde se praxe liší mezi jednotlivými pracovišti vč. použití neoadjuvantní léčby temozolomidem (TMZ) [11,12]. Složitější je

otázka zahájení pooperační léčby u pomalu progredujících nádorů. Odložením RT se snažíme vyhnout pozdní neurologické toxicitě, kterou popsali Douw et al u pacientů s LGG po RT v porovnání s RT naivními pacienty [11]. Navíc odložená RT vs. časná RT nemá dle velké klinické studie (EORTC 22845, tzv. Non-Believers Trial) významný rozdíl v celkovém přežití (overall survival – OS), i když časná RT signifikantně prodlužuje čas bez progresse onemocnění [13,14]. Bohužel tato studie nehodnotila kvalitu života pacientů a dat z jiných prospektivních studií je málo. Zda je tedy odklad RT i dnes správná volba, není úplně jasné, protože je jisté, že se na deterioraci kognitivních funkcí podílejí i jiné faktory, kdy tím nejdůležitějším může být (brzy progredující) tumor samotný [15,16]. Objektivně zhodnotit vliv samotné progresse nádoru na kognitivní funkce má za úkol observační studie RTOG 0925. Toxicita s využitím moderních technik RT totiž nemusí být tak významná jako dříve (např. radioprotekce kontralaterálního, event. i ipsilaterálního hipokampu či jiných struktur mozku) [17–19]. Navíc pacienti ve zmiňované studii Douw et al nebyli randomizováni (pacienti s RT měli závažnější, větší tumory) a ti, kteří podstoupili RT, absolvovali mnohem vyšší dávku (průměrně 56,5 Gy), než je v současné době doporučovaných 45–50,4 Gy à 1,8 Gy [11]. Srovnáním dávky pooperační RT u LGG se zabývala druhá velká studie (EORTC 22844, tzv. Believers Trial) srovnávající 45 vs. 59,4 Gy, kdy vyšší dávka nevedla ani k lepšímu OS, ani PFS, naopak způsobovala vyšší únavu a emoční labilitu [20,21].

Pokud jde o vhodný interval pro zahájení adjuvantní CHT, tak zde je ještě méně jednoznačných doporučení. Ve většině studií byla léčba s CHT zahájena do 12 týdnů od operace. Podobně i délka adjuvantní CHT není pevně stanovena, neměla by však přesáhnout 12 měsíců [22]. Určité spekulace nabízí post hoc analýza nedávno publikované randomizované studie fáze III RTOG 9802 srovnávající samotnou RT s RT + PCV (prokarbazin, lomustin, vinkristin) u high-risk LGG [23,24]. Celkem 77 % pacientů, kteří měli progresi v rameni se samotnou RT, bylo dále léčeno

CHT. V této podskupině jde tedy *de facto* o srovnání RT + brzká CHT vs. RT + opožděná CHT při progresi. Jisté tak ale nelze interpretovat základní pozorovaný rozdíl v OS 13,3 vs. 7,8 roku. Iniciální léčba RT + PCV se ale zdá účinnější než primární RT a salvage (záchranná) CHT až v době progresse [23,25]. Jako další důležitý nezávislý negativní prognostický faktor se ukazuje rychlost růstu nádoru (parametr velocity), jež je asociována s časnější maligní progresí [26].

## CHT a její kontroverze v léčbě high-risk LGG

### Samotná CHT nebo kombinace či sekvence s RT

Odložení RT a primární užití CHT, nejlépe s TMZ, je často diskutované téma. Srovnáním CHT vs. RT v 1. linii léčby se zabývaly dvě velké klinické studie fáze III – NOA-04 u anaplastických gliomů (PCV nebo TMZ vs. RT) a studie EORTC 22033-26033 u low-grade gliomů (TMZ vs. RT) [22,27,28]. U studie NOA-04 byl medián přežití bez progresse (progression-free survival – PFS) v rameni s CHT 31 měsíců (18,2 měsíce pro anaplastické astrocytomy, 52,7 měsíce pro anaplastické oligodendrogliomy). U studie EORTC 22033-26033 byl medián PFS u CHT s TMZ 39 měsíců (55 měsíců s kodelcí 1p/19q a 30 měsíců bez kodelce). V ramenech se samotnou iniciální RT bylo PFS u NOA-04 30,6 měsíce, EORTC 22033-26033 46 měsíců a u RTOG 9802 48 měsíců. Žádný výsledek se ani zdaleka neblíží PFS u kombinace RT + PCV u studie RTOG 9802 (10,4 roku) [23]. V současné době tedy není k dispozici žádný důkaz potvrzující lepší výsledky samotné CHT v porovnání se samotnou RT [29]. Ačkoli může být takovéto srovnání zkresleno zařazováním různých pacientů do jednotlivých studií (grade 3, resp. grade 2 gliomy), ve světle aktuální WHO klasifikace z roku 2016 se zdá být důležitější molekulární profil konkrétního nádoru, a zastoupení jednotlivých nádorů ve zmiňovaných studiích (NOA-04, EORTC 22033-26033 a RTOG9802) tak mohlo být dosti podobné (už jen zařazování pacientů s diagnózou „oligoastrocytom“ je dle klasifikace WHO 2016 jednoznačně zdrojem bias). Tak např. studie EORTC 22033-26033 naznačila, že u pro-

gnosticky příznivé skupiny LGG definované molekulárně-biologickými markery (*IDHmt* a 1p/19q kodelece) nebude CHT TMZ horší, z pohledu parametru PFS, než samotná RT, a tím by se část pacientů mohla RT a její potenciální neurologické toxicitě vyhnout, resp. ji alespoň oddálit. Bude ale třeba ještě vyčkat na data týkající se OS. Podobné výsledky přinášejí i další dvě velké studie fáze III s anaplastickými oligodendrogliomy s kodelecí 1p/19q (RTOG 9402, EORTC 26951). I zde byla kombinace RT + PCV lepší než sekvence (CHT až v době progresu) a data PFS predikovala výsledek OS [30,31].

Zatím nelze jednoznačně doporučit režim kombinující TMZ s RT (Stuppův režim), protože se nedá vyloučit potenciace pozdních neurologických následků RT [32]. Předběžné výsledky jednoramenné klinické studie RTOG 0424 fáze II s konkomitantní a adjuvantní CHT s TMZ a RT 54 Gy/30 frakcí u high-risk LGG (tři a více rizikové faktory) ale ukazují, že TMZ prodlužuje OS ve srovnání s historickými kontrolami se samotnou RT ( $p < 0,001$ ). Při mediánu sledování 4,1 roku nebyl zatím medián OS dosažen, 3leté OS bylo 73,1 % a 3leté PFS 59,2 % [33]. Pokud je tedy u informovaného pacienta s LGG na základě multidisciplinární rozvahy indikována další onkologická léčba, pak by měla podle současné medicíny založené na důkazech (evidence-based medicine – EBM) sestávat z RT následované PCV CHT. Samotná indikace je ale v praxi problematická. Je možné řídit se ve světle poznatků z EORTC 22033-26033 o významu molekulární charakterizace (a s vědomím velké interobservační variability v histologické diagnostice grade 2 gliomů) striktně vstupními kritérii studie RTOG 9802 (věk 18–39 let po neradikální resekci nebo věk  $\geq 40$  let s jakoukoli resekci)? Pak by byla stejná léčba indikována pro 45letého pacienta po radikální resekci LGG – *IDHmt* oligodendrogliomu s 1p/19q kodelecí a pro 45letého pacienta s radikálně resekovaným triple-negativním astrocytomem (bez 1p/19q kodelece, *IDHwt* a *TERTwt*) [34]. Oba splňují indikační kritéria pro zařazení do RTOG 9802. Označení high-risk, tak jak bylo použito ve studii RTOG 9802, může být ve finále matoucí. Bez ohledu na zmí-

něné kontroverze v definici high-risk pacientů (a tedy indikace k pooperační onkologické terapii) zůstává neoddiskutovatelnou skutečností, že neselektování pacientů splňujících kritéria pro zařazení do RTOG 9802 mají naprosto bezprecedentní prodloužení OS o 5,5 roku při léčbě RT + PCV ve srovnání s RT samotnou, a to bez ohledu na histologické nebo molekulární varianty tumoru. Jako taková splňuje studie RTOG 9802 kritéria důkazu úrovně 1 a je právem mnohými označována jako „practice changing“ ve světě EBM. Důvodem, proč léčíme podle zásad EBM, je skutečnost, že nikdo nedokáže dostatečně přesně predikovat účinnost nebo toxicitu dané léčby bez EBM [2]. Tak např. dokáže někdo odhadnout, zda by při antiangiogenní terapii LGG byla pozorována vyšší invazivita recidivy, jako bylo popsáno u high-grade gliomů? Změna charakteru růstu nemusí být problém u rychle rostoucích a progredujících glioblastomů, ale u pomalu rostoucích LGG u pacientů s prognózou  $\geq 10$  let by se již mohlo jednat o vážný problém [35].

#### Nejlepší CHT režim – PCV nebo TMZ

Oligodendrogliomy jsou obecně více chemosenzitivní než astrocytomy, zvláště pokud je přítomná kodelece 1p/19q a *IDHmt*. Optimální CHT režim však stále neznáme. PCV režim byl vytvořen v polovině 80. let minulého století na základě kombinace cytostatik působících v odlišných fázích buněčného cyklu. Režim byl velmi populární pro vysokou četnost léčebných odpovědí u rekurentních oligodendrogliomů. V poslední dekádě je ale režim často nahrazován méně toxickým a snadněji aplikovatelným TMZ [36]. Bohužel zatím nelze říci, že TMZ je stran účinnosti rovnocenná alternativa, nemáme data ze studií přímo porovnávajících oba režimy v primární léčbě u LGG. Pouze orientační srovnání obou režimů je zatím možné jen u anaplastických gliomů ve studii NOA-04, kde TMZ potvrdil svoji nižší toxicitu [27]. Dle recentní publikace ze studie NOA-04 vycházející z dlouhodobého sledování pacientů není rozdíl v PFS a OS mezi RT a CHT (TMZ nebo PCV) [28]. Jak u RT, tak i u CHT byl zaznamenán

delší PFS u pacientů s *IDH1mt* a metylací promotoru genu *MGMT* ( $O^6$ -metylguanin-metyltransferázy). Pokud jde o CHT, tak pacienti s CIMP (hypermetylační stav ostrůvků cytozin-guanin nádorového genomu) a kodelecí 1p/19q měli PFS delší u režimu PCV než u TMZ (HR 0,39;  $p = 0,031$ ). Výsledky je ale třeba brát jen jako orientační, protože cílem studie nebylo přímé srovnání režimů CHT [28]. Na obě otázky – náhrada PCV za TMZ a indikace konkomitantní a adjuvantní CHT/RT s TMZ nám možná odpoví studie CODEL fáze III u anaplastických gliomů a LGG s kodelecí 1p/19q. Cílem studie je srovnat RT + PCV (šest cyklů) vs. konkomitantní a adjuvantní CHT/RT s TMZ (adjuvantně šest až dvanáct cyklů), studie aktuálně běží (NCT00887146).

#### Molekulární prognostické a prediktivní markery u LGG

Ve studiích s PCV u anaplastických oligodendrogliomů (RTOG 9402, EORTC 26951) byl jasný benefit CHT prokázán u pacientů s kodelecí 1p/19q a/nebo *IDHmt* [37]. Vztah k *IDH* naznačuje třetí studie v pořadí – RTOG 9802. K dalším příznivým markerům se dnes řadí CIMP a metylační stav promotoru genu *MGMT* [38]. Stejně výsledky nám přinesly také retrospektivní analýzy souborů pacientů s low-grade oligodendrogliomy. I zde je kodelece 1p/19q pozitivní prognostický a prediktivní faktor [39,40]. Bohužel ve studii RTOG 9802 toto nemohlo být pro nedostatek nádorové tkáně potvrzeno [23]. Většina nádorů s kodelecí 1p/19q má také *IDH1mt* a tato mutace je často spojena právě s fenotypem CIMP. Silná asociace mezi CIMP a metylací promotoru *MGMT* naznačuje, že metylační stav promotoru *MGMT* je součástí komplexního, prognosticky příznivého genomového stavu, který kromě chemosenzitivity může mít vztah i k relativní radiosenzitivitě těchto gliálních nádorů. *IDHmt* je charakteristická pro LGG a je přítomna u více než 80 % těchto tumorů, zvláště u oligodendrogliomů [41,42]. Dle studie EORTC 22033-26033 měli nejlepší prognózu pacienti s *IDHmt* a kodelecí 1p/19q. Naopak nejhorší výsledky měli pacienti *IDHwt*. *IDHwt* nádory mají pravděpodobně blíže k jiným histologickým jednotkám (nej-

Tab. 1. Základní informace o hlavních diskutovaných studiích.

| Studie                 | Fáze | Diagnóza                                    | Nábor        | Stav studie                | Počet | Ramena   | Výsledek   |
|------------------------|------|---|--------------|----------------------------|-------|--|--|
| RTOG 9802 [23]         | III  | high-risk LGG                               | 1998–2002    | ukončena, dlouhý follow-up | 254   | RT vs. RT + 6× PCV                               | PFS i OS lepší při kombinované léčbě                 |
| EORTC 22033-26033 [22] | III  | high-risk LGG                               | 2005–2012    | ukončena, krátký follow-up | 477   | dose-dense TMZ vs. RT                            | PFS stejné, kvalita života a kognice stejné          |
| CODEL                  | III  | anaplastické gliomy a LGG s kodeleci 1p/19q | 2009–doposud | nábor pokračuje            | 360   | RT + PCV vs. RT s konkomitantní a adjuvantní TMZ | –  |
| EORTC 22845 [14]       | III  | LGG   | 1986–1997    | ukončena, dlouhý follow-up | 314   | brzká vs. opožděná RT (54 Gy)                    | OS stejné, PFS lepší pro brzkou RT                   |
| EORTC 22844 [20]       | III  | LGG   | 1985–1991    | ukončena, dlouhý follow-up | 379   | RT 45 Gy vs. 59,4 Gy                             | OS i PFS stejné                                      |
| NOA-04 [28]            | III  | anaplastické gliomy                         | 1999–2008    | ukončena, dlouhý follow-up | 318   | RT vs. PCV nebo TMZ                              | OS i PFS stejné                                      |
| RTOG 9402 [30]         | III  | AOD   | 1994–2005    | ukončena, dlouhý follow-up | 291   | RT vs. PCV + RT                                  | OS stejné (s 1p/19q kodeleci lepší OS při kombinaci) |
| EORTC 26951 [31]       | III  | AOD   | 1996–2002    | ukončena, dlouhý follow-up | 368   | RT vs. RT + PCV                                  | OS i PFS lepší při kombinaci                         |
| RTOG 0424 [33]         | II   | high-risk LGG                               | 2005–2009    | ukončena, krátký follow-up | 129   | RT + konkomitantní a adjuvantní TMZ              | 3leté OS lepší, než u historických kontrol           |

LGG – low-grade gliomy, AOD – anaplastický oligodendrogliom, TMZ – temozolomid, RT – radioterapie, PCV – prokarbazin, lomustin, vinkristin, PFS – přežití bez progresu, OS – celkové přežití

častěji glioblastom) a je potřeba je blíže popsat [22]. *MGMT* testování u *IDHmt* nádorů nepřináší další prognostický či prediktivní přínos (metylace *MGMT* je u většiny *IDHmt* pacientů). Význam ale může mít u *IDHwt* pacientů, což bylo potvrzeno u *IDHwt* anaplastických gliomů, kde metylace *MGMT* měla prediktivní význam pro efekt léčby CHT [38,43]. Vyšetření stavu *IDH* a 1p/19q je v rámci stanovení tzv. integrované diagnózy již součástí nové WHO klasifikace mozkových nádorů z roku 2016 [5,44,45]. Zdá se, že molekulární profil tumoru může být v mnoha případech důležitější než výsledek tradičního histopatologického vyšetření.

### Studie s LGG a problematice srovnání jejich výsledků

LGG jsou pomalu progredující onemocnění. Abychom získali zralá data z pohledu OS, musíme čekat téměř dvě dekády. Pokrok v medicíně jde během

této doby kupředu, což v konečném důsledku znemožní srovnání výsledků starších a nových studií. Studie se pak často liší v základních parametrech, jako jsou jejich cíle či klasifikace high-risk skupiny pacientů. Navíc parametry PFS a OS mohou být v novějších studiích delší také díky lepší diagnostice a pokrokům v chirurgii, RT a CHT. Za zlatý standardní parametr pro hodnocení účinnosti léčby v onkologii stále považujeme OS pacientů, nicméně čekat dvě dekády na zralá data ze studií s LGG je do budoucna také nereálné. Proto je třeba dále hledat zástupné markery (surrogates) korelující s léčebnou odpovědí a potažmo s OS, jako je např. kontrola průvodní epilepsie nebo PFS [46]. Interpretace dat týkajících se PFS je ale u nádorů mozku problematická, protože hodnocení a srovnávání progresu na zobrazovacích metodách u pacientů po RT, v rámci vzniklých poradiačních změn, a po CHT je nesnadné. Pro exaktní

hodnocení PFS bude nutné standardizované hodnocení MRI, k čemuž je nutná teprve nedávno stanovená standardizace akvizičních parametrů gliomových MRI protokolů [47,48]. Základní informace výše diskutovaných nejvýznamnějších studií jsou shrnuty v tab. 1.

### Diskuze

Problematika pooperační léčby u LGG je stále velmi složitá. Výsledky nedávno publikovaných klinických studií a poznatky z oblasti molekulárních markerů, které jsou součástí WHO klasifikace z roku 2016, nás nutí ke zjednodušení a vytvoření nových léčebných algoritmů použitelných v běžné klinické praxi [4,5,22,23]. Z tohoto pohledu bychom mohli u pacientů s *IDHmt* a kodeleci 1p/19q doporučovat RT + PCV [23,36]. U pacientů s *IDHwt* by pro jejich podobu s glioblastomy byla vhodná konkomitantní CHT/RT s TMZ (nebo podobně jako u *IDHwt* anaplas-



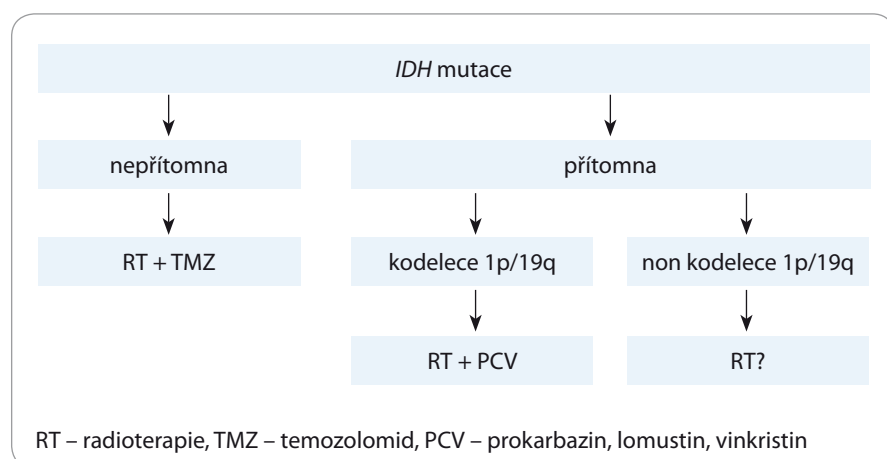


Schéma 1. Algoritmus léčby LGG podle molekulárních markerů [36].

tických astrocytomů bude mít prediktivní význam *MGMT* predikující benefit přidání alkylační CHT). U pacientů *IDHmt*, bez kodelece 1p/19q, by pravděpodobně byla indikována samotná RT, situace však není tak jasná, (schéma 1) [22,36]. Musíme si být vědomi, že rozhodování jen na základě molekulárního profilu může být zatíženo chybou. V úvahu totiž musíme brát i další parametry jako věk, komorbiditu, přítomnost symptomů, kontrolu epilepsie, rozsah resekce, růstovou kinetiku nádoru a samozřejmě také vedlejší účinky použité metody, zvláště pozdní toxicitu RT. Kvalita života se dnes stává významným faktorem pro hodnocení úspěšnosti léčby, i když je její hodnocení pomocí různých dotazníků na mnoha pracovištích z časových důvodů stále opomíjeno [36]. Dalším úskalím je proveditelnost velkých klinických studií u LGG. Vzhledem k dlouhé délce života většiny pacientů s LGG je nutný k dosažení definitivních závěrů dlouhý follow-up. Vývoj v medicíně však mezitím značně postoupil a získaná data je pak problematické uplatnit v praxi. Z tohoto pohledu se budeme v budoucnu pravděpodobně stále více spoléhat na informace získané ze společných mezinárodních databází pacientů s LGG a menší randomizované klinické studie budou zaměřeny na řešení jen dílčích problémů [36].

### Závěr

I přes pokroky v chirurgii, RT a CHT zůstávají LGG inkurabilním onemocněním. S přibývajícím znalostmi z ob-

lasti molekulární biologie a genetiky jsme již schopni lépe odhadnout prognózu pacienta, problémy však stále máme v predikci léčebné odpovědi. Bez těchto znalostí je problematické stanovit optimální léčebné algoritmy. Situaci navíc komplikuje variabilita celé řady klinických faktorů a samozřejmě i snaha o dosažení co nejlepší kvality života po léčbě. Velké naděje jsou dnes vkládány do mezinárodních klinických databází, které nám mohou poskytnout řadu relevantních informací, a to dříve než klasické klinické studie s mnohaletým sledováním.

### Literatura

1. Tandon A, Schiff D. Therapeutic decision making in patients with newly diagnosed low grade glioma. *Curr Treat Options Oncol* 2014; 15(4): 529–538. doi: 10.1007/s11864-014-0304-6.
2. Laack NN, Sarkaria JN, Buckner JC. Radiation Therapy Oncology Group 9802: Controversy or Consensus in the Treatment of Newly Diagnosed Low-Grade Glioma? *Semin Radiat Oncol* 2015; 25(3): 197–202. doi: 10.1016/j.semradi.2015.02.004.
3. Polívka J Jr, Polívka J, Rohan V et al. Aktuální pohled na management nízkostupňových gliových nádorů centrálního nervového systému. *Cesk Slov Neurol N* 2016; 79/112(5): 534–540. doi: 10.14735/amcsnn2016534.
4. Brat DJ, Verhaak RG, Aldape KD et al. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas. *N Engl J Med* 2015; 372(26): 2481–2498.
5. Louis DN, Perry A, Reifenberger G et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131(6): 803–820. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
6. Ius T, Isola M, Budai R et al. Low-grade glioma surgery in eloquent areas: volumetric analysis of extent of resection and its impact on overall survival. A single-institution experience in 190 patients: clinical article. *J Neurosurg* 2012; 117(6): 1039–1052. doi: 10.3171/2012.8.JNS.12393.
7. Duffau H, Taillandier L. New concepts in the management of diffuse low-grade glioma: proposal of a multi-stage and individualized therapeutic approach. *Neuro Oncol* 2015; 17(3): 332–342. doi: 10.1093/neuonc/nou153.

8. Smith JS, Chang EF, Lamborn KR et al. Role of extent of resection in the long-term outcome of low-grade hemispheric gliomas. *J Clin Oncol* 2008; 26(8): 1338–1345. doi: 10.1200/JCO.2007.13.9337.
9. Jakola AS, Unsgard G, Myrnes KS et al. Surgical strategy in grade II astrocytoma: a population-based analysis of survival and morbidity with a strategy of early resection as compared to watchful waiting. *Acta Neurochir* 2013; 155(12): 2227–2235. doi: 10.1007/s00701-013-1869-8.
10. Aghi MK, Nahed BV, Sloan AE et al. The role of surgery in the management of patients with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol* 2015; 125(3): 503–530. doi: 10.1007/s11060-015-1867-1.
11. Douw L, Klein M, Fagel SS et al. Cognitive and radiological effects of radiotherapy in patients with low-grade glioma: long-term follow-up. *Lancet Neurol* 2009; 8(9): 810–818. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70204-2.
12. Jo J, Williams B, Smolkin M et al. Effect of neoadjuvant temozolomide upon volume reduction and resection of diffuse low-grade glioma. *J Neurooncol* 2014; 120(1): 155–161. doi: 10.1007/s11060-014-1538-7.
13. Ryken TC, Parney I, Buatti J et al. The role of radiotherapy in the management of patients with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol* 2015; 125(3): 551–583. doi: 10.1007/s11060-015-1948-1.
14. van den Bent MJ, Afra D, de Witte O et al. Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: the EORTC 22845 randomised trial. *Lancet* 2005; 366(9525): 985–990.
15. Klein M, Heimans JJ, Aaronson NK et al. Effect of radiotherapy and other treatment-related factors on mid-term to long-term cognitive sequelae in low-grade gliomas: a comparative study. *Lancet* 2002; 360(9343): 1361–1368.
16. Scocciati S, Detti B, Cipressi S et al. Changes in neurocognitive functioning and quality of life in adult patients with brain tumors treated with radiotherapy. *J Neurooncol* 2012; 108(2): 291–308. doi: 10.1007/s11060-012-0821-8.
17. Kazda T, Jancalek R, Pospisil P et al. Why and how to spare the hippocampus during brain radiotherapy: the developing role of hippocampal avoidance in cranial radiotherapy. *Radiat Oncol* 2014; 9: 139. doi: 10.1186/1748-717X-9-139.
18. Kazda T, Pospisil P, Vrzal M et al. Volumetric modulated arc therapy for hippocampal-sparing radiotherapy in transformed low-grade glioma: A treatment planning case report. *Cancer Radiother* 2015; 19(3): 187–191. doi: 10.1016/j.canrad.2014.11.013.
19. Laack NN, Brown PD, Ivinik RJ et al. Cognitive function after radiotherapy for supratentorial low-grade glioma: a North Central Cancer Treatment Group prospective study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63(4): 1175–1183.
20. Karim AB, Maat B, Hatlevoll R et al. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low-grade cerebral glioma: European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Study 22844. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996; 36(3): 549–556.
21. Kiebert GM, Curran D, Aaronson NK et al. Quality of life after radiation therapy of cerebral low-grade gliomas of the adult: results of a randomised phase III trial on dose response (EORTC trial 22844). *EORTC Radiotherapy Cooperative Group. Eur J Cancer* 1998; 34(12): 1902–1909.
22. Baumert BG, Hegi ME, van den Bent MJ et al. Temozolomide chemotherapy versus radiotherapy in high-risk low-grade glioma (EORTC 22033): a randomised, open-label, phase 3 intergroup study. *Lancet Oncol* 2016; 17(11): 1521–1532. doi: 10.1016/S1473-0245(16)30313-8.
23. Buckner JC, Shaw EG, Pugh SL et al. Radiation plus procarbazine, CCNU, and vincristine in low-grade glioma.

- N Engl J Med 2016; 374(14): 1344–1355. doi: 10.1056/NEJMoa1500925.
24. Lakomy R, Kazda T, Poprach A et al. Postavení chemoterapie v pooperační léčbě low-grade gliomů. *Klin Onkol* 2017; 30(5): 343–348. doi: 10.14735/amko2017343.
25. Třebický F, Kubeš J, Bartoš R et al. Treatment for volume upgrading of the low-grade supratentorial glioma after the subtotal neurosurgical resection. *Klin Onkol* 2012; 25(4): 294–298.
26. Gozá C, Blonski M, Le Maistre G et al. Imaging growth and isocitrate dehydrogenase 1 mutation are independent predictors for diffuse low-grade gliomas. *Neuro Oncol* 2014; 16(8): 1100–1109. doi: 10.1093/neuonc/nou085.
27. Wick W, Hartmann C, Engel C et al. NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with procarbazine, lomustine, and vincristine or temozolomide. *J Clin Oncol* 2009; 27(35): 5874–5880. doi: 10.1200/JCO.2009.23.6497.
28. Wick W, Roth P, Hartmann C et al. Long-term analysis of the NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with PCV or temozolomide. *Neuro Oncol* 2016; 18(11): 1529–1537.
29. van den Bent MJ. Chemotherapy for low-grade glioma: when, for whom, which regimen? *Curr Opin Neurol* 2015; 28(6): 633–638. doi: 10.1097/WCO.0000000000000257.
30. Cairncross G, Wang M, Shaw E et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *J Clin Oncol* 2013; 31(3): 337–343. doi: 10.1200/JCO.2012.43.2674.
31. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJ et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long-term follow-up of EORTC Brain Tumor Group study 26951. *J Clin Oncol* 2013; 31(3): 344–350. doi: 10.1200/JCO.2012.43.2229.
32. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 987–996.
33. Fisher BJ, Hu C, Macdonald DR et al. Phase 2 study of temozolomide-based chemoradiation therapy for high-risk low-grade gliomas: preliminary results of radiation therapy oncology group 0424. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015; 91(3): 497–504. doi: 10.1016/j.ijrobp.2014.11.012.
34. Eckel-Passow JE, Lachance DH, Molinaro AM et al. Glioma Groups Based on 1p/19q, IDH, and TERT Promoter Mutations in Tumors. *N Engl J Med* 2015; 372(26): 2499–2508. doi: 10.1056/NEJMoa1407279.
35. Fabian M, Jezberová M, Pružincová L et al. Vplyv rýchlosti rastu supratentoriálních grade II gliómů na ich prognózu. *Cesk Slov Neurol N* 2015; 78/111(3): 274–281.
36. Mandonnet E, Wager M, Almirac F et al. Survey on current practice within the European Low-Grade Glioma Network: where do we stand and what is the next step? *Neuro Oncol Practice*. In press 2017. doi:10.1093/nop/npw031.
37. Cairncross JG, Wang M, Jenkins RB et al. Benefit from procarbazine, lomustine, and vincristine in oligodendroglial tumors is associated with mutation of IDH. *J Clin Oncol* 2014; 32(8): 783–790. doi: 10.1200/JCO.2013.49.3726.
38. van den Bent MJ, Erdem-Eraslan L, Idbaih A et al. MGMT-STP27 methylation status as predictive marker for response to PCV in anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas. A report from EORTC study 26951. *Clin Cancer Res* 2013; 19(19): 5513–5522. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1157.
39. Jenkins RB, Blair H, Ballman KV et al. A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma. *Cancer Res* 2006; 66(20): 9852–9861.
40. Polivka J Jr, Polivka J, Repik T et al. Co-deletion of 1p/19q as Prognostic and Predictive Biomarker for Patients in West Bohemia with Anaplastic Oligodendroglioma. *Anticancer Res* 2016; 36(1): 471–476.
41. Suzuki H, Aoki K, Chiba K et al. Mutational landscape and clonal architecture in grade II and III gliomas. *Nat Genet* 2015; 47(5): 458–468. doi: 10.1038/ng.3273.
42. Yan H, Parsons DW, Jin G et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009; 360(8): 765–773. doi: 10.1056/NEJMoa0808710.
43. Wick W, Meisner C, Hentschel B et al. Prognostic or predictive value of MGMT promoter methylation in gliomas depends on IDH1 mutation. *Neurology* 2013; 81(17): 1515–1522. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a95680.
44. Lhotská H, Zemanová Z, Kramář F et al. Molecular cytogenetic analysis of chromosomal aberrations in cells of low grade gliomas and its contribution for tumour classification. *Klin Onkol* 2014; 27(3): 183–191. doi: 10.14735/amko2014183.
45. Reifenberger G, Wirsching HG, Knobbe-Thomsen CB et al. Advances in the molecular genetics of gliomas – implications for classification and therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 14(7): 434–452. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.204.
46. Avila EK, Chamberlain M, Schiff D et al. Seizure control as a new metric in assessing efficacy of tumor treatment in low-grade glioma trials. *Neuro Oncol* 2017; 19(1): 12–21. doi: 10.1093/neuonc/nov190.
47. van den Bent MJ, Wefel JS, Schiff D et al. Response assessment in neuro-oncology (a report of the RANO group): assessment of outcome in trials of diffuse low-grade gliomas. *Lancet Oncol* 2011; 12(6): 583–593. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70057-2.
48. Ellingson BM, Bendszus M, Boxerman J et al. Consensus recommendations for a standardized Brain Tumor Imaging Protocol in clinical trials. *Neuro Oncol* 2015; 17(9): 1188–1198. doi: 10.1093/neuonc/nov095.

# Postavení chemoterapie v pooperační léčbě low-grade gliomů

## The Role of Chemotherapy in the Treatment of Low-grade Gliomas

Lakomý R.<sup>1</sup>, Kazda T.<sup>2,3</sup>, Poprach A.<sup>1</sup>, Pospíšil P.<sup>2</sup>, Jančálek R.<sup>4</sup>, Šlampa P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika komplexní onkologické péče LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>2</sup>Klinika radiční onkologie LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>3</sup>CEITEC – Středoevropský technologický institut, MU, Brno

<sup>4</sup>Neurochirurgická klinika LF MU a FN u sv. Anny v Brně

### Souhrn

**Východiska:** Ke standardním pooperačním přístupům u low-grade gliomů dnes patří sledování nebo adjuvantní radioterapie, rozhodující je přítomnost rizikových faktorů recurence. Role chemoterapie je obecně považována za kontroverzní, nicméně nedávno publikované výsledky prvních dvou velkých randomizovaných klinických studií fáze III (RTOG 9802 a EORTC 22033-26033) zaměřených na účinnost chemoterapie v primární léčbě nízkostupňových gliomů vedou k přehodnocení jejího významu. Výsledky z dlouhodobého sledování pacientů léčených ve studii RTOG 9802, srovnávající efekt samotné pooperační radioterapie a kombinace radioterapie s šesti cykly chemoterapie v režimu PCV (prokarbazin, lomustin, vinkristin) u pacientů s high-risk low-grade gliomy, pravděpodobně změní naši klinickou praxi. Prodloužení mediánu celkového přežití ze 7,8 na 13,3 roku je ohromující, a to hlavně u oligodendrogliomů, nicméně toxicita režimu je vysoká a analýza molekulárních markerů ve studii byla nedostatečná. Stále není jasné, zda temozolomid může nahradit režim PCV a zda může být použit v 1. linii léčby místo radioterapie. Tuto otázku řeší probíhající studie EORTC 22033-26033. Dle předběžných výsledků zatím nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v přežití bez progresu u pacientů, kteří byli léčeni samotnou radioterapií nebo temozolomidem. Léčba temozolomidem nebyla spojena se zlepšením stavu kognitivních funkcí v porovnání se samotnou radioterapií. Byť zatím s limitovanou dobou sledování, již nyní studie jednoznačně potvrdila význam molekulární charakterizace low-grade gliomů, jak je v současnosti definováno v nové WHO klasifikaci mozkových nádorů z roku 2016. **Cíl:** Cílem sdělení je shrnout základní informace vyplývající z klíčových klinických studií s chemoterapií u low-grade gliomů a poukázat na řadu nezodpovězených otázek.

### Klíčová slova

gliom – astrocytom – chemoterapie – PCV – temozolomid – RTOG 9802

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805) a projektem Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky CEITEC 2020 (LQ1601).

This work was supported by MH CZ – RVO (MMCI, 00209805) and by project of the Ministry of Education, Youths and Sports of the Czech Republic CEITEC 2020 (LQ1601).

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

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

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

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



**MUDr. Radek Lakomý, Ph.D.**

Klinika komplexní onkologické péče  
LF MU a Masarykův onkologický  
ústav

Žlutý kopec 7

656 53 Brno

e-mail: lakomy@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 21. 2. 2017

Přijato/Accepted: 20. 3. 2017

doi: 10.14735/amko2017343

## Summary

**Background:** The standard postsurgical options for low-grade gliomas include watchful waiting or radiotherapy depending on the risk factors for recurrence. The use of chemotherapy for the treatment of this disease is generally controversial, although the recently published results of the first of two large randomized phase III clinical trials (RTOG 9802 a EORTC 22033-26033), focusing on the evaluation of chemotherapy for the upfront treatment of newly diagnosed low-grade gliomas, are reassuring in this respect. The long-term results of a RTOG 9802 comparing radiotherapy alone with radiotherapy and six cycles of adjuvant PCV chemotherapy (procarbazine, lomustine, vincristine) in patients with high-risk low-grade gliomas will probably have an impact on daily clinical practice. The increase in median overall survival from 7.8 years to 13.3 years, mainly for patients with oligodendrogliomas, is unprecedented, but the toxicity of PCV is too high and molecular marker analysis remains inadequate. It is still unclear whether less toxic temozolomide can replace PCV and whether temozolomide can be used upfront alone instead of with radiotherapy. This question is addressed by the ongoing EORTC 22033-26033 study. The preliminary results show no significant difference in progression-free survival between patients receiving radiotherapy and those receiving temozolomide alone. Treatment with temozolomide was not associated with an improvement in cognitive function compared with treatment with radiotherapy. Despite limited follow-up, the study clearly confirmed the importance of molecular characterization of low-grade gliomas, as currently defined in the new 2016 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System. **Aim:** The aim of the review is to summarize available information from listed key clinical trials of chemotherapy for low-grade gliomas and draw attention to unresolved issues concerning the use of chemotherapy for the treatment of this disease.

## Key words

glioma – astrocytoma – chemotherapy – PCV – temozolomide – RTOG 9802

## Úvod

Npilocytické low-grade gliomy (LGG) jsou difuzní pomalu rostoucí nádory mozku postihující dospělé pacienty nejčastěji ve 3. a 4. dekádě života. Jde o heterogenní skupinu onemocnění, jejichž přirozený průběh je hodně variabilní a optimální léčebné doporučení je proto stále nejasné [1,2]. Standardní léčba LGG léta spočívala v maximální bezpečné resekci s následným sledováním nebo adjuvantní radioterapií (RT) [3,4]. O její indikaci rozhodovaly klinické prognostické faktory, předpokládané riziko maligní transformace a potenciální toxicita léčby [5]. K obecně uznávaným negativním klinickým prognostickým faktorům u LGG patří věk  $\geq 40$ , histologie astrocytomy, nádor  $\geq 6$  cm, překračující přes střední čáru (souvislost s jeho operabilitou) a přítomnost neurologického deficitu před operací [6]. Postavení chemoterapie (CHT) v časně fázi léčby bylo kontroverzní. CHT byla vyhrazena pro období recidivy nebo progresse nádoru, zpravidla po vyčerpání možností neurochirurgie a RT. Její relativní úspěšnost u rekurentních LGG však vedla k iniciaci řady klinických studií s jejím pooperačním začleněním. Nedávno publikované výsledky prvních dvou velkých randomizovaných klinických studií fáze III (RTOG 9802 a EORTC 22033-26033) zaměřených na účinnost CHT v primární léčbě LGG nás nutí k zamyšlení nad budoucí léčebnou strategií [7–9]. Cílem sdělení je

shrnout základní informace vyplývající ze zmíněných klíčových klinických studií a poukázat na řadu sporných otázek, se kterými se budeme potýkat v běžné klinické praxi.

### Studie RTOG 9802

Jedná se o multicentrickou randomizovanou klinickou studii fáze III, jejímž cílem bylo srovnat parametry přežití u pacientů s vysoce rizikovými LGG léčnými samotnou pooperační RT nebo RT následovanou šesti cykly CHT v režimu PCV (procarbazin, lomustin, vinkristin) [7]. Do studie byli zařazeni dospělí pacienti se supratentoriálními gliomy stupně 2 dle původně platné WHO klasifikace. High-risk skupina byla definována jako pacienti ve věku 18–39 let po neradikální resekci nebo pacienti ve věku  $\geq 40$  roků s jakoukoli resekci. Pacienti s gliomatosis cerebri nebo metastázami mening byli ze studie vyloučeni. Podmínkou byl Karnofsky performance status (KPS)  $\geq 60$ . Pacienti byli randomizováni v poměru 1 : 1 do ramene se samotnou RT (54 Gy/30 frakcí) nebo RT + šest cyklů kombinované CHT v režimu PCV (procarbazin 60 mg/m<sup>2</sup> p.o. den 8–21, lomustin 110 mg/m<sup>2</sup> p.o. den 1, vinkristin 1,4 mg/m<sup>2</sup> (max. 2 mg) i.v. den 8 a 29, délka cyklu byla 8 týdnů), léčba byla zahájena do 12 týdnů od operace. V letech 1998–2002 bylo zařazeno celkem 254 pacientů, hodnotitelných bylo 251 (126 pacientů se sa-

motnou RT a 125 pacientů s RT + PCV). Aktuální medián sledování (follow-up) je 11,9 roku, 55 % pacientů zemřelo, oligodendrogliom nebo dominantní oligodendrogliální komponentu mělo téměř 60 % pacientů. Progrese byla definována jako 25% zvětšení plochy průřezu sytící nebo nesytící se léze na MRI nebo výskyt nové léze. Výrazná klinická deteriorace při absenci radiologických známek progresse byla spolu s úmrtím pacienta také považována za progresi onemocnění.

### Výsledky

Pacienti s kombinací RT + PCV měli ve srovnání se samotnou RT významně delší období bez progresse onemocnění (progression-free survival – PFS) i celkové přežití (overall survival – OS). Medián PFS v rameni s kombinovanou léčbou byl 10,4 vs. 4,0 roku; HR 0,50;  $p < 0,001$ ; 5leté PFS 61 vs. 44 %; 10leté PFS 51 vs. 21 %. Nejlepších výsledků dosáhli pacienti s čistými oligodendrogliomy (HR 0,36;  $p < 0,001$ ), nejmenší benefit přidání CHT byl u pacientů s čistými astrocytomy (HR 0,58;  $p = 0,06$ ). Mutace genu pro IDH1 R132H (izocitrát dehydrogenáza) potvrdila roli pozitivního prognostického faktoru, PFS byl u mutovaných pacientů signifikantně delší, a to bez ohledu na léčbu ( $p = 0,003$ ). Z pohledu léčby byla kombinace RT + PCV u mutovaných pacientů účinnější než samotná RT (HR 0,32;  $p < 0,001$ ). U pacientů *IDH1wt* bylo k datu hodnocení zana-

menáno málo událostí potřebných pro vyhodnocení.

Medián OS byl u kombinace RT + PCV také významně delší – 13,3 vs. 7,8 roku (HR 0,59;  $p = 0,003$ ), 5leté OS 72 vs. 63 %, 10leté OS 60 vs. 40 % (tab. 1). Podobně jako u PFS nebyly rozdíly v OS v úvodu patrné a začaly být zjevné až po úmrtí cca 25 % pacientů (cca 4 roky od randomizace) a dále se zvětšují s časem, což je neobvyklý fenomén. Rozdíly v OS můžeme pozorovat u všech histologických jednotek, i když u astrocytomů nedosahují statistické významnosti (HR 0,73;  $p = 0,31$ ). Nejlepší výsledky ve prospěch kombinace byly opět u oligodendrogliomů (HR 0,43;  $p = 0,009$ ). Pacienti s mutací genu pro *IDH1* měli delší OS, bez ohledu na léčbu (13,1 vs. 5,1 roku;  $p = 0,02$ ). A stejně jako u PFS byl medián OS u mutovaných pacientů delší, pokud byli léčeni kombinací s CHT (HR 0,42;  $p = 0,02$ ). U *IDHwt* pacientů zatím nedošlo k dostatečnému počtu úmrtí ke zhodnocení vlivu léčebné modalit. Mezi příznivé prognostické faktory pro OS dle multivariační analýzy patřila kombinace RT + PCV, oligodendrogliom a věk < 40 let; mutace *IDH1* nedosáhla statistické významnosti (pro PFS ale ano). Nádorová tkáň pro imunohistochemické testování mutace genu pro *IDH1* byla získána jen u 45 % pacientů. Mutace byla prokázána u 61 % testovaných vzorků v rameni s RT a u 64 % v rameni s RT + PCV, častěji u oligodendrogliomů ve srovnání a astrocytomy (78 vs. 48 %). Bohužel nebyla získána kvalitní tkáň pro analýzu kodelece 1p/19q u dostatečného počtu pacientů (29 s RT a 34 u RT + PCV), což znemožnilo provést validní analýzu a korelaci s léčebnými výsledky.

#### Toxicita

Samotnou RT zvládlo 98 % pacientů, u kombinace úspěšně podstoupilo RT 93 % pacientů, ale jen 56 % dokončilo plánovaných šest cyklů CHT PCV (medián čtyři cykly). K nejčastějším toxicitám patřily únava, nechutenství, nevolnost a zvracení. U kombinace RT + CHT dominovala navíc hematologická toxicita 3. a 4. stupně (8 a 3 % u samotné RT vs. 51 a 15 % u RT + PCV;  $p < 0,001$ ). Bohužel jsou omezené informace stran

Tab. 1. Parametry přežití pacientů ve studii RTOG 9802 [7].

|                | RT + PCV | RT  | HR; p         |
|----------------|----------|-----|---------------|
| mPFS (roky)    | 10,4     | 4,0 | 0,50; < 0,001 |
| 5leté PFS (%)  | 61       | 44  |               |
| 10leté PFS (%) | 51       | 21  |               |
| mOS (roky)     | 13,3     | 7,8 | 0,59; 0,003   |
| 5leté OS (%)   | 72       | 63  |               |
| 10leté OS (%)  | 60       | 40  |               |

RT – radioterapie, PCV – prokarbazin, lomustin, vinkristin, mPFS – medián času bez progresu onemocnění, mOS – medián celkového přežití, HR – hazard ratio

pozdní neurologické toxicity. K dispozici jsou pouze data z 5letého sledování po randomizaci podle testu MMSE (Mini-Mental State Examination), dle kterých nejsou významné rozdíly mezi léčebnými skupinami. MMSE se ale užívá pro screening demence a není vhodnou metodou pro hodnocení kognitivní deteriorace po onkologické léčbě. Neuropsychologické vyšetření u dlouhodobě žijících pacientů by bylo jistě přínosné.

#### Závěry z RTOG 9802 pro praxi

Kombinace RT + PCV ve srovnání se samotnou RT významně prodloužila přežití (PFS i OS) u pacientů s high-risk low-grade gliomy. Tento benefit byl nejvíce patrný u pacientů s oligodendrogliální složkou a u pacientů s mutací genu pro *IDH1*. Studii je vytýkána nedostatečná analýza z pohledu molekulárních markerů, především chybí základní informace o kodeleci 1p/19q (nedostatek nádorové tkáně pro analýzu). Další slabinou je insuficientní hodnocení kvality života, především se zaměřením na pozdní neurologickou poradiační toxicitu. I přes tyto limitace je RTOG 9802 první prospektivní randomizovanou studií s dostatečně dlouhým follow-up prokazující zlepšení OS pacientů s LGG ve vztahu k léčebné intervenci a jako taková poskytuje léčebné doporučení úrovně 1 [10,11].

#### Studie EORTC 22033-26033

Jde o multicentrickou randomizovanou open-label studii fáze III srovnávající efekt RT vs. CHT s temozolomidem

(TMZ) u pacientů s LGG indikovaných k pooperační léčbě dle níže uvedených kritérií [8]. Na rozdíl od RTOG 9802 jde o studii probíhající v současné éře, tedy s molekulární charakteristikou tumorů a moderní RT, podmínkou zařazení pacientů byla dostupná nádorová tkáň pro molekulární analýzu. Primárním cílem studie byl PFS, k sekundárním cílům patřily OS, toxicita, zhodnocení neurokognitivních a neurologických funkcí, kvality života a asociace molekulárních markerů s parametry přežití. Cílovou skupinou byli pacienti  $\geq 18$  let se supratentoriálními gliomy stupně 2 dle původně platné WHO klasifikace, WHO výkonnostní stav 0–2. Pacienti byli registrováni a následně randomizováni do jednoho z výzkumných ramen v momentě, kdy byla vyžadována další nechirurgická léčba, což bylo v případě splnění alespoň jednoho z následujících kritérií – věk  $\geq 40$  let, radiologicky progredující onemocnění, nádor > 5 cm, přesahující přes střední čáru nebo přítomnost nových či zhoršujících se neurologických symptomů vč. refrakterní epilepsie. Léčba tedy nezačínala ihned po operaci, ale až po splnění klinických kritérií (velký časový rozptyl mezi histologickou diagnózou a léčbou; 0,7–151,5 měsíce, medián 5,6 měsíce). Pacienti byli randomizováni v poměru 1 : 1 (RT s modulovanou intenzitou svazku v celkové dávce 50,4 Gy/28 frakcí, v délce 5–6 týdnů nebo dose-dense režim CHT s TMZ 75 mg/m<sup>2</sup>, den 1–21 à 28 dní; max. dvanáct cyklů). Všichni pacienti byli klinicky a neurologicky sledováni à 3 měsíce vč. dotazníků kvality života a MRI

Tab. 2. Čas bez progresu onemocnění dle molekulární analýzy pacientů s LGG ve studii EORTC 22033-26033 [8].

|                      | Celkem*<br>(n = 318) | IDHmt/codel<br>(n = 104) | IDHmt/non-codel<br>(n = 165) | IDHwt<br>(n = 49) |
|----------------------|----------------------|--------------------------|------------------------------|-------------------|
| <b>mPFS (měsíce)</b> |                      |                          |                              |                   |
| TMZ                  | 40,5                 | 55                       | 36                           | 23,7              |
| RT                   | 51                   | 61,6                     | 55,4                         | 19,1              |
| HR (TMZ vs. RT); p   | 1,18; 0,30           | 1,04; 0,91               | 1,86; 0,004                  | 0,67; 0,24        |
| <b>5letý PFS (%)</b> |                      |                          |                              |                   |
| TMZ                  | 28,9                 | 47,4                     | 19,4                         | 17,8              |
| RT                   | 40,2                 | 58,5                     | 42,5                         | 0                 |

\*všichni pacienti s provedenou analýzou mutace IDH a kódelece 1p/19q

LGG – low-grade gliomy, TMZ – temozolomid, RT – radioterapie, mPFS – medián času bez progresu onemocnění, PFS – přežití bez progresu, IDHmt/codel – přítomna mutace izocitrát dehydrogenázy a kódelece 1p/19q, IDHmt/non-codel – přítomna IDH mutace, ale není kódelece 1p/19q, IDHwt – není mutace IDH, HR – hazard ratio

vyšetření mozku, které bylo prováděno až 6 měsíců (vše do progresu). Z molekulárních markerů byla testována kódelece 1p/19q, mutace genu pro IDH1 a IDH2 a metylace promotoru genu pro MGMT (O<sup>6</sup>-metylguanin-DNA-metyltransferasa). V letech 2005–2012 bylo randomizováno celkem 477 pacientů (240 pacientů s RT, 237 pacientů s TMZ).

### Výsledky

Při mediánu sledování 48 měsíců byl medián PFS 39 měsíců ve skupině s TMZ a 46 měsíců ve skupině s RT (HR 1,16; p = 0,22); medián OS nebyl zatím dosažen. U 318 pacientů (67 %) proběhla kompletní molekulární analýza s rozdělením pacientů do tří prognostických skupin – IDH mutace + kódelece 1p/19q (IDHmt/codel), IDH mutace bez kódelece 1p/19q (IDHmt/non-codel) a IDHwt. U 269 (85 %) pacientů byla prokázána IDHmt (104 s kódelecí a 165 bez kódelece 1p/19q), zbývajících 49 (15 %) pacientů bylo IDHwt. U pacientů s IDHmt/codel byla ve 100 % případů prokázána metylace MGMT, u IDHmt/non-codel byla metylace MGMT u 86 % a u IDHwt byla metylace MGMT jen u 56 %. Skupiny měly významné rozdíly v mediánu PFS, a to bez ohledu na léčbu – IDHmt/codel vs. IDHmt/non-codel vs. IDHwt (62 vs. 48 vs. 20 měsíců). Pacienti s IDHmt/non-codel měli signifikantně delší medián PFS, pokud byla použita RT ve srovnání

s CHT (55 vs. 36 měsíců, HR 1,86; p = 0,0043), kdežto u zbývajících dvou podskupin nebyly rozdíly mezi použitými metodami statisticky významné (tab. 2). V době analýzy zemřelo cca 25 % pacientů (26 % v rameni s RT a 24 % s TMZ), což zatím neumožňuje provést analýzu OS.

### Toxicita

Celkem 91 % pacientů absolvovalo plánovanou RT a 75 % pacientů zvládlo dvanáct cyklů CHT. Hematologická toxicita 3. a 4. stupně byla zaznamenána u 14 % pacientů s TMZ a < 1 % s RT, významná únava byla také častější v rameni s TMZ (7 vs. 3 %). Výsledky hodnocení kvality života a kognitivních funkcí se během prvních 3 let nelišily [9].

### Závěry z EORTC 22033-26033 pro praxi

Nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v PFS u pacientů s low-grade gliomy, kteří byli léčeni samotnou RT nebo TMZ. Nejlepších výsledků v PFS, bez ohledu na léčbu, dosáhla skupina pacientů s IDHmt/codel 1p/19q. Z pohledu použité metody byl signifikantní rozdíl v PFS pouze u pacientů IDHmt/non-codel 1p/19q, a to ve prospěch RT. Data stran definitivního hodnocení OS zatím nejsou k dispozici. Léčba TMZ je častěji doprovázena významnou hematologickou toxicitou, kvalita života a kognitivní funkce se během prvních 3 let sledování nelišily.

Zatím se jedná o první randomizovanou studii přímo porovávající efekt TMZ a RT na kvalitu života u pacientů s LGG. Léčba TMZ nebyla spojena se zlepšením stavu kognice v porovnání s RT, jak bylo hypotetizováno. Byť s limitovanou dobou sledování, již nyní studie jednoznačně potvrdila význam molekulární charakterizace LGG, jak je v současnosti definováno v nové WHO klasifikaci mozkových nádorů z roku 2016 [12].

### Diskuze

Léčba LGG si v průběhu posledních 20 let prošla několika etapami [4,13]. V úvodu s rozvojem chirurgie, RT a CHT byl preferován agresivní přístup s cílem maximálně prodloužit délku života, často mladých pacientů, bez ohledu na potenciální toxicitu léčby a následnou kvalitu života. V tomto období proběhla klinická studie RTOG 9802 fáze III (nábor v letech 1998–2002), ze které byly publikovány výsledky dlouhodobého sledování v dubnu 2016. Dle této studie kombinace RT + PCV signifikantně prodloužila medián OS o 5,5 roku (13,3 vs. 7,8 roku) ve srovnání se samotnou RT u vysoce rizikových LGG (≥ 40 let a/nebo pacienti s neradikálním výkonem) [7]. Výrazný rozdíl mezi skupinami nebyl ovlivněn ani faktem, že 77 % pacientů v rameni se samotnou RT při progresi dostávalo CHT [10]. Časně podání CHT (v návaznosti na RT) je tedy lepší než její aplikace

až v době progresu. Podobné výsledky přinášejí i další dvě velké studie fáze III s anaplastickými oligodendrogliomy s kodelecí 1p/19q (RTOG 9402, EORTC 26951). I zde byla kombinace RT + PCV lepší než sekvenční podání CHT (CHT až v době recidivy/progrese) a data PFS predikovala výsledek OS [14,15]. Problém ale je, že v případě PCV jde o poměrně toxický režim a studie RTOG 9802 neposkytla jasné informace z oblasti molekulárních markerů, které by vedly k přesnější selekci vhodných, případně nevhodných pacientů. S příchodem méně toxického TMZ s jednodušším léčebným schématem se začala řešit otázka jeho náhrady za režim PCV. Zatím není jasné, jaké léčebné schéma použít. Zda sekvenční podání po RT jako v jednom rameni studie u anaplastických gliomů bez kodelece 1p/19q (studie CATNON), nebo konkomitantní a adjuvantní TMZ jako u glioblastomů [16,17]. U LGG s kodelecí 1p/19q nám na výše uvedené otázky částečně odpoví výsledky ze studie CODEL fáze III. Cílem této studie je srovnat dva režimy – RT + PCV (šest cyklů) vs. konkomitantní a adjuvantní CHT/RT s TMZ (adjuvantně, max. dvanáct cyklů). Do studie aktuálně probíhá nábor pacientů, a to jak pacientů s LGG, tak i anaplastickým gliomem s kodelecí 1p/19q (NCT00887146). Relativní úspěšnost TMZ u recidivujících LGG a jeho příznivý profil toxicity vedly k myšlence možné náhrady TMZ za potenciálně neurotoxickou RT – klinická studie EORTC 22033-26033 fáze III (2005–2012).

Je evidentní, že management léčby LGG bude v budoucnu vycházet z molekulární charakteristiky nádorů [18,19]. Podobně jako u anaplastických oligodendrogliomů i u LGG je kodelece 1p/19q pozitivní prognostický a pravděpodobně i prediktivní faktor [20,21]. Bohužel ve studii RTOG 9802 toto nemohlo být pro nedostatek nádorové tkáně potvrzeno [7]. Většina nádorů s kodelecí 1p/19q má také *IDH1mt* a tato mutace je často spojena s fenotypem CIMP (hypermetylační stav ostrůvků cytozin-guanin nádorového genomu), který je asociován s lepší prognózou [22]. *IDHmt* je charakteristická pro LGG a je přítomna u cca 75–80 % těchto tumorů, zvláště

oligodendrogliomů [23,24]. Dle studie EORTC 22033-26033 měli nejlepší prognózu pacienti s *IDHmt/codel* 1p/19q. Naopak nejhorší výsledky měli pacienti s *IDHwt*. Tyto nádory mají pravděpodobně blíže k jiným histologickým jednotkám (nejčastěji glioblastom) a je potřeba je blíže popsat. *MGMT* testování u *IDHmt* nádorů nepřináší další prognostický či prediktivní přínos (metylace *MGMT* je u většiny *IDHmt* pacientů). Význam ale může mít u *IDHwt* pacientů, což bylo potvrzeno u *IDHwt* anaplastických gliomů, kde metylace *MGMT* měla prediktivní význam pro efekt léčby CHT [25,26]. Vyšetření stavu *IDH1/2* a 1p/19q je v rámci stanovení tzv. integrované diagnózy již součástí nové WHO klasifikace mozkových nádorů z roku 2016 [12]. Zdá se, že molekulární profil tumoru může být v mnoha případech důležitější než výsledek tradičního histopatologického vyšetření. Podskupina s horší prognózou (*IDHwt*, případně *IDHmt/non-codel*) bude pravděpodobně vyžadovat agresivnější přístup i za cenu vyšší toxicity. Jak přistoupit k prognosticky příznivým pacientům (*IDHmt/codel*), jejichž délka života často přesahuje 10 let a jeho kvalita může být významně ovlivněna pozdní toxicitou léčby, není v současné době jasné. Samotný TMZ zatím není u této skupiny lepší než RT, ale může být alternativou, pokud má pacient obavy z potenciální RT indukované neurologické toxicity. Na druhou stranu právě u této skupiny lze očekávat největší přínos kombinace RT + CHT z pohledu prodloužení PFS i OS [27]. Definitivní rozhodnutí, zda jít cestou intenzivní léčby (RT + PCV) s cílem maximálního prodloužení délky života nebo volit méně agresivní přístup (samotná RT nebo TMZ), bude záležet na domluvě mezi lékařem a pacientem. Pokud pacient nemá kontraindikace, měla by mu být léčba s RT + PCV alespoň nabídnuta (minimálně v rámci informovaného souhlasu, resp. nesouhlasu s léčbou), zvláště pokud jde o oligodendrogliom s kodelecí 1p/19q a/nebo mutací *IDH*, i přes svou toxicitu jde totiž aktuálně o nejúčinnější režim [28].

### Závěr

CHT se stane důležitou součástí primární léčby vysoce rizikových LGG.

Důležité slovo při její indikaci budou hrát molekulární prognostické a prediktivní markery. Všichni pacienti s LGG by dnes měli být vyšetřeni na mutaci genu pro *IDH1/2* a kodelecí 1p/19q. Vyšetřování metylace *MGMT* může být přínosem u *IDHwt* pacientů (predikce chemosenzitivity). Molekulární charakteristika LGG bude do budoucna nezbytná pro správné rozhodnutí o načasování léčby, volbě léčebné modalit a intenzitě léčby. V loňském roce publikovaná studie RTOG 9802 je první prospektivní randomizovanou studií s dostatečně dlouhým follow-up prokazující zlepšení OS pacientů s high-risk LGG ve vztahu k léčebné intervenci a jako taková poskytuje léčebné doporučení úrovně 1. Pacient musí být součástí rozhodovacího procesu v rámci multidisciplinárních indikačních komisí, musíme znát jeho preference.

### Literatura

1. van den Bent MJ. Chemotherapy for low-grade glioma: when, for whom, which regimen? *Curr Opin Neurol* 2015; 28(6): 633–938. doi: 10.1097/WCO.0000000000000257.
2. Polívka J Jr, Polívka J, Rohan V et al. Aktuální pohled na management nízkostupňových gliových nádorů centrálního nervového systému. *Cesk Slov Neurol N* 2016; 79/112(5): 534–540. doi: 10.14735/amcsnn2016534.
3. Duffau H, Taillandier L. New concepts in the management of diffuse low-grade glioma: proposal of a multi-stage and individualized therapeutic approach. *Neuro Oncol* 2015; 17(3): 332–342. doi: 10.1093/neuonc/nou153.
4. Youland RS, Schomas DA, Brown PD et al. Changes in presentation, treatment, and outcomes of adult low-grade gliomas over the past fifty years. *Neuro Oncol* 2013; 15(8): 1102–1110. doi: 10.1093/neuonc/not080.
5. Douw L, Klein M, Fagel SS et al. Cognitive and radiological effects of radiotherapy in patients with low-grade glioma: long-term follow-up. *Lancet Neurol* 2009; 8(9): 810–818. doi: 10.1016/S1474-4422(09)70204-2.
6. Pignatti F, van den Bent M, Curran D et al. Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma. *J Clin Oncol* 2002; 20(8): 2076–2084.
7. Buckner JC, Shaw EG, Pugh SL et al. Radiation plus procarbazine, CCNU, and vincristine in low-grade glioma. *N Engl J Med* 2016; 374(14): 1344–1355. doi: 10.1056/NEJMoa1500925.
8. Baumert BG, Hegi ME, van den Bent MJ et al. Temozolomide chemotherapy versus radiotherapy in high-risk low-grade glioma (EORTC 22033-26033): a randomised, open-label, phase 3 intergroup study. *Lancet Oncol* 2016; 17(11): 1521–1532. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30313-8.
9. Reijneveld JC, Taphoorn MJ, Coens C et al. Health-related quality of life in patients with high-risk low-grade glioma (EORTC 22033-26033): a randomised, open-label, phase 3 intergroup study. *Lancet Oncol* 2016; 17(11): 1533–1542. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30305-9.
10. van den Bent MJ. Practice changing mature results of RTOG study 9802: another positive PCV trial makes adjuvant chemotherapy part of standard of care in low-grade glioma. *Neuro Oncol* 2014; 16(12): 1570–1574. doi: 10.1093/neuonc/nou297.

11. Ziu M, Olson JJ. Update on the evidence-based clinical practice parameter guidelines for the treatment of adults with diffuse low grade glioma: the role of initial chemotherapy. *J Neurooncol* 2016; 128(3): 487–489. doi: 10.1007/s11060-016-2137-6.
12. Louis DN, Perry A, Reifenberger G et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol* 2016; 131(6): 803–820. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1.
13. Mandonnet E, Wager M, Almairac F et al. Survey on current practice within the European Low-Grade Glioma Network: where do we stand and what is the next step? *Neurooncol Pract*. In press 2017. doi: 10.1093/nop/npw031.
14. Cairncross G, Wang M, Shaw E et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *J Clin Oncol* 2013; 31(3): 337–343. doi: 10.1200/JCO.2012.43.2674.
15. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJ et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long-term follow-up of EORTC Brain Tumor Group study 26951. *J Clin Oncol* 2013; 31(3): 344–350. doi: 10.1200/JCO.2012.43.2229.
16. van den Bent MJ. Results of the interim analysis of the EORTC randomized phase III CATNON trial on concurrent and adjuvant temozolomide in anaplastic glioma without 1p/19q co-deletion: An Intergroup trial. 2016 ASCO Annual Meeting. *J Clin Oncol* 2016; 34 (Suppl): abstr. LBA2000.
17. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 987–996.
18. Lhotská H, Zemanová Z, Kramář F et al. Molecular cytogenetic analysis of chromosomal aberrations in cells of low grade gliomas and its contribution for tumour classification. *Klin Onkol* 2014; 27(3): 183–191. doi: 10.14735/amko2014183.
19. Reifenberger G, Wirsching HG, Knobbe-Thomsen CB et al. Advances in the molecular genetics of gliomas – implications for classification and therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2016. doi: 10.1038/nrclinonc.2016.204.
20. Jenkins RB, Blair H, Ballman KV et al. A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma. *Cancer Res* 2006; 66(20): 9852–9861.
21. Polivka J Jr, Polivka J, Repik T et al. Co-deletion of 1p/19q as Prognostic and Predictive Biomarker for Patients in West Bohemia with Anaplastic Oligodendroglioma. *Anticancer Res* 2016; 36(1): 471–476.
22. Kramář F, Minárik M, Belšánová B et al. Genetické a epigenetické faktory podmiňující vznik a prognózu mozkových gliomů – souhrn současných poznatků. *Cesk Slov Neurol N* 2016; 79/112(4): 400–405.
23. Suzuki H, Aoki K, Chiba K et al. Mutational landscape and clonal architecture in grade II and III gliomas. *Nat Genet* 2015; 47(5): 458–468. doi: 10.1038/ng.3273.
24. Yan H, Parsons DW, Jin G et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009; 360(8): 765–773. doi: 10.1056/NEJMoa0808710.
25. van den Bent MJ, Erdem Eraslan L, Idbaih A et al. MGMT-PT27 methylation status as predictive marker for response to PCV in anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas. A report from EORTC study 26951. *Clin Cancer Res* 2013; 19(19): 5513–5522. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1157.
26. Wick W, Meisner C, Hentschel B et al. Prognostic or predictive value of MGMT promoter methylation in gliomas depends on IDH1 mutation. *Neurology* 2013; 81(17): 1515–1522. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a95680.
27. Laack NN, Sarkaria JN, Buckner JC. Radiation Therapy Oncology Group 9802: Controversy or Consensus in the Treatment of Newly Diagnosed Low-Grade Glioma? *Semin Radiat Oncol* 2015; 25(3): 197–202. doi: 10.1016/j.semradonc.2015.02.004.
28. Kazda T, Lakomy R, Pospisil P. Kontroverze v pooperační léčbě low-grade gliomů. *Klin Onkol* 2017; 30(5): 337–342. doi: 10.14735/amko2017337.



# Hodnocení klinického benefitu protinádorových léků limitovaných na komplexní onkologická centra podle metodiky ESMO-MCBS

## Evaluation of Anti-cancer Therapies with Reimbursement Limited to Comprehensive Cancer Centres Using the European Society for Medical Oncology Magnitude of Clinical Benefit Scale

Büchler T.<sup>1</sup>, Melichar B.<sup>2</sup>, Vrána D.<sup>2</sup>, Lemstrová R.<sup>2</sup>, Fínek J.<sup>3</sup>, Dušek L.<sup>4,5</sup>, Petráková K.<sup>6</sup>, Prausová J.<sup>7</sup>

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

<sup>2</sup> Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>3</sup> Onkologická a radioterapeutická klinika LF UK a FN Plzeň

<sup>4</sup> Ústav zdravotnických informací a statistiky, Praha

<sup>5</sup> Institut biostatistiky a analýz, LF a PpF MU, Brno

<sup>6</sup> Klinika komplexní onkologické péče LF MU a Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>7</sup> Onkologická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

### Souhrn

**Východiska:** Náklady na onkologickou léčbu neustále stoupají, přičemž dominantní podíl na tomto nárůstu má kromě zvyšujících se epidemiologické zátěže právě zavádění nových léků. Expertní tým Evropské společnosti pro klinickou onkologii (European Society for Medical Oncology – ESMO) v posledních letech vypracoval nový parametrický systém k hodnocení klinického benefitu léků. V systému Magnitude of Clinical Benefit Scale (ESMO-MCBS) je přínos nového léku hodnocen podle zlepšení celkového přežití, přežití do progresu a kvality života/toxicity ve srovnání se stávajícími možnostmi léčby. **Materiál a metody:** Expertní skupina České onkologické společnosti ČLS JEP provedla na základě publikovaných dat a metodiky ESMO-MCBS hodnocení přínosu léků indikovaných v léčbě solidních nádorů, jejichž použití je limitováno na komplexní onkologická centra. Hodnotili jsme léky kategorie S, které měly k 1. 1. 2017 úhradu z veřejného zdravotního pojištění. **Výsledky a závěr:** Metoda ESMO-MCBS pro hodnocení klinického benefitu léků je jednoduchá, robustní a reprodukovatelná. Získané skóre ve většině případů odpovídá intuitivně hodnocenému přínosu léků v klinické praxi. Skóre ESMO-MCBS se může stát dalším doplňkovým parametrem při hodnocení nových protinádorových léků. Skóre podle ESMO-MCBS by se mělo stát dalším hodnoceným parametrem při posuzování úhrady léku z veřejného zdravotního pojištění. Výhoda tohoto hodnocení je rovněž v tom, že není postaveno na jednom podílovém indexu, ale kombinuje více dimenzí hodnoceného problému. Doporučení České onkologické společnosti ČLS JEP budou postupně doplňována o tento parametr.

### Klíčová slova

nádory – farmakoterapie – hodnotící studie jako téma – přežití – protokoly protinádorové léčby

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

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

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

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



doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D.

Onkologická klinika

1. LF UK a Thomayerova nemocnice

Vídeňská 800

140 59 Praha 4

e-mail: tomas.buchler@ftn.cz

Obdrženo/Submitted: 3. 5. 2017

Přijato/Accepted: 20. 6. 2017

doi: 10.14735/amko2017349

## Summary

**Background:** The costs of oncology treatments are increasing, due to the rising prevalence of malignant diseases and the introduction of expensive novel anti-cancer agents. The new European Society for Clinical Oncology (ESMO) has recently developed a new parametric system to evaluate the clinical benefit of drugs. The Magnitude of Clinical Benefit Scale (ESMO-MCBS) compares the contribution of a novel drug based on overall and progression-free survival and quality of life with those of current treatment options. **Material and Methods:** An expert group of the Czech Oncological Society conducted an assessment based on published data and an ESMO-MCBS methodology for antineoplastic agents used for the treatment of solid tumors with limited reimbursement to Comprehensive Cancer Centers. We evaluated drugs categorized as "S" that were eligible for public health insurance as of January 1, 2017. **Results and Conclusion:** The ESMO-MCBS score is a promising new parameter for the evaluation of new anticancer drugs. The ESMO-MCBS method for assessing the clinical benefit of drugs is simple, robust, and reproducible. The advantage of the assessment is that it is not based on a single index but rather combines several dimensions of drug performance. This parameter will be gradually added to Czech cancer guidelines. Scores obtained in the majority of cases correspond to the observed benefit of a drug in routine clinical practice.

## Key words

tumors – pharmacotherapy – assessment study as a subject – survival – protocols of anti-cancer therapy

## Úvod

Masivní zavádění nových protinádorových léků do praxe, které je výsledkem explozivního rozvoje poznatků o patogenezi zhoubných novotvarů, je velkou výzvou pro odbornou veřejnost i plátce zdravotní péče. Náklady na onkologickou léčbu neustále stoupají, přičemž dominantní podíl na tomto nárůstu má kromě zvyšující se epidemiologické zátěže právě zavádění nových léků. Je jasné, že přínos nových protinádorových léků pro pacienty není ve všech případech stejný a bude záležet na jejich účinnosti a toxicitě ve srovnání se stávajícími možnostmi léčby.

Expertní tým Evropské společnosti pro klinickou onkologii (European Society for Medical Oncology – ESMO) v posledních letech vypracoval a posléze publikoval nový parametrický systém k hodnocení klinického přínosu léků [1,2]. Podle metodiky Magnitude of Clinical Benefit Scale (ESMO-MCBS) se hodnotí přínos nového léku na základě zlepšení

celkového přežití (overall survival – OS), přežití do progresu (progression-free survival – PFS) a kvality života (quality of life – QoL)/toxicity ve srovnání se stávajícími možnostmi léčby. Podkladem pro parametrické hodnocení přínosu léku jsou výsledky srovnávacích klinických studií. Léky jsou hodnoceny v kontextu prognózy pacientů v té fázi onemocnění, ve které jsou indikovány. Léky dosahující skóre A nebo B u kurativních indikací (vč. adjuvance) a 4 nebo 5 při hodnocení nekurativních režimů jsou považovány za esenciální (tab. 1).

V publikaci autorů Cherny et al jsou uvedené výsledky hodnocení pro většinu nových protinádorových léků registrovaných v Evropě na základě srovnávacích klinických studií [1]. Hodnocení dalších léčebných režimů přinesla publikace autorů z vídeňské univerzitní nemocnice [3].

Expertní tým České onkologické společnosti (ČOS) ČLS JEP hodnotil léky

používané v léčbě solidních nádorů, které měly k 1. 1. 2017 úhradu z veřejného zdravotního pojištění a jsou kategorizovány jako S, tj. lze je podávat jen v komplexních onkologických centrech. Klinický benefit léku byl hodnocen podle metodologie ESMO-MCBS v indikacích, v nichž je daný lék u nás hrazen.

## Materiál a metody

### Hodnocení ESMO-MCBS

Metoda hodnocení klinického benefitu protinádorových léků ESMO-MCBS byla publikována v roce 2015 [2]. Je založena na skórování účinnosti daného léku ve srovnání s komparátorem v parametrech OS, PFS, případně jiných výsledků, jako procento klinických odpovědí (response rate – RR). Hodnocen je poměr rizik (hazard ratio – HR), rozdíl v mediánu OS a procentuální rozdíl v OS po definované době sledování. Daný lék může dále být penalizován, pokud je hodnocen podle parametru PFS a zhoršuje QoL nebo je jeho podávání spojeno se závažnou toxicitou, nebo naopak zvýhodněn, pokud QoL zlepšuje (v tomto případě může být hodnocen podle PFS nebo OS). V našem hodnocení bylo zohledněno erratum k původnímu článku publikované v roce 2016 [4].

Formuláře pro hodnocení léků jsou volně dostupné ke stažení na [www.esmo.org](http://www.esmo.org). Současný systém ESMO-MCBS obsahuje čtyři typy formulářů: 1 – pro hodnocení kurativní léčby (vč. adjuvance), 2a – pro hodnocení nekurativních léků na základě parametru OS, 2b – pro hodnocení nekurativních léků na základě parametru PFS, 3 – pro hodnocení nekura-

Tab. 1. Stupně hodnocení dle ESMO-MCBS a jejich interpretace.

| Kurativní terapie | Nekurativní terapie | Interpretace  |
|-------------------|---------------------|---|
| A                 | 5                   | hodnocená terapie představuje významný benefit oproti komparátoru   |
| B                 | 4                   |   |
| C                 | 3                   | hodnocená terapie nepředstavuje významný benefit oproti komparátoru |
|                   | 2                   |   |
|                   | 1                   |   |

ESMO-MCBS – European Society for Medical Oncology

tivních léků na základě jiných parametrů nebo pro ekvivalenční studie.

Jako příklad uvádíme v tab. 2 překlad formuláře 2a (pro OS na komparátoru  $\leq 1$  rok). Tento formulář byl v hodnocení použit nejčastěji.

Pokud byly publikovány zralé výsledky studií, hodnocení proběhlo na základě parametru OS. V případě, že studie byla primárně cílená na prokázání rozdílu v PFS a výsledek OS by mohl být významně zkrácen následující léčbou nebo zkřížením ramen, byl použit parametr PFS (tab. 2).

### Získávání údajů pro hodnocení

Údaje pro hodnocení byly získávány z registračních klinických studií pro danou indikaci nebo z klinické studie, která odpovídá obvyklému použití léku v ČR. Pokud to bylo možné, použili jsme stejnou studii, kterou hodnotila také expertní skupina ESMO. U léků, jejichž použití významně zhoršilo QoL podle definovaných parametrů a které byly hodnoceny dle parametru PFS, došlo k penalizaci – snížení skóre o 1 bod. U léků, u nichž se neprokázalo zhoršení QoL, jsme na rozdíl od původní metodiky ESMO-MCBS penalizaci neaplikovali.

### Výsledky

#### Kolorektální karcinom

Některé starší studie s monoklonálními protilátkami proti receptoru epidermálního růstového faktoru (epidermal growth factor receptor – EGFR) zařazovaly nemocné s vyšetřením mutací v kodonech 12. a 13. genu *KRAS*, nikoli však v dalších kodonech *KRAS* a v genu *NRAS*. V tab. 3 uvádíme u anti-EGFR léčby indikaci jen u nemocných s wild-type RAS, což je v souladu se současným úhradovým omezením, i když to nemusí vždy odpovídat registrační studii.

Bevacizumab byl u metastatického kolorektálního karcinomu (metastatic colorectal cancer – mCRC) registrován na základě studie autorů Hurwitz et al s režimem IFL (irinotekan, bolus 5-fluorouracil a leukovorin) [5]. Protože se tento režim v ČR nepoužívá, přínos byl tedy hodnocen na základě studie Saltz et al [6], což odpovídá klinické praxi u nás. Podle údajů v registru CORECT je bevacizumab podáván především s re-

**Tab. 2. Příklad hodnocení nekurativní onkologické léčby na základě parametru OS, přičemž medián OS na komparátoru je  $\leq 1$  rok (formulář 2a). Maximální skóre je 5.**

#### Základní skóre

##### Skóre Kritéria pro hodnocení výsledků studie

4 HR  $\leq 0,65$  a současně zlepšení OS o  $\geq 3$  měsíce  
nebo  
zlepšení 2letého OS o  $\geq 10$  %

3 HR  $\leq 0,65$  a současně zlepšení OS o 2,5–2,9 měsíce  
nebo  
zlepšení 2letého OS o 5 až  $< 10$  %

2 HR  $> 0,65$ – $0,70$  a současně zlepšení OS o 1,5–2,4 měsíce  
nebo  
zlepšení 2letého OS o 3 až  $< 5$  %

1 HR  $> 0,70$  nebo zlepšení OS o  $< 1,5$  měsíce  
nebo  
zlepšení 2letého OS o  $< 3$  %

#### Bonifikace za snížení toxicity léčby

(pokud je splněna alespoň jedna z uvedených podmínek, přidává se k základnímu skóre 1 bod)

signifikantní zlepšení QoL  
(pokud je sledovaná jako jeden z cílových výstupů studie)

signifikantní snížení toxicity G3–G4 s dopadem na QoL\*

\*tento parametr nezahrnuje nežádoucí účinky jako jsou alopecie nebo myelosuprese, ale toxicity jak např. chronická nauzea, průjem, únava apod  
QoL – kvalita života, OS – celkové přežití

žimy FOLFOX (41,6 %), XELOX (27,5 %) a FOLFIRI (11,7 %) [7].

V hodnocení léčby CRC jsou v současném materiálu oproti publikaci expertního týmu ESMO tři rozdíly. Přínos panitumumabu v léčbě 1. linie u pacientů s wild-type RAS jsme hodnotili podle OS, protože již byly publikované zralé výsledky OS. Podle aktualizovaných výsledků publikovaných Douillardem et al došlo ke zlepšení 3letého OS o 9 % [8]. V léčbě 2. linie jsme přínos léku hodnotili podle prezentovaných dat na subpopulaci pacientů s wild-type RAS [9]. Přínos monoterapie panitumumabem jsme hodnotili podle nové práce autorů Kim et al, kde jsou uvedeny parametry umožňující hodnocení podle přínosu k OS pacientů s wild-type RAS [10]. V době práce na původní publikaci ESMO-MCBS nebyly tyto výsledky ještě zveřejněny a byla použita data dle práce

autorů Amado et al [11]. Přehled CRC je uveden v tab. 3 [6,8–10,12–18].

#### Karcinom prsu

Publikace Cherny et al [1] nehodnotí trastuzumab u HER2+ metastatického karcinomu prsu (metastatic breast carcinoma – mBC), pravděpodobně proto, že novější strategie (pertuzumab/trastuzumab) a trastuzumab emtansin dosáhly ve srovnání s trastuzumabem lepších výsledků. Vzhledem k běžné klinické praxi v ČR jsme hodnotili i trastuzumab v kombinaci s chemoterapií a hormonální léčbou. Do hodnocení nejsou zahrnuty studie, kde byl trastuzumab podáván s různými režimy chemoterapie, protože ty byly zaměřené na chemoterapii a není možné podle nich hodnotit přínos trastuzumabu.

Pro adjuvantní léčbu trastuzumabem byly vypracovány metaanalýzy randomizovaných studií [19]. Vzhledem k roz-

Tab. 3. Kolorektální karcinom.

| Režim                                  | Kompa-<br>rátor | Indikace         | Vymezení<br>populace     | Použitá<br>klinická<br>studie/<br>analýza | OS<br>HR            | OS<br>kompa-<br>rátor | OS<br>gain | PFS<br>HR           | PFS<br>kompa-<br>rátor | PFS<br>gain | Vliv<br>na<br>QoL | Použitý<br>formu-<br>lář | MCBS<br>ESMO | MCBS<br>ČOS |
|--|-----------------|------------------|--------------------------|---|---------------------|-----------------------|------------|---------------------|------------------------|-------------|-------------------|--------------------------|--------------|-------------|
| bevacizumab + FOLFOX/XELOX             | FOLFOX/XELOX    | mCRC 1. linie    | –                        | Saltz et al [6]                           | NS                  | –                     | –          | 0,83<br>(0,72–0,95) | 8                      | 1,4         | –                 | 2b                       | NR           | 1           |
| cetuximab + FOLFIRI                    | FOLFIRI         | mCRC 1. linie    | wild-type RAS            | CRYSTAL [12]                              | 0,69<br>(0,54–0,88) | 20,2                  | 8,2        | 0,56<br>(0,41–0,76) | 8,4                    | 3           | –                 | 2b                       | 3            | 3           |
| panitumumab + FOLFOX                   | FOLFOX          | mCRC 1. linie    | wild-type RAS            | PRIME [8]                                 | 0,78<br>(0,62–0,99) | 20,2                  | 5,8        | 0,72<br>(0,58–0,90) | 7,9                    | 2,3         | –                 | 2a                       | 4            | 4           |
| bevacizumab + FOLFOX                   | FOLFOX          | mCRC 2. linie    | –                        | E3200 [13]                                | 0,75<br>(0,63–0,89) | 10,8                  | 2,1        | 0,61<br>(0,63–0,89) | 4,7                    | 2,6         | –                 | 2a                       | 2            | 2           |
| aflibercept + FOLFIRI                  | FOLFIRI         | mCRC 2. linie    | –                        | VELOUR [14]                               | 0,82<br>(0,71–0,94) | 12,1                  | 1,5        | 0,76<br>(0,66–0,87) | 4,7                    | 2,2         | –                 | 2a                       | 1            | 1           |
| panitumumab + FOLFIRI                  | FOLFIRI         | mCRC 2. linie    | wild-type RAS            | 181 [9,15]                                | NS                  | –                     | –          | 0,70<br>(0,54–0,91) | 4,6                    | 1,8         | –                 | 2b                       | 3            | 3           |
| bevacizumab + chemoterapie po progresi | chemoterapie    | mCRC 2. linie    | progrese na bevacizumabu | ML18147 [16]                              | 0,81<br>(0,69–0,94) | 9,8                   | 1,4        | 0,68<br>(0,59–0,78) | 4,1                    | 1,6         | –                 | 2a                       | 1            | 1           |
| cetuximab                              | BSC             | refrakterní mCRC | wild-type RAS            | CA225025 [17]                             | 0,55<br>(0,41–0,74) | 4,8                   | 4,7        | 0,4<br>(0,30–0,54)  | 1,9                    | 1,8         | –                 | 2a                       | 4            | 4           |
| panitumumab                            | BSC             | refrakterní mCRC | wild-type RAS            | Kim et al [10]                            | 0,7<br>(0,53–0,93)  | 6,9                   | 3,1        | 0,46<br>(0,35–0,59) | 1,7                    | 1,9         | –                 | 2a                       | 2            | 4           |
| regorafenib                            | placebo         | mCRC 3. linie    | –                        | CORRECT [18]                              | 0,77<br>(0,64–0,94) | 5                     | 1,4        | 0,49<br>(0,42–0,58) | 1,7                    | 0,2         | –                 | 2a                       | 1            | 1           |

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progresi, QoL – kvalita života, mCRC – metastatický kolorektální karcinom, NS – statisticky ne-signifikantní rozdíl v parametru, NR – neuváděno, BSC – nejlepší podpůrná léčba

dílu v 2–3letém přežití mezi nemocnými léčenými trastuzumabem a historickými kontrolami zde není pochyb o klinickém benefitu v kategorii A, ať již se použije metaanalýza, nebo kterákoli z randomizovaných studií. Svědčí to o robustnosti systému ESMO-MCBS i o jasném přínosu trastuzumabu v této indikaci.

U karcinomu prsu je mezi našim hodnocením a hodnocením ESMO diskrepance v přínosu bevacizumabu a everolimu [1].

Příčinou je penalizace o 1 bod aplikovaná autory ESMO u léků, jejichž použití nezlepšilo QoL. Jak je vysvětleno v diskuzi, v naší analýze jsme tuto penalizaci uplatňovali jen tehdy, pokud se QoL zhoršila v některém ze signifikantních parametrů, což v těchto případech neplatí (tab. 4) [19–27].

#### Karcinom plic

U nemalobuněčného karcinomu plic se výrazným způsobem prosadila cí-

lená léčba na základě molekulárních prediktivních markerů. V konkrétních podskupinách nemocných dosahují tyto léky významného klinického benefitu za nízké toxicity ve srovnání s necílenou klasickou chemoterapií, která byla použita v kontrolních ramenech studií. Hodnocení expertní skupiny ČOS ČLS JEP se ve všech případech shodovalo s hodnocením ESMO (tab. 5) [28–34].

Tab. 4. Karcinom prsu.

| Režim                                 | Komparátor               | Indikace                 | Vymezení populace                | Použitá klinická studie/analýza    | OS HR            | OS komparátor | OS gain | PFS HR           | PFS komparátor | PFS gain | Vliv na QoL | Použitý formulář | MCBS ESMO | MCBS ČOS |
|---------------------------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------|---------------|---------|------------------|----------------|----------|-------------|------------------|-----------|----------|
| trastuzumab + systémová léčba         | systémová léčba          | adjuvance a neoadjuvance | HER2+                            | Joint Analysis (Romond et al) [19] | 0,67 (0,48–0,93) | –             | –       | 0,48 (0,39–0,59) | –              | –        | –           | 1                | A         | A        |
| trastuzumab + chemoterapie            | chemoterapie             | mBC                      | HER2+                            | Slamon et al [20]                  | 0,8 (0,64–1,00)  | 20,3          | 4,8     | 0,51 (0,41–0,63) | 4,6            | 2,8      | –           | 2a               | NR        | 4        |
| trastuzumab + inhibitor aromatázy     | inhibitor aromatázy      | mBC                      | HER2+                            | TAnDEM [21]                        | NS               | –             | –       | 0,63 (0,47–0,84) | 2,4            | 2,4      | –           | 2b               | NR        | 3        |
| lapatinib + kapecitabin               | kapecitabin              | mBC                      | HER2+, progresse na trastuzumabu | Geyer et al [22]                   | NS               | –             | –       | 0,49 (0,34–0,71) | 4,4            | 4        | –           | 2b               | 3         | 3        |
| bevacizumab + paclitaxel              | paclitaxel               | mBC                      | 1. linie                         | ECOG 2100 [23]                     | NS               | –             | –       | 0,60 (0,51–0,70) | 5,9            | 5,5      | –           | 2b               | 2         | 3        |
| pertuzumab + trastuzumab + paclitaxel | trastuzumab + paclitaxel | mBC                      | HER2+                            | CLEOPATRA [24]                     | 0,68 (0,56–0,84) | 40,8          | 15,7    | 0,62 (0,52–0,84) | 12,4           | 6        | –           | 2a               | 4         | 4        |
| trastuzumab + lapatinib + kapecitabin | lapatinib + kapecitabin  | mBC                      | HER2+                            | EMILIA [25]                        | 0,68 (0,55–0,85) | 25            | 6,8     | 0,65 (0,55–0,77) | 6,4            | 3,2      | +1          | 2a               | 5         | 5        |
| eribulin                              | jiná chemoterapie        | mBC                      | –                                | EMBRACE [26]                       | 0,81 (0,66–0,99) | 10,6          | 2,5     | 0,87 (0,71–1,05) | 2,2            | 1,5      | –           | 2a               | 2         | 2        |
| everolimus + exemestan                | exemestan                | mBC                      | progrese po IA                   | BOLERO-2 [27]                      | NS               | –             | –       | 0,43 (0,35–0,54) | 4,1            | 6,5      | –           | 2b               | 2         | 3        |

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progresse, QoL – kvalita života, mBC – metastatický karcinom prsu, NS – statisticky nesignifikanční rozdíl v parametru, NR – neuvedeno

### Karcinom ledviny

V řadě registračních studií u metastatického renálního karcinomu (metastatic renal cell cancer – mRCC) je hodnocení OS nemožné v důsledku překřížení ramen. Navzdory tomu, že data o OS nemocných ve většině studií jsou již zralá, bylo použito hodnocení na základě PFS. Do některých studií byli zařazováni nemocní po selhání jedné nebo dvou předchozích léčebných linií. Výsledky klinické studie použité v hodnocení se tudíž

vztahují na celý soubor pacientů, ale úhradové podmínky umožňují podání jen v jedné konkrétní linii terapie.

V ČR je často volena sekvence pazopanib-sunitinib, pro kterou neexistují údaje z randomizované studie. Hodnocení přínosu sunitinibu podle zásad MCBS ve 2. linii léčby tudíž nebylo možné.

Dalším problémem klinických studií u této indikace je, že komparátorem může být lék bez prokázané účinnosti pro danou léčebnou linii, např. sorafe-

nib ve 2. linii po selhání jiného anti-VEGF léku ve studii AXIS (tab. 6) [35–41].

### Melanom

V hodnocení přínosu léků na melanom došlo k diskrepanci oproti hodnocení týmem ESMO ve dvou případech. U kombinace dabrafenib/trametinib jsme použili parametr OS, i když primárním hodnoceným parametrem studie COMBI-d bylo PFS [42]. Výsledky OS, a dokonce i výsledky 3letého OS jsou již dostupné.

Tab. 5. Karcinom plic.

| Režim                              | Komparátor             | Indikace          | Vymezení populace                       | Použitá klinická studie/analýza | OS HR            | OS komparátor | OS gain | PFS HR           | PFS komparátor | PFS gain | Vliv na QoL | Použitý formulář | MCBS ESMO | MCBS ČOS |
|------------------------------------|------------------------|-------------------|---|---------------------------------|------------------|---------------|---------|------------------|----------------|----------|-------------|------------------|-----------|----------|
| erlotinib                          | CBDCA + gemcitabin     | NSCLC, 1. linie   | stadium IIIB a IV, non-squamous, EGFR+  | OPTIMAL, CTONG-0802[28]         | –                | –             | –       | 0,16 (0,10–0,26) | 4,6            | 8,5      | +1          | 2b               | 4         | 4        |
| gefitinib                          | CBDCA + paclitaxel     | NSCLC, 1. linie   | stadium IIIB a IV, adenokarcinom, EGFR+ | IPASS [29]                      | –                | –             | –       | 0,48 (0,34–0,67) | 6,3            | 3,2      | +1          | 2b               | 4         | 4        |
| afatinib                           | cisplatin + pemetrexed | NSCLC, 1. linie   | stadium IIIB a IV, adenokarcinom, EGFR+ | LUX-Lung 3 [30]                 | –                | –             | –       | 0,58 (0,43–0,78) | 6,9            | 4,2      | +1          | 2b               | 4         | 4        |
| crizotinib                         | cisplatin + pemetrexed | NSCLC, 1. linie   | stadium IIIB a IV, non-squamous, ALK+   | Solomon et al [31]              | –                | –             | –       | 0,45 (0,35–0,60) | 7              | 3,9      | +1          | 2b               | 4         | 4        |
| pemetrexed + cisplatin             | cisplatin + gemcitabin | NSCLC, 1. linie   | stadium IIIB a IV, non-squamous         | Scagliotti et al [32]           | 0,81 (0,70–0,94) | 10,4          | 1,4     | –                | –              | –        | +1          | 2a               | 4         | 4        |
| pemetrexed-maintenance             | placebo                | NSCLC-maintenance | stadium IIIB a IV, non-squamous         | Ciuleanu et al [33]             | 0,7 (0,56–0,88)  | 10,3          | 5,2     | 0,47 (0,37–0,60) | 1,8            | 2,6      | –           | 2a               | 4         | 4        |
| bevacizumab + (CBDCA + paclitaxel) | CBDCA + paclitaxel     | NSCLC, 1. linie   | stadium IIIB a IV, non-squamous         | Sandler et al [34]              | 0,79 (0,67–0,92) | 10,3          | 2       | 0,66 (0,57–0,77) | 4,5            | 1,7      | –           | 2a               | 2         | 2        |

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progresu, QoL – kvalita života, NSCLC – nemalobuněčný karcinom plic, NS – statisticky nesignifikantní rozdíl v parametru, NR – neuvedeno, EGFR – epidermal grow factor receptor, CBDCA – carboplatin

Po zohlednění nejnovějších výsledků studie COMBI-d a také COMBI-v [43,44] jsme pro kombinaci dabrafenib/trametinib dospěli ke skóre 5 vs. 4 uváděnému ESMO.

V našem hodnocení získal nejvyšší skóre 5 také nivolumab na základě zásadního prodloužení OS a zlepšení QoL oproti terapii dacarbazinem v populaci nemocných bez mutace *BRAF* (tab. 7) [42–49].

### Karcinom prostaty

Jak uvádí i experti ESMO, u metastatického kastrocně rezistentního karcinomu prostaty (metastatic castration-resistant prostate cancer – mCRPC) použila většina studií nové hormonální léky (androgen receptor-targeted agents – ARTA) v kontrolním rameni placebo nebo prednison. Problematiké je proto provádět nepřímé srovnání hormonálních léků s chemoterapií podle dosaženého skóre, jelikož ve studiích s cytostatiky bylo v kontrolním rameni obvykle použito jiné cytostatikum s nezanedbatelnou účinností u mCRPC.

Terapie enzalutamidem v pre-chemoindikaci, ač podpořena výsledky randomizované studie [50], zatím u nás není hrazena z veřejného zdravotního pojištění, proto ji zde neuvádíme (tab. 8) [51–55].

Terapie enzalutamidem v pre-chemoindikaci, ač podpořena výsledky randomizované studie [50], zatím u nás není hrazena z veřejného zdravotního pojištění, proto ji zde neuvádíme (tab. 8) [51–55].

### Hepatocelulární karcinom

Indikace sorafenibu u hepatocelulárního karcinomu (hepatocellular carcinoma – HCC) je založená na randomizované studii SHARP, jejímž primárním cílem bylo hodnocení PFS a doby do zhoršení QoL.

Tab. 6. Karcinom ledviny.

| Režim           | Komparátor           | Indikace       | Vymezení populace              | Použitá klinická studie/analýza | OS HR            | OS komparátor | OS gain | PFS HR           | PFS komparátor | PFS gain | Vliv na QoL | Použitý formulář | MCBS ESMO | MCBS ČOS |
|-----------------|----------------------|----------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------|---------------|---------|------------------|----------------|----------|-------------|------------------|-----------|----------|
| sunitinib       | interferon- $\alpha$ | mRCC, 1. linie | dobrá a střední prognóza MSKCC | Motzer et al [36]               | NS               | –             | –       | 0,42 (0,32–0,54) | 5              | 6        | 1           | 2b               | 4         | 4        |
| pazopanib       | sunitinib            | mRCC, 1. linie | dobrá a střední prognóza MSKCC | COMPARZ [37]                    | NS               | –             | –       | NS               | –              | –        | 1           | 2c               | 4         | 4        |
| axitinib        | sorafenib            | mRCC, 2. linie | progrese na antiVEGF léčbě     | AXIS [35]                       | NS               | –             | –       | 0,66 (0,55–0,81) | 4,7            | 2        | –           | 2b               | 3         | 3        |
| everolimus      | placebo              | mRCC, 2. linie | progrese na anti-VEGF léčbě    | RECORD-1 [38]                   | NS               | –             | –       | 0,33 (0,22–0,40) | 1,9            | 3        | –           | 2b               | 3         | 3        |
| temsirrolimus   | interferon- $\alpha$ | mRCC, 1. linie | špatná prognóza MSKCC          | Hudes et al [39]                | 0,73 (0,58–0,92) | 7,3           | 3,6     | NR               | 3,1            | 2,4      | –           | 2a               | 4         | 4        |
| bevacizumab/IFN | interferon- $\alpha$ | mRCC, 1. linie | dobrá a střední prognóza MSKCC | AVOREN [40]                     | NS               | –             | –       | 0,63 (0,52–0,75) | 5,4            | 4,6      | –           | 2b               | 3         | 3        |
| sorafenib       | placebo              | mRCC, 2. linie | progrese na cytokinech         | TARGET [41]                     | 0,77 (0,63–0,95) | 15,9          | 3,4     | 0,44 (0,35–0,55) | 2,8            | 2,7      | –           | 2a               | 3         | 3        |

OS – celkové přežití, PFS – přežití bez progrese, QoL – kvalita života, NS – statisticky nesignifikanční rozdíl v parametru, mRCC – metastatický renální karcinom, VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor, NR – neuvedeno, MSKCC – Memorial Sloan-Kettering Cancer Centre kritéria, IFN – interferon-alfa

Překřížení ramen nebylo v této studii povoleno před finální analýzou OS [56]. I když je sorafenib jediným cíleným lékem v současnosti dostupným v této indikaci, na základě hodnocení MCBS je jeho přínos relativně nízký. U některých nemocných se nicméně daří dosáhnout dlouhodobé odpovědi na léčbu sorafenibem [57]. Na tomto příkladu je vidět problém s hodnocením léku podle metodiky ESMO-MCBS, pokud se jedná o jedinou léčebnou možnost pro danou malignitu (tab. 9) [56].

#### Karcinom žaludku a gastroezofageální junkce

Podobně jako u HCC je v této indikaci hrazen jediný cílený lék, trastuzumab,

v podskupině nemocných s HER2+ nádorem. Navzdory léčbě cílené na konkrétní receptor a absenci významné přidané toxicity je přínos léku hodnoceného podle systému ESMO-MCBS vyjádřen jen hodnotou 3. V klinickém kontextu je ovšem nutné zohlednit také to, že se jedná o prognosticky mimořádně nepříznivý typ nádoru s omezenými možnostmi systémové léčby (tab. 10) [58].

#### Ovariální karcinom

Přínos bevacizumabu v kombinaci s chemoterapií byl hodnocen v podskupině nemocných s vysokým rizikem, což je v souladu s úhradovým omezením bevacizumabu na základě analýzy pod-

skupin ve studii ICON7 [59]. Pro takto vymezenou indikaci bylo v hodnocení dle ESMO-MCBS dosaženo vysoké skóre (tab. 11) [59].

#### Karcinom močového měchýře

Vinflunin jako terapie 2. linie pro nemocné s metastatickým karcinodem močového měchýře je jedinou v současnosti hrazenou terapií, pro kterou je v této indikaci dostupná klinická studie prokazující prodloužení přežití [60]. Tento lék publikace ESMO nehodnotila (tab. 12) [60].

#### Diskuze

Metoda ESMO-MCBS pro hodnocení klinického benefitu léků je jednoduchá,

Tab. 7. Melanom.

| Režim                      | Komparátor  | Indikace         | Vymezení populace  | Použitá klinická studie/analýza | OS HR            | OS komparátor     | OS gain     | PFS HR           | PFS komparátor | PFS gain | Vliv na QoL                  | Použitý formulář | MCBS ESMO | MCBS ČOS |
|----------------------------|-------------|------------------|--------------------|---------------------------------|------------------|-------------------|-------------|------------------|----------------|----------|------------------------------|------------------|-----------|----------|
| vemurafenib                | dacarbazin  | 1. linie         | BRAF V600E + V600K | BRIM-3 [46]                     | 0,7 (0,57–0,87)  | 9,7               | 3,9         | 0,38 (0,32–0,46) | 1,6            | 5,3      | –                            | 2a               | 4         | 4        |
| dabrafenib                 | dacarbazin  | 1. linie         | BRAF V600E         | BREAK-3 [47,48]                 | 0,77 (0,52–1,13) | 15,6              | 4,4         | 0,30 (0,18–0,51) | 2,7            | 2,4      | toxikita 1, QoL +1           | 2b               | 4         | 4        |
| dabrafenib + trametinib    | dabrafenib  | 1. linie         | BRAF V600          | COMBI-d [42,43]                 | 0,71 (0,55–0,92) | 18,7 *44 vs. 32 % | 6,4         | 0,67 (0,53–0,84) | 8,8            | 2,2      | ↓ kožní toxikita SCC (+1)    | 2a               | 4         | 5        |
|                            | vemurafenib | 1. linie         | BRAF V600          | COMBI-v [44]                    | 0,69 (0,53–0,89) | *45 vs. 32 %      | –           | 0,69 (0,53–0,89) | 7,3            | 4,1      | +1                           | 2a               | 4         | 5        |
| ipilimumab 3mg/kg ± gp 100 | gp 100      | 2. a další linie | HLA A 0201         | MDX010-020 [49]                 | 0,69 (0,56–0,85) | 6,4               | 3,7         | –                | –              | –        | ↑ toxikita, 2,1 % úmrtí (–1) | 2a               | 4         | 4        |
| nivolumab                  | dacarbazin  | 1. linie         | BRAF wild-type     | Check Mate066 [45]              | 0,42 (0,25–0,73) | 10,8              | 6+ měřících | 0,43 (0,34–0,56) | 2,2            | 2,9      | +1                           | 2a               | 4         | 5        |

\*3leté přežití

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progresu, QoL – kvalita života, NSCLC – nemalobuněčný karcinom plic, NS – statisticky nesignifikantní rozdíl v parametru, NR – neuvedeno, SCC – skvamózní karcinom

robustní a reprodukovatelná. Její výsledky se ve velké většině případů shodují s expertním názorem na klinický přínos daného léku. Expertní tým ČOS ČLS JEP se domnívá, že skóre podle ESMO-MCBS by se mělo stát dalším hodnoceným parametrem při posuzování úhrady léku z veřejného zdravotního pojištění. Robustnost metody rovněž odpovídá požadavkům metodik HTA (Health Technology Assessment), a to zejména v tom, že není postavena na jednom podílovém indexu, ale kombinuje více dimenzí hodnoceného problému. Doporučení ČOS ČLS JEP budou postupně doplňována o tento parametr.

Metoda dosud neumožňuje hodnocení léků v některých klíčových indikacích, např. neoadjuvanci, kde často hlav-

ním hodnoceným parametrem je pCR, a u studií s jedním ramenem, na jejichž základě občas dochází k registraci nových léků pro méně časté diagnózy. Proto nebylo možné hodnotit léky imatinib v indikaci gastrointestinální stromální tumor, vismodegib v indikaci kožní basaliom nebo pazopanib v indikaci sarkomy měkkých tkání. Přitom např. v případě imatinibu u nemocných s metastatickým gastrointestinálním stromálním nádorem je zřejmé, že oproti dřívějšímu standardu, kterým byla většinou chemoterapie, imatinib prodlužuje medián OS v řádu několika let. Limitací metody ESMO-MCBS je tedy mimo jiné i to, že nemůže hodnotit ty léky, kde byl výrazný efekt zaznamenán již ve studiích časně fáze, a kde by tudíž pro-

vedení randomizované studie nebylo etické. Není možné ani hodnocení metaanalýz, které obvykle neuvádějí absolutní rozdíly v přežití, nýbrž jen HR. V současnosti expertní skupina ESMO pracuje na systému MCBS 1.1, který by měl umožnit i hodnocení ve výše uvedených situacích a případně modifikovat některé parametry hodnocení léků.

V hodnocení expertní skupina ČOS ČLS JEP mírně modifikovala metodiku ESMO-MCBS v hodnocení QoL. Podle ESMO se při zlepšení QoL díky hodnocené léčbě vůči komparátoru přidává k bodovému hodnocení 1 bod, pokud není QoL zlepšena a hodnocení je provedeno podle parametru PFS, ubere se 1 bod. V našem hodnocení jsme ubírali 1 bod jen v při-



Tab. 8. Kastrčně refrakterní karcinom prostaty.

| Režim                  | Komparátor      | Indikace               | Vymezení populace                         | Použitá klinická studie/analýza | OS HR            | OS komparátor | OS gain | PFS HR             | PFS komparátor | PFS gain | Vliv na QoL | Použitý formulář | MCBS ESMO | MCBS ČOS |
|------------------------|-----------------|------------------------|---|---------------------------------|------------------|---------------|---------|--------------------|----------------|----------|-------------|------------------|-----------|----------|
| abirateron + prednison | prednison       | prechemo               | –   | COU-AA-302 [51]                 | NS*              | –             | –       | 0,53 (0,45–0,62)   | 8,3            | 8,2      | –           | 2b               | NR        | 3        |
| enzalutamid            | placebo         | postchemo              | –   | AFFIRM [52]                     | 0,63 (0,53–0,75) | 13,6          | 4,8     | 0,4 (0,35–0,47)    | 2,9            | 5,4      | +1          | 2a               | 4         | 4        |
| abirateron + prednison | prednison       | postchemo              | –   | de Bono et al [53]              | 0,65 (0,54–0,77) | 10,9          | 3,9     | 0,67 (0,58–0,78)   | 3,6            | 2        | –           | 2a               | 4         | 4        |
| cabazitaxel            | mitoxantron     | progrese po docetaxelu | –   | TROPIC [54]                     | 0,70 (0,59–0,83) | 12,7          | 2,4     | 0,74 (0,64–0,86)   | 1,4            | 1,4      | –           | 2a               | 2         | 2        |
| radium-223             | standardní péče | progrese po docetaxelu | kostní bolesti, bez viscerálních metastáz | ALSYM-PCA [55]                  | 0,70 (0,55–0,88) | 11,3          | 3,6     | 0,66** (0,52–0,83) | 9,8            | 5,8      | +1          | 2a               | 5         | 5        |

\*rozdíl v OS není signifikantní na prespecifikované hladině statistické signifikance

\*\*sledovaným parametrem byla doba do symptomatické kostní příhody

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progrese, QoL – kvalita života, NS – statisticky nesignifikantní rozdíl v parametru, NR – neuvedeno

Tab. 9. Hepatocelulární karcinom (údaje přežití jsou uvedeny v týdnech).

| Režim     | Komparátor | Indikace                      | Vymezení populace | Použitá klinická studie/analýza | OS HR            | OS komparátor | OS gain | PFS HR           | PFS komparátor | PFS gain | Vliv na QoL | Použitý formulář | MCBS ESMO | MCBS ČOS |
|-----------|------------|-------------------------------|-------------------|---------------------------------|------------------|---------------|---------|------------------|----------------|----------|-------------|------------------|-----------|----------|
| sorafenib | placebo    | metastatický/inoperabilní HCC | –                 | SHARP [56]                      | 0,69 (0,55–0,87) | 34,4          | 11,9    | 0,58 (0,45–0,74) | 12,3           | 11,7     | –           | 2a               | NR        | 3        |

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progrese, QoL – kvalita života, HCC – hepatocelulární karcinom, NS – statisticky nesignifikantní rozdíl v parametru, NR – neuvedeno

padě, že došlo k prokazatelnému zhoršení QoL vůči komparátoru. Důvodem této modifikace bylo, že u většiny použitých studií nejsou údaje o QoL dostupné a došlo by k znevýhodnění léků ve studiích, kde QoL hodnocena byla a rozdíl se neprokázal. QoL je u onkologických pacientů podmíněna hlavně základ-

ním onkologickým onemocněním a oddálení progrese v klinické praxi převáží jistý stupeň dyskomfortu způsobený léčbou. Tato modifikace nicméně způsobila změnu jen u dvou léků (bevacizumab a everolimus v indikaci karcinom prsu), kde je naše hodnocení o 1 bod vyšší než v publikaci Cherny et al [1].

Hodnocení přínosu léků v indikacích s mimořádně nepříznivou prognózou, jako je HCC, HER2+ karcinom žaludku a gastroezofageální junkce, a také vyšší linie terapie dalších malignit může být podle algoritmu ESMO-MCBS podhodnoceno. Existují totiž nemocní, kteří budou na léčbu dobře a dlouhodobě odpovídat. Pro-

Tab. 10. Karcinom žaludku a gastroezofageální junkce.

| Režim                           | Kompara-<br>tór | Indi-<br>kace | Vymezení<br>populace | Použitá<br>klinická<br>studie/<br>analýza | OS<br>HR | OS<br>kompa-<br>rátor   | OS<br>gain | PFS<br>HR               | PFS<br>kompa-<br>rátor | PFS<br>gain | Vliv<br>na<br>QoL | Použitý<br>formu-<br>lář | MCBS<br>ESMO | MCBS<br>ČOS |
|---------------------------------|-----------------|---------------|----------------------|---|----------|-------------------------|------------|-------------------------|------------------------|-------------|-------------------|--------------------------|--------------|-------------|
| trastu-<br>zumab +<br>cDDP + FU | cDDP +<br>FU    | mGC           | HER2+                | TOGA [58]                                 | 0,74     | 11,1<br>(0,60–<br>0,91) | 2,7        | 0,71<br>(0,59–<br>0,85) | 5,5                    | 1,2         | –                 | 2a                       | NR           | 3           |

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progresu, QoL – kvalita života, mGC – metastatický karcinom žaludku, NS – statisticky nesigni-  
fikantní rozdíl v parametru, NR – neuvedeno

Tab. 11. Ovariální karcinom.

| Režim                                      | Kompara-<br>tór            | Indi-<br>kace | Vymezení<br>populace         | Použitá<br>klinická<br>studie/<br>analýza | OS<br>HR                | OS<br>kompa-<br>rátor | OS<br>gain | PFS<br>HR               | PFS<br>kompa-<br>rátor | PFS<br>gain | Vliv<br>na<br>QoL | Použitý<br>formu-<br>lář | MCBS<br>ESMO | MCBS<br>ČOS |
|--|----------------------------|---------------|------------------------------|---|-------------------------|-----------------------|------------|-------------------------|------------------------|-------------|-------------------|--------------------------|--------------|-------------|
| bevacizu-<br>mab,<br>paclitaxel<br>a CBDCA | paclita-<br>xel<br>a CBDCA | 1. linie      | vysoké<br>riziko<br>recidivy | ICON7 [59]                                | 0,64<br>(0,48–<br>0,85) | 28,80                 | 7,80       | 0,68<br>(0,55–<br>0,85) | 10,5                   | 5,4         | –                 | 2a                       | 4            | 4           |

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progresu, QoL – kvalita života, CBDCA – carboplatin, NS – statisticky nesignifikantní  
rozdíl v parametru, NR – neuvedeno

Tab. 12. Karcinom močového měchýře.

| Režim     | Kompara-<br>tór | Indi-<br>kace | Vymezení<br>populace  | Použitá<br>klinická<br>studie/<br>analýza | OS<br>HR                | OS<br>kompa-<br>rátor | OS<br>gain | PFS<br>HR                | PFS<br>kompa-<br>rátor | PFS<br>gain | Vliv<br>na<br>QoL | Použitý<br>formu-<br>lář | MCBS<br>ESMO | MCBS<br>ČOS |
|-----------|-----------------|---------------|---|---|-------------------------|-----------------------|------------|--------------------------|------------------------|-------------|-------------------|--------------------------|--------------|-------------|
| vinflunin | placebo         | 2. linie      | bez před-<br>chozí ad-<br>juvantní<br>terapie<br>atd. („eli-<br>gible po-<br>pulation“) | Bellmunt<br>et al [60]                    | 0,77<br>(0,61–<br>0,98) | 4,3                   | 2,6        | 0,68*<br>(0,54–<br>0,86) | 1,5*                   | 1,5*        | –                 | 2a                       | NR           | 3           |

\*parametry související s PFS platí pro „intention-to-treat“ populaci

OS – celkové přežití, PFS – přežití do progresu, QoL – kvalita života, NS – statisticky nesignifikantní rozdíl v parametru, NR – neuvedeno

blémem je, že v současnosti není možné tyto nemocné předem identifikovat.

### Závěr

Hodnocení léků podle systému ESMO-MCBS je jednoduché, reprodukovatelné a robustní. Získané skóre ve většině případů odpovídá intuitivně hodnocenému přínosu léků v klinické praxi zku-

šenými onkology. Skóre ESMO-MCBS se může stát dalším doplňkovým parametrem při hodnocení nových onkologických léků za účelem jejich úhrady z veřejného zdravotního pojištění.

### Literatura

1. Cherny NI, Sullivan R, Dafni U et al. A standardised, generic, validated approach to stratify the magnitude of

clinical benefit that can be anticipated from anti-cancer therapies: the European Society for Medical Oncology Magnitude of Clinical Benefit Scale (ESMO-MCBS). *Ann Oncol* 2015; 26(8): 1547–1573. doi: 10.1093/annonc/mdv249.

2. Cherny NI, Sullivan R, Dafni U et al. ESMO – Magnitude of Clinical Benefit Scale V.1.0 questions and answers. *ESMO Open* 2016; 1(5): e000100. doi: 10.1136/esmo-open-2016-000100.

3. Kiesewetter B, Raderer M, Steger GG et al. The European Society for Medical Oncology Magnitude of Clinical

Benefit Scale in daily practice: a single institution, real-life experience at the Medical University of Vienna. *ESMO Open* 2016; 1(4): e000066. doi: 10.1136/esmo-open-2016-000066.

4. Cherny NI, Sullivan R, Dafni U et al. A standardised, generic, validated approach to stratify the magnitude of clinical benefit that can be anticipated from anti-cancer therapies: the European Society for Medical Oncology Magnitude of Clinical Benefit Scale (ESMO-MCBS). *Ann Oncol* 2016; pii: mdw258. doi: 10.1093/annonc/mdw258.
5. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350(23): 2335–2342. doi: 10.1056/NEJMoa032691.
6. Saltz LB, Clarke S, Diaz-Rubio E et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008; 26(12): 2013–2019. doi: 10.1200/JCO.2007.14.9930.
7. Linkos. Klinický registr CORECT. [online]. Institut biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity, Brno. [citováno 1. ledna 2017]. Dostupné z: <http://www.linkos.cz/prehled-registru/klinicky-registr-corect/>.
8. Douillard JY, Tabernero J, Salvatore S et al. The PRIME study: survival outcomes in patients with KRAS/NRAS wild-type metastatic colorectal cancer and non-liver-limited disease. *Ann Oncol* 2014; 25 (Suppl 2): abstr. 0004. doi: 10.1093/annonc/mdu1644.
9. Peeters M, Oliner KS, Price TJ et al. Analysis of KRAS/NRAS Mutations in a Phase III Study of Panitumumab with FOLFIRI Compared with FOLFIRI Alone as Second-line Treatment for Metastatic Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2015; 21(24): 5469–5479. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0526.
10. Kim TW, Elme A, Kusic Z et al. A phase 3 trial evaluating panitumumab plus best supportive care vs best supportive care in chemorefractory wild-type KRAS or RAS metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 2016; 115(10): 1206–1214. doi: 10.1038/bjc.2016.309.
11. Amado RG, Wolf M, Peeters M et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(10): 1626–1634. doi: 10.1200/JCO.2007.14.7116.
12. Van Cutsem E, Lenz HJ, Köhne CH et al. Fluorouracil, leucovorin, and irinotecan plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33(7): 692–700. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4812.
13. Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* 2007; 25(12): 1539–1544. doi: 10.1200/JCO.2006.09.6305.
14. Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R et al. Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen. *J Clin Oncol* 2012; 30(28): 3499–3506. doi: 10.1200/JCO.2012.42.8201.
15. Peeters M, Price TJ, Cervantes A et al. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28(31): 4706–4713. doi: 10.1200/JCO.2009.27.6055.
16. Bennouna J, Sastre J, Arnold D et al. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14(1): 29–37. doi: 10.1016/S1473-0455(12)70477-1.
17. Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Karapetis CS et al. Cetuximab for the treatment of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2007; 357(20): 2040–2048. doi: 10.1056/NEJMoa071834.
18. Grothey A, Cutsem EV, Sobrero A et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2013; 381(9863): 303–312. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61900-X.
19. Romond EH, Perez EA, Bryant J et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 353(16): 1673–1684. doi: 10.1056/NEJMoa052122.
20. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344(11): 783–792. doi: 10.1056/NEJM200103153441101.
21. Kaufman B, Mackey JR, Clemens MR et al. Trastuzumab plus anastrozole versus anastrozole alone for the treatment of postmenopausal women with human epidermal growth factor receptor 2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: results from the randomized phase III TAnDEM study. *J Clin Oncol* 2009; 27(33): 5529–5537. doi: 10.1200/JCO.2008.20.6847.
22. Geyer CE, Forster J, Lindquist D et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2006; 355(26): 2733–2743. doi: 10.1056/NEJMoa064320.
23. Miller K, Wang M, Gralow J et al. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2007; 357(26): 2666–2676. doi: 10.1056/NEJMoa072113.
24. Swain SM, Baselga J, Kim SB et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel in HER2-positive metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2015; 372(8): 724–734. doi: 10.1056/NEJMoa1413513.
25. Verma S, Miles D, Gianni L et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2012; 367(19): 1783–1791. doi: 10.1056/NEJMoa1209124.
26. Cortes J, O'Shaughnessy J, Loesch D et al. Eribulin monotherapy versus treatment of physician's choice in patients with metastatic breast cancer (EMBRACE): a phase 3 open-label randomised study. *Lancet* 2011; 377(9769): 914–923. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60070-6.
27. Baselga J, Campone M, Piccart M et al. Everolimus in postmenopausal hormone receptor-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2012; 366(6): 520–529. doi: 10.1056/NEJMoa1109653.
28. Zhou C, Wu YL, Chen G et al. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2011; 12(8): 735–742. doi: 10.1016/S1473-0455(11)70184-X.
29. Fukuoka M, Wu Y-L, Thongprasert S et al. Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol* 2011; 29(21): 2866–2874. doi: 10.1200/JCO.2010.33.4235.
30. Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol* 2013; 31(21): 3327–3334. doi: 10.1200/JCO.2012.44.2806.
31. Solomon BJ, Mok T, Kim DW et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 371(23): 2167–2177. doi: 10.1056/NEJMoa1408440.
32. Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naïve patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26(21): 3543–3551. doi: 10.1200/JCO.2007.15.0375.
33. Ciuleanu T, Brodowicz T, Zielinski C et al. Maintenance pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care for non-small-cell lung cancer: a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet* 2009; 374(9699): 1432–1440. doi: 10.1016/S0140-6736(09)61497-5.
34. Sandler A, Gray R, Perry MC et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006; 355(24): 2542–2550. doi: 10.1056/NEJMoa061884.
35. Rini B, Escudier B, Tomczak P et al. Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial. *Lancet* 2011; 378(9807): 1931–1939. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61613-9.
36. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2009; 27(22): 3584–3590. doi: 10.1200/JCO.2008.20.1293.
37. Motzer RJ, Hutson TE, Cella D et al. Pazopanib versus sunitinib in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2013; 369(8): 722–731. doi: 10.1056/NEJMoa1303989.
38. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet* 2008; 372(9637): 449–456. doi: 10.1016/S0140-6736(08)61039-9.
39. Hudes G, Carducci M, Tomczak P et al. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(22): 2271–2281. doi: 10.1056/NEJMoa066838.
40. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet* 2008; 370(9605): 2103–2111. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61904-7.
41. Escudier B, Eisen T, Stadler WM et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356(2): 125–134. doi: 10.1056/NEJMoa060655.
42. Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H et al. Dabrafenib and trametinib versus dabrafenib and placebo for Val600 BRAF-mutant melanoma: a multicentre, double-blind, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2015; 386(9992): 444–451. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60898-4.
43. Flaherty K, Davies MA, Grob JJ et al. Genomic analysis and 3-year efficacy and safety update of COMBI-d: A phase 3 study of dabrafenib (D) + trametinib (T) vs D monotherapy in patients (pts) with unresectable or metastatic BRAF V600E/K-mutant cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2016; 34: abstr. 9502.
44. Robert C, Karaszewska B, Schachter J et al. Three-year estimate of overall survival in COMBI-v, a randomized phase 3 study evaluating first-line dabrafenib (D) + trametinib (T) in patients (pts) with unresectable or metastatic BRAF V600E/K-mutant cutaneous melanoma. *Ann Oncol* 2016; 27 (Suppl 6): LBA40. doi: 10.1093/annonc/mdw435.37.
45. Robert C, Long GV, Brady B et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 320–330. doi: 10.1056/NEJMoa1412082.
46. McArthur GA, Chapman PB, Robert C et al. Safety and efficacy of vemurafenib in BRAF(V600E) and BRAF(V600K) mutation-positive melanoma (BRIM-3): extended follow-up of a phase 3, randomised, open-label study. *Lancet Oncol* 2014; 15(3): 323–332. doi: 10.1016/S1473-0455(14)70012-9.
47. Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 380(9839): 358–365. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60868-X.
48. Hauschild J, Grob L, Demidov LV et al. An update on overall survival (OS) and follow-on therapies in BREAK-

3. *Ann Oncol* 2014; 25 (Suppl 4): iv374–iv393. abstract 1092PD.
49. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363(8): 711–723. doi: 10.1056/NEJMoa1003466.
50. Beer TM, Armstrong AJ, Rathkopf DE et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N Engl J Med* 2014; 371(5): 424–433. doi: 10.1056/NEJMoa1405095.
51. Ryan CJ, Smith MR, de Bono JS et al. Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. *N Engl J Med* 2013; 368(2): 138–148. doi: 10.1056/NEJMoa1209096.
52. Scher HI, Fizazi K, Saad F et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med* 2012; 367(13): 1187–1197. doi: 10.1056/NEJMoa1207506.
53. de Bono JS, Logothetis CJ, Molina A et al. Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2011; 364(21): 1995–2005. doi: 1056/NEJMoa1014618.
54. de Bono JS, Oudard S, Ozguroglu M et al. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *Lancet* 2010; 376(9747): 1147–1154. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61389-X.
55. Parker C, Nilsson S, Heinrich D et al. Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med* 2013; 369(3): 213–223. doi: 10.1056/NEJMoa1213755.
56. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359(4): 378–390. doi: 10.1056/NEJMoa0708857.
57. Lu LC, Shao YY, Chan SY et al. Clinical characteristics of advanced hepatocellular carcinoma patients with prolonged survival in the era of anti-angiogenic targeted-therapy. *Anticancer Res* 2014; 34(2): 1047–1052.
58. Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376(9742): 687–697. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X.
59. Perren TJ, Swart AM, Pfisterer J et al. A phase 3 trial of bevacizumab in ovarian cancer. *N Engl J Med* 2011; 365(26): 2484–2496. doi: 10.1056/NEJMoa1103799.
60. Bellmunt J, Théodore C, Demkov T et al. Phase III trial of vinflunine plus best supportive care compared with best supportive care alone after a platinum-containing regimen in patients with advanced transitional cell carcinoma of the urothelial tract. *J Clin Oncol* 2009; 27(27): 4454–4461. doi: 10.1200/JCO.2008.20.5534.

# Isocitrate Dehydrogenase Mutations are Better Prognostic Marker than O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA Methyltransferase Promoter Methylation in Glioblastomas – a Retrospective, Single-centre Molecular Genetics Study of Gliomas

Mutace isocitrátdehydrogenázy jsou lepší prognostický marker než metylace promotoru O<sup>6</sup>-methylguanin-DNA-metyltransferázy u glioblastomů – retrospektivní molekulárně genetická studie gliomů z jednoho centra

Houdova Megova M.<sup>1</sup>, Drabek J.<sup>1</sup>, Dwight Z.<sup>2</sup>, Trojanec R.<sup>1</sup>, Koudelakova V.<sup>1</sup>, Vrbkova J.<sup>1</sup>, Kalita O.<sup>3</sup>, Mlcochova S.<sup>1</sup>, Rabcanova M.<sup>1</sup>, Hajduch M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital in Olomouc, Czech republic

<sup>2</sup>Department of Pathology, University of Utah, Salt Lake City, Utah, USA

<sup>3</sup>Department of Neurooncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital in Olomouc, Czech republic

## Summary

**Background:** Mutations in isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (*IDH1/2*) are a promising prognostic biomarker of gliomas. The purpose of our study was to examine the clinical prognostic properties of *IDH1/2* mutations in a glioma patient cohort from the Czech Republic using an improved platform for simple and reliable *IDH* genotyping. **Material and Methods:** We retrospectively analyzed a group of 145 glioma patients by testing for the three most frequent *IDH* mutations, *IDH1* R132H, *IDH1* R132C, and *IDH2* R172K, through the competitive amplification of differentially melting amplicons (CADMA) polymerase chain reaction (PCR). O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase (*MGMT*) promoter methylation, copy number of *EGFR*, *p53*, *RB1*, *MDM2*, *CDKN2A* genes, and deletions in 1p, 19q and 10p chromosomal regions were also analyzed and correlated with clinical characteristics. **Results:** Of 145 gliomas, 36 harbored *IDH1* R132H mutation and 1 *IDH1* R132C mutation. We did not detect any *IDH2* R172K mutation. *IDH1* mutations were positively associated with *MGMT* methylation (OR 3.08, 95% CI 1.387–7.282;  $p = 0.007$ ), 1p/19q co-loss (OR 8.85, 95% CI 2.367–42.786;  $p = 0.002$ ) and negatively associated with epidermal growth factor receptor amplification (OR 0.12, 95% CI 0.019–0.437;  $p = 0.006$ ) and 10p loss (OR 0.09, 95% CI 0.005–0.436;  $p = 0.019$ ). The overall survival of *IDH*-mutant was 25 months, but only 9 months in *IDH*-wild type gliomas ( $p = 0.035$ ); at the same time, survival associated with methylated vs. unmethylated *MGMT* promoter did not significantly differ ( $p = 0.166$ ). **Conclusion:** Despite *IDH1* mutations being closely associated with *MGMT* methylation in glioma patients, *IDH1* mutations in glioblastoma patients are stronger marker of overall survival than *MGMT* methylation and should be the marker of choice, especially when using genotyping by CADMA PCR.

## Key words

isocitrate dehydrogenase – polymerase chain reaction – glioma – glioblastoma

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

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

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

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



doc. Mgr. Jiri Drabek, Ph.D.  
Institute of Molecular  
and Translational Medicine  
Faculty of Medicine and Dentistry,  
Palacky University and University  
Hospital in Olomouc  
Hnevotinska 5  
779 00 Olomouc  
Czech Republic  
e-mail: jiri.drabek@upol.cz

Submitted/Obdrženo: 3. 5. 2017

Accepted/Přijato: 23. 7. 2017

doi: 10.14735/amko2017361

## Souhrn

**Východiska:** Mutace isocitrátdehydrogenázy 1 a 2 (*IDH1/2*) jsou slibným prognostickým biomarkerem gliálních nádorů. Cílem naší studie bylo ověřit prognostický efekt *IDH1/2* mutací na skupině pacientů s gliálními nádory z České republiky při použití jednoduché a spolehlivé *IDH* genotypizace. **Materiál a metody:** U 145 pacientů s gliálními nádory bylo provedeno vyšetření tří nejčastějších *IDH* mutací *IDH1* R132H, *IDH1* R132C a *IDH2* R172K pomocí kompetitivní polymerázové řetězové reakce (PCR) amplifikace ampliconů s odlišnou teplotou tání (competitive amplification of differentially melting amplicons – CADMA PCR). Dále byla stanovena metylace promotoru O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA metyltransferáza (*MGMT*), počet kopií genů *EGFR*, *p53*, *RB1*, *MDM2*, *CDKN2A* a chromozomálních regionů 1p, 19q a 10p. Výsledky byly korelovány s klinickými charakteristikami pacientů. **Výsledky:** *IDH* mutace byly pozitivně asociovány s *MGMT* metylací (OR 3,08, 95% CI 1,387–7,282; *p* = 0,007), 1p/19q kódelecí (OR 8,85, 95% CI 2,367–42,786; *p* = 0,002) a negativně asociovány s *EGFR* amplifikací (OR 0,12, 95% CI 0,019–0,437; *p* = 0,006) a ztrátou 10p (OR 0,09, 95% CI 0,005–0,436; *p* = 0,019). Celkové přežívání ve skupině *IDH*-mutovaných glioblastomů bylo 25 měsíců, zatímco u *IDH*-wild-type glioblastomů pouze 9 měsíců (*p* = 0,035) a současně se přežívání pacientů s metylovaným vs. nemetylovaným promotorem *MGMT* významně nelišilo (*p* = 0,166). **Závěr:** Navzdory tomu, že *IDH1/2* mutace jsou úzce asociovány s *MGMT* metylací u pacientů s gliálními nádory, ve skupině glioblastomů se *IDH1/2* mutace jeví jako silnější prognostický marker než *MGMT* metylace a měly by být biomarkerem první volby pro určení prognózy gliálního nádoru, zvláště při použití genotypizační metody CADMA PCR.

## Klíčová slova

isocitrátdehydrogenáza – polymerázová řetězová reakce – gliom – glioblastom

## Introduction

Gliomas are the most common brain tumors. They are malignant, highly infiltrating and diffuse [1], and the prognosis of these malignancies remains unfavorable despite aggressive therapy [2]. Mutations in isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (*IDH1/2*) were first identified in glioblastomas [3] and lower grade glioma [4]. *IDH1/2* mutations probably play significant roles in gliomagenesis [5] and have primarily been detected in heterozygous forms in glioma subtypes of astrocytomas grades 2 and 3, oligodendrogliomas, and secondary glioblastomas [6].

The most frequent *IDH1* mutation, *IDH1* c.395G>A p.(Arg132His) replaces the arginine with histidine in 90% of *IDH1* mutated tumors. *IDH2* mutated tumors frequently harbor analogous mutation p.(Arg172Lys). *IDH1* and *IDH2* mutations are mutually exclusive except for very rare cases [7]. They are associated with 1p/19q co-deletion, mutation in *CIC*, *FUBP1*, and *TERT* genes in oligodendroglial tumors [8], and *p53* mutation/deletion, *ATRX* mutation/deletion, and *MGMT* promoter methylation in astrocytic tumors [9]. In addition, these mutations are inversely associated with *EGFR* amplification [10]. DNA methylation profiling shows a tight correlation between *IDH1/2* mutations and the glioma CpG island methylator phenotype (G-CIMP), characterized by promoter DNA methylation alteration

and the epigenetic instability in glioma cells, and favorable prognosis [11].

Mutated *IDH1/2* enzymes have *de novo* aberrant enzymatic activity – the NADPH-dependent reduction of alpha-ketoglutarate to R(-)-2-hydroxyglutarate (2HG) [12], which leads to consumption of alpha-ketoglutarate and NADPH and can inhibit degradation of HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ ) and increase of oxidative stress of the tumor cells [13]. Moreover, 2HG is an oncometabolite and may function as a competitive inhibitor of  $\alpha$ -ketoglutarate dependent dioxygenases, such as histone demethylases [14]. *IDH1/2* mutations are marker of improved prognosis in glioblastoma [15], lower grade glioma [16] and also (together with 1p/19q codeletion) in anaplastic oligodendroglioma and oligoastrocytoma. *IDH1/2* mutations are associated with better response to temozolomide treatment [17]. Targeting of mutated *IDH1/2* enzymes may be a potential treatment strategy [18]. Each of these findings was reflected and incorporated into new World Health Organization (WHO) 2016 classification of central nervous system tumors [19]. In revised WHO classification, major glioma subtypes are defined by histologic features as well as molecular profiles. All diffusely infiltrating gliomas are grouped together because of sharing the genetic driver mutations in *IDH1/2* genes. The appearance of 1p/19q codeletion together with *IDH1/2* mu-

tations is now necessary for diagnosis of oligodendrogliomas. *ATRX* and *p53* mutations assessment helps in diagnosis of astrocytic tumors as well as *EGFR* amplification in glioblastomas. *MGMT* promoter methylation also remains an important prognostic marker for glioblastoma patients, treated by concomitant chemoradiotherapy [20]. Mainly, *IDH1/2* mutations are screened through immunohistochemistry while Sanger direct sequencing is the most common genotyping method [3,4,16,21,22]. More sensitive molecular genetics methods like pyrosequencing [23] and/or polymerase chain reaction (PCR) based methods [24–29] have also been tested to overcome limitation of Sanger sequencing that fails to detect mutations that are present in less than 20% of DNA molecules [30].

Here, we analyzed the most common *IDH1/2* mutations by using Competitive Amplification of Differentially Melting Amplicons (CADMA PCR). We also investigated the association of *IDH* mutations with *MGMT* promoter methylation and other cytogenetic and molecular genetic markers and clinical characteristics of glioma patients of Neurooncology Department of the University Hospital in Olomouc.

## Material and methods

### Tumor patient samples

A total of 145 solid tumor tissue samples were obtained from patients

Tab. 1. Therapy stratification of glioma patients.

| Glioma classification   | No. | Postoperative radiotherapy             |   |                      |                    |    | no therapy | no information about therapy |
|---|-----|--|---|----------------------|--------------------|----|------------|------------------------------|
|   |     | concomitant chemoradiotherapy with TMZ | concomitant chemoradiotherapy with TMZ and adjuvant TMZ | another chemotherapy | radiotherapy alone |    |            |                              |
| diffuse astrocytoma, IDH mutant                               | 9   | –                                      | 1   | 2                    | –                  | 3  | 3          | –                            |
| diffuse astrocytoma, IDH wild-type                            | 5   | –                                      | –   | 1                    | –                  | 2  | 2          | –                            |
| anaplastic astrocytoma, IDH mutant                            | 13  | 1                                      | 1   | 7                    | 2                  | 2  | 1          | –                            |
| anaplastic astrocytoma, IDH wild-type                         | 6   | 2                                      | 1   | –                    | –                  | –  | 2          | 1                            |
| oligodendroglioma, IDH mutant and 1p/19q-codeleted            | 2   | –                                      | –   | –                    | 1                  | 1  | –          | –                            |
| oligodendroglioma, NOS  | 1   | –                                      | 1   | –                    | –                  | –  | –          | –                            |
| anaplastic oligodendroglioma, IDH mutant and 1p/19q-codeleted | 4   | –                                      | 3   | 1                    | 1                  | –  | –          | –                            |
| oligoastrocytoma, NOS   | 2   | –                                      | –   | –                    | –                  | –  | 2          | –                            |
| anaplastic oligoastrocytoma, NOS                              | 4   | –                                      | 1   | 1                    | –                  | 1  | –          | 1                            |
| glioblastoma, IDH mutant                                      | 9   | 3                                      | 5   | 1                    | –                  | –  | –          | –                            |
| glioblastoma, IDH wild-type                                   | 90  | 12                                     | 20  | 10                   | 4                  | 25 | 19         | 4                            |

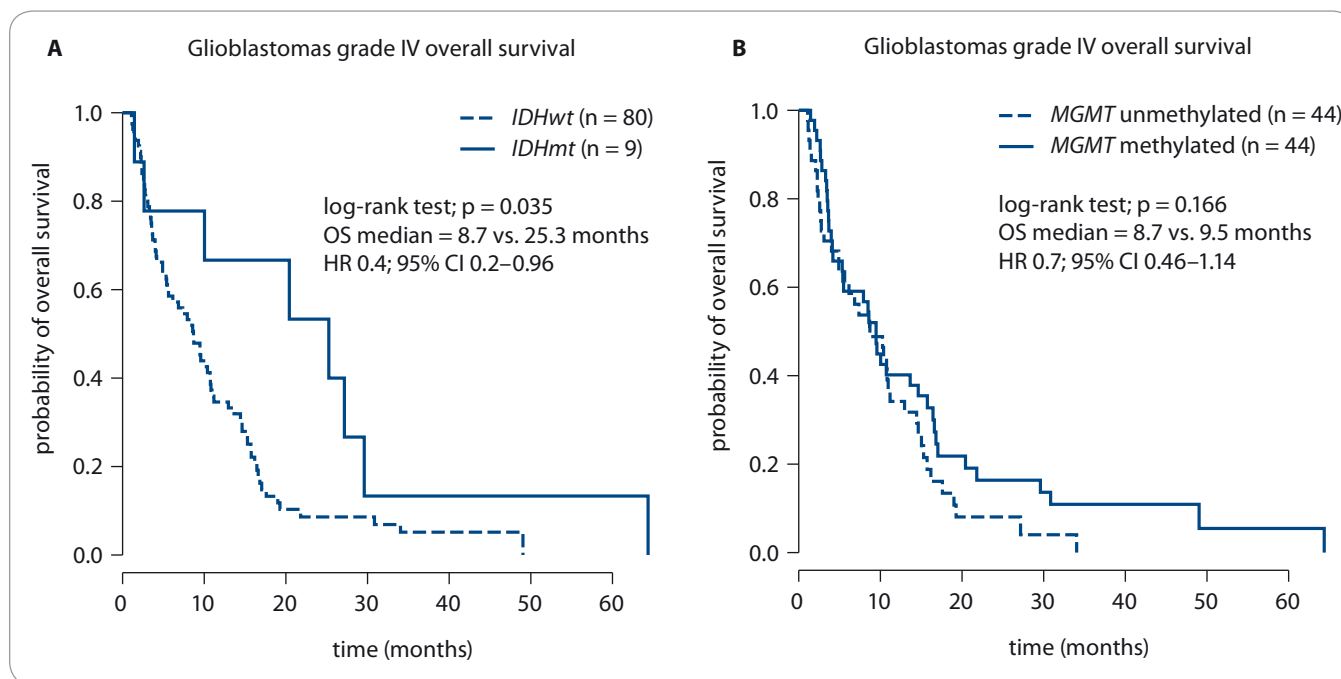
IDH – isocitrate dehydrogenase, TMZ – temozolomide, NOS – not otherwise specified

who had undergone radical resection of glial tumor in the Faculty Hospital in Olomouc between 2005 and 2013. The experimental research presented in this manuscript was performed in compliance with the Helsinki Declaration according to the study ethics proposal approved by the Ethics Board of Palacky University in Olomouc. Written informed consent was obtained from all patients regarding the use of the collected samples in the research projects, including studies for the publication of this report or any accompanied images. The group of gliomas comprised 14 diffuse astrocytoma grade 2, 17 anaplastic astrocytoma grade 3, 3 oligodendroglioma grade 2, 2 anaplastic oligodendroglioma grade 3, 2 oligoastrocytoma grade 2, 8 anaplastic oligoastrocytoma grade 3, 86 primary glioblastoma grade 4, and 13 secondary glioblastoma grade 4 tumors. All tumors were diagnosed and classified by two independent pathologists according to WHO classification criteria [31] for tumors of the central nervous system immediately after surgery. After

reclassification according to new WHO criteria [19] using known *IDH* and 1p/19q status in 2016, the group consisted of 9 IDH mutant diffused astrocytomas, 5 IDH wild-type diffused astrocytomas, 2 IDH mutant 1p/19q codeleted oligodendrogliomas, 1 not otherwise specified (NOS) oligodendroglioma, 2 NOS oligoastrocytomas, 13 IDH mutant anaplastic astrocytomas, 6 IDH wild-type anaplastic astrocytomas, 4 IDH mutant 1p/19q codeleted anaplastic oligodendrogliomas, 4 NOS anaplastic oligoastrocytomas, 9 IDH mutant glioblastomas, 90 IDH wild-type glioblastomas. Males constituted 62% of the patients (90/145). The median age was 57 years (range 21–85 years), with a standard deviation of 15 years. The time of operation and time of last follow-up or death were recorded as clinical endpoints.

Radiotherapy, concomitant chemoradiotherapy, adjuvant therapy with temozolomide (TMZ) or another chemotherapy were used as oncologic therapy (Tab. 1). Other chemotherapy details are described as follows – in the

group of IDH mutant 1p/19q codeleted oligodendrogliomas, one received postoperative radiotherapy (60 Gy, 2 Gy per fraction) and six cycles of PCV chemotherapy (procarbazine, CCNU – lomustine, vincristine). In the group of IDH mutant anaplastic astrocytomas, one received postoperative radiotherapy, six cycles of adjuvant TMZ and other chemotherapy with etoposide, carboplatin and nitrosourea and one received postoperative radiotherapy and adjuvant chemotherapy with nitrosourea. In the group of IDH mutant, 1p/19q codeleted anaplastic oligodendrogliomas, one received postoperative radiotherapy, six cycles of adjuvant TMZ and another chemotherapy with etoposide and carboplatin. In the group of IDH mutant glioblastomas, two received postoperative radiotherapy, adjuvant TMZ and adjuvant chemotherapy with erlotinib or nitrosourea. In the group of four IDH wild-type glioblastomas who received concomitant chemoradiotherapy, two had another chemotherapy with nitrosourea, one with bevacizumab and one with carboplatin, etoposide and procarbazine.



**Graph 1. OS of glioblastoma patients.**

The OS of patients with glioblastoma depending on *IDH1* mutation status (A) and *MGMT* methylation status (B).

Glial tissue sample in transporting medium (RPMI 1640 medium with L-glutamine, Penicillin/Streptomycin (100 U/mL), 15% fetal bovine serum, insulin (100 IU/mL), transferrin (2 mg/mL), and heparin (25,000 IU/mL)) was transported at room temperature to the laboratory within an hour after surgery. Subsequently, the sample was at once cut into smaller pieces using a scalpel, and the pieces were frozen without any medium at  $-80^{\circ}\text{C}$  until genomic DNA extraction.

The remaining glioma tissue sample was fixed in 10% neutral buffered formalin immediately after surgery and transported to the Department of Clinical and Molecular Pathology, University Hospital in Olomouc, for paraffin embedding. Formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) sections of 4–6  $\mu\text{m}$  in thickness were immobilized on positively charged glass slides and transported to Institute of Molecular and Translational Medicine for fluorescent *in situ* hybridization analysis. The number of FFPE tissue blocks preserved from 2005 to 2016 was inadequate for retrospective analysis.

#### Fluorescence *in situ* hybridization

Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) analysis was performed to detect the

copy numbers of *EGFR*, *p53*, *RB1*, *MDM2*, and *CDKN2A* genes and deletions of 1p36.3, 19q.13, and 10p chromosomal regions by using fluorescent probes (IntellMed, Olomouc, Czech Republic) in the corresponding FFPE glioma tissue samples as previously described [32]. The *EGFR* gene was determined to be amplified if the *EGFR*/ $\alpha$  satellite sequence at the centromere of chromosome 7 (CEP7) ratio was  $> 2$ . Other markers were determined as “gain” or “loss” when the copy number average was  $> 2.3$  or  $< 1.9$ , resp., or when the gain or loss of the marker was observed in more than 20% of the tumor cells. Because of inconsistent thresholds in the literature [33,34], we previously validated the cut-off ratios for FISH analysis in a group of more than 400 gliomas retrospectively examined in cooperation with the neurooncology department. All FISH analyses were done immediately after acquiring FFPE samples.

#### DNA extraction

Genomic DNA extraction was performed using a cobas DNA Sample Preparation Kit (Roche Diagnostics Corporation, Basel, Switzerland) according to the

manufacturer’s instructions. The concentrations of the DNA samples were spectrophotometrically measured using a NanoDrop ND 1000 Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, USA) and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Archived DNA samples were used for this retrospective study.

#### Detection of *IDH1/2* mutations by CADMA PCR

CADMA detection combines allele-specific PCR with intended mismatch and competition for templates between primers [35]. *IDH1* R132H, R132C, and *IDH2* R172K primers, which cover 87% of all possible *IDH* mutations in gliomas, were selectively designed for each mutation to distinguish the mutated and wild-type alleles after high resolution melting (HRM) analysis. The 10  $\mu\text{l}$  PCR reaction mixture contained 1 $\times$  HotStart Taq Plus Master Mix (Qiagen, Hilden, Germany), 1 $\times$  EVAgreen (Biotinum, Hayward, CA, USA), mutation-specific primers (0.4 nmol), overlapping wild-type primers (0.1 nmol), wild-type primers (0.4 nmol) (Generi-Biotech, Hradec Kralove, Czech Republic) and 4 ng of extracted genomic DNA. PCR protocol included an initial cycle at  $95^{\circ}\text{C}$  for



**Tab. 2. IDH1 R132H, R132C and IDH2 R172K in glioma samples.**

| Glioma subtypes   | Number of patients | IDH1 R132H wild-type | IDH1 R132H mutated | Median IDH1 R132H allele percentage (%) | IDH1 R132C mutated | IDH2 R172K mutated |
|---|--------------------|----------------------|--------------------|---|--------------------|--------------------|
| diffuse astrocytoma, IDH mutant                               | 9                  | 0/9                  | 8/9                | 36                                      | 1/9                | 0/9                |
| diffuse astrocytoma, IDH wild-type                            | 5                  | 5/5                  | 0/5                | –                                       | 0/5                | 0/5                |
| anaplastic astrocytoma, IDH mutant                            | 13                 | 0/13                 | 13/13              | 33                                      | 0/13               | 0/13               |
| anaplastic astrocytoma, IDH wild-type                         | 6                  | 6/6                  | 0/6                | –                                       | 0/6                | 0/6                |
| oligodendroglioma, IDH mutant and 1p/19q-codeleted            | 2                  | 0/2                  | 2/2                | 33                                      | 0/2                | 0/2                |
| oligodendroglioma, NOS  | 1                  | 1/1                  | 0/1                | –                                       | 0/1                | 0/1                |
| anaplastic oligodendroglioma, IDH mutant and 1p/19q-codeleted | 4                  | 0/4                  | 4/4                | 26                                      | 0/4                | 0/4                |
| oligoastrocytoma, NOS   | 2                  | 2/2                  | 0/2                | –                                       | 0/2                | 0/2                |
| anaplastic oligoastrocytoma, NOS                              | 4                  | 4/4                  | 0/4                | –                                       | 0/4                | 0/4                |
| glioblastoma, IDH -mutant                                     | 9                  | 0/9                  | 9/9                | 39                                      | 0/9                | 0/9                |
| glioblastoma, IDH wild-type                                   | 90                 | 90/90                | 0/90               | –                                       | 0/87               | 0/90               |

IDH1 – isocitrate dehydrogenase 1, IDH2 – isocitrate dehydrogenase 2, NOS – not otherwise specified

15 min, 35 cycles at 95 °C for 10 sec, 60 °C for 20 sec, and 72 °C, followed by 95 °C for 10 sec, 60 °C for 45 sec, and a melting step with an increase to 95 °C at a rate of 0.06 °C/sec. PCR and HRM were performed on a LightCycler 480 System (Roche Diagnostics Corporation, Basel, Switzerland). IDH1 R132H, IDH1 wild-type, IDH2 R172K and IDH2 wild-type reference standards were purchased from Horizon Diagnostics (Horizon Diagnostics, Cambridge, UK), and the IDH1 R132C DNA sample was a gift from the CGB laboratory (CGB laboratory, AGEL company, the Czech Republic). All CADMA PCR analyses were retrospectively performed in 2016 from archived DNA samples.

#### Real-time MGMT methylation detection by using MethyLight PCR

Real-time methylation specific PCR [36] was performed after the bisulphite conversion of the template DNA according to EZ DNA methylation Gold kit instructions (Zymo Research, Irvine, USA) immediately after DNA extraction from glioma tissue samples. Concurrent detection of the methylation of

E-cadherin and Alu-M5 were used as controls for DNA integrity. Commercial methylated and bisulphite-converted DNA (Zymo research, Irvine, CA, USA) was used as controls for bisulfide conversion and the PCR reaction. The 10µL PCR reaction mixture for MGMT promoter methylation detection contained 1× PCR buffer, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, 0.5 U ThermoTaq, forward primer – CGAATATACTAAAACAACCCGCG (20 µM), reverse primer – GTATTTTTT CGGGAGCGAGGC (20 µM), and probe – FAM-BHQ-CAAATCCTCGCGATACGCACC GTTTACG (4 µM). The 10µL PCR reaction mixture for E-cadherin promoter methylation detection contained 1× PCR buffer, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, 0.5 U Thermo Taq, forward primer – AATTTTAGGTTAGAGGGTTATCGCGT (20 µM), reverse primer – TCCCCAAAACG AAATAACGAC (20 µM), and probe – FAM-BHQ-CGCCACCCGACCTCGCAT (4 µM). The 10µL PCR reaction mixture for Alu-M5 promoter methylation detection contained 1× PCR buffer, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, 0.5 U ThermoTaq, forward primer – GGTATGATGGCGTATGTTTGT (0.3 µM), reverse primer – GACTACCA CAACTCCAC (0.3 µM), and probe –

FAM-BHQ-AAACGATTCTCCTACCTCAA CCTCCCGAA (60 nM). The PCR protocol included an initial cycle at 95 °C for 15 min, followed by touchdown PCR for 10 cycles at 95 °C for 15 sec, 65 °C for 50 sec (–1 °C each cycle), and 72 °C for 20 sec, and with 30 PCR cycles at 95 °C for 15 sec, 56 °C for 50 sec, and 72 °C for 20 sec [37–39].

#### Statistics

Chi-square tests, Fisher tests and logistic regression analyses were used to examine associations among categorical variables referring to the absence or presence of genetic aberrations. The log-rank test was implemented in R statistical software to examine the relationship of categorical variables related to the absence or presence of genetic aberrations with overall survival (OS) within distinct tumor groups. OS, defined as the time between surgery and the last check-up or death, was calculated only for patients surviving at least 30 days after surgery.

#### Results

A total of 145 glioma tissue samples were analyzed for the presence of

Tab. 3. Molecular genetic characteristics of gliomas.

| Glioma subtype  | No. of gliomas | Molecular genetic aberrations      |                         |                           |                    |               |                 |                 |              |              |                |                  |
|---|----------------|------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------|---------------|-----------------|-----------------|--------------|--------------|----------------|------------------|
|   |                | <i>IDH1</i> R132H, R132C mutations | <i>MGMT</i> methylation | <i>EGFR</i> amplification | <i>CDKN2A</i> loss | 1p36.3 loss   | <i>RB1</i> loss | <i>p53</i> loss | 10p loss     | 19q13 loss   | 1p/19q co-loss | <i>MDM2</i> gain |
| diffuse astrocytoma, IDH mutant                               | 9              | 9/9 (100%)                         | 6/9 (66.7%)             | 0/7 (0%)                  | 0/7 (0%)           | 0/7 (0%)      | 2/7 (28.6%)     | 1/7 (14%)       | 0/7 (0%)     | 0/7 (0%)     | 0/7 (0%)       | 0/6 (0%)         |
| diffuse astrocytoma, IDH wild-type                            | 5              | 0/5 (0%)                           | 2/5 (40%)               | 0/4 (0%)                  | 0/4 (0%)           | 1/4 (25%)     | 0/4 (0%)        | 1/4 (25%)       | 0/4 (0%)     | 0/4 (0%)     | 0/4 (0%)       | 1/4 (25%)        |
| anaplastic astrocytoma, IDH mutant                            | 13             | 13/13 (100%)                       | 8/13 (62%)              | 0/11 (0%)                 | 2/11 (18%)         | 1/11 (9%)     | 0/11 (0%)       | 2/11 (18%)      | 1/11 (9%)    | 1/11 (9%)    | 0/11 (0%)      | 5/10 (50%)       |
| anaplastic astrocytoma, IDH wild-type                         | 6              | 0/6 (0%)                           | 3/6 (50%)               | 2/4 (50%)                 | 0/4 (0%)           | 0/4 (0%)      | 1/4 (25%)       | 0/4 (0%)        | 0/4 (0%)     | 0/4 (0%)     | 0/4 (0%)       | 0/4 (0%)         |
| oligodendroglioma, IDH mutant and 1p/19q-codeleted            | 2              | 2/2 (100%)                         | 1/2 (50%)               | 0/2 (0%)                  | 0/2 (0%)           | 2/2 (100%)    | 1/2 (50%)       | 0/2 (0%)        | 0/2 (0%)     | 2/2 (100%)   | 2/2 (100%)     | 0/2 (0%)         |
| oligodendroglioma, NOS  | 1              | 0/1 (0%)                           | 1/1 (100%)              | 0/1 (0%)                  | 0/1 (0%)           | 0/1 (0%)      | 0/1 (0%)        | 0/1 (0%)        | 0/1 (0%)     | 0/1 (0%)     | 0/1 (0%)       | 0/1 (0%)         |
| anaplastic oligodendroglioma, IDH mutant and 1p/19q-codeleted | 4              | 4/4 (100%)                         | 4/4 (100%)              | 0/4 (0%)                  | 2/4 (50%)          | 4/4 (100%)    | 0/4 (0%)        | 0/4 (0%)        | 0/4 (0%)     | 4/4 (100%)   | 4/4 (100%)     | 0/4 (0%)         |
| oligoastrocytoma, NOS   | 2              | 0/2 (0%)                           | 0/1 (0%)                | 0/2 (0%)                  | 1/2 (50%)          | 0/2 (0%)      | 0/2 (0%)        | 0/2 (0%)        | 0/2 (0%)     | 0/2 (0%)     | 0/2 (0%)       | 0/2 (0%)         |
| anaplastic oligoastrocytoma, NOS                              | 4              | 0/4 (0%)                           | 0/4 (0%)                | 0/2 (0%)                  | 1/2 (50%)          | 0/2 (0%)      | 1/2 (50%)       | 0/2 (0%)        | 0/2 (0%)     | 0/2 (0%)     | 0/2 (0%)       | 0/2 (0%)         |
| glioblastoma, IDH mutant                                      | 9              | 9/9 (100%)                         | 7/8 (88%)               | 2/9 (22%)                 | 4/9 (44%)          | 4/9 (44.4%)   | 5/9 (55%)       | 1/9 (11%)       | 0/9 (0%)     | 2/9 (22%)    | 2/9 (22%)      | 2/9 (22%)        |
| glioblastoma, IDH wild-type                                   | 90             | 0/90 (0%)                          | 43/90 (48%)             | 28/73 (38%)               | 27/73 (37%)        | 23/75 (30.7%) | 19/73 (26%)     | 13/75 (17%)     | 22/69 (32%)  | 11/74 (15%)  | 3/73 (4%)      | 21/73 (29%)      |
| total   | 145            | 37/145 (26%)                       | 75/143 (52%)            | 32/119 (27%)              | 37/119 (31%)       | 35/121 (29%)  | 29/119 (24%)    | 18/121 (15%)    | 23/115 (20%) | 20/120 (17%) | 11/119 (9%)    | 29/117 (25%)     |

*IDH1* – isocitrate dehydrogenase 1, *MGMT* – O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, *EGFR* – epidermal growth factor receptor, *CDKN2A* – cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, *MDM2* – mouse double minute 2 homolog, NOS – not otherwise specified

*IDH1* R132H, R132C, and *IDH2* R172K by using a new, rapid PCR method based on the CADMA principle. This method was performed within 2 hours, including the results analysis. In total, 36 *IDH1* R132H mutations, 1 *IDH1* R132C mutation, and 0 *IDH2* R172K mutations were detected. The *IDH1* gene was mutated (R132H or R132C mutation) in 9 diffuse astrocytomas, 13 anaplastic astrocytomas, 2 oligodendrogliomas, 4 anaplastic oligodendrogliomas and 9 glioblastomas. A single *IDH1* R132C mutation was detected in diffuse

astrocytoma. The *IDH2* R172K mutation was not detected in our glioma samples. The percentage of alleles with the *IDH1* R132H mutation was observed for each mutated sample, and the medians of the mutant allele percentage for each glioma subtype are shown in Tab. 2.

In the group of gliomas, *MGMT* methylation was detected in 52% (75/143) of the samples, whereas *EGFR* amplification was detected in 27% (32/119) of the samples, *CDKN2A* loss in 31% (37/119) of the samples, 1p36.3 loss in 29% (35/121) of the samples, *RB1* loss

in 24% (29/119) of the samples, *p53* loss in 15% (18/121) of the samples, 10p loss in 20% (23/115) of the samples, 19q13 loss in 17% (20/120) of the samples, 1p/19q co-loss in 9% (11/119) of the samples, and *MDM2* gain in 25% (29/117) of the samples (Tab. 3).

*IDH1* mutations were associated with *MGMT* methylation ( $p = 0.011$ ) and 1p/19q co-loss ( $p = 0.009$ ) and negatively associated with *EGFR* amplification ( $p = 0.003$ ) and 10p loss ( $p = 0.009$ ) (Tab. 4).

Among the group of glioblastomas with OS more than 30 days (89 patients),

**Tab. 4. Association between IDH1 mutations and other molecular genetic aberrations.**

| Aberrations               | Frequency of <i>IDH1</i> mutated gliomas with aberration | Frequency of <i>IDH1</i> wild-type gliomas with aberration | Test of independence (Pearson's $\chi^2$ or Fisher's exact*, p) | Logistic regression, OR/95% CI/p |
|---------------------------|--|--|---|----------------------------------|
| <i>MGMT</i> methylation   | 72% (26/36)  | 46% (49/107)   | <b>0.011</b>  | 3.08/1.387, 7.282/ <b>0.007</b>  |
| <i>EGFR</i> amplification | 6% (2/33)  | 35% (30/86)  | <b>0.003</b>  | 0.12/0.019, 0.437/ <b>0.006</b>  |
| <i>CDKN2A</i> loss        | 24% (8/33)   | 34% (29/86)  | 0.436   | 0.63/0.24, 1.521/0.32            |
| 1p36.3 loss               | 33% (11/33)  | 27% (24/88)  | 0.667   | 1.33/0.55, 3.128/0.513           |
| <i>RB1</i> loss           | 24% (8/33)   | 24% (21/86)  | 1   | 0.99/0.372, 2.463/0.984          |
| <i>p53</i> loss           | 12% (4/33)   | 16% (14/88)  | 0.777   | 0.73/0.194, 2.231/0.603          |
| 10p loss                  | 3% (1/33)  | 27% (22/82)  | <b>0.009</b>  | 0.09/0.005, 0.436/ <b>0.019</b>  |
| 19q13 loss                | 27% (9/33)   | 13% (11/87)  | 0.1   | 2.59/0.943, 7.023/0.06           |
| 1p/19q co-loss            | 24% (8/33)   | 4% (3/86)  | <b>0.001*</b>   | 8.85/2.367, 42.786/ <b>0.002</b> |
| <i>MDM2</i> gain          | 23% (7/31)   | 26% (22/86)  | 0,929   | 0.85/0.303, 2.168/0.74           |

*IDH1* – isocitrate dehydrogenase 1, *MGMT* – O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, *EGFR* – epidermal growth factor receptor, *CDKN2A* – cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, *MDM2* – mouse double minute 2 homolog

an association between the OS and their *IDH1* mutational status was observed. Glioblastoma patients with *IDH1* mutations survived 25 months, while those without *IDH1* mutations only survived 9 months (HR 0.4; 95% CI 0.2–0.96;  $p = 0.035$ ). In contrast, the *MGMT* methylation status showed no significant association with the OS in this group of glioblastoma patients (HR 0.7; 95% CI 0.46–1.14;  $p = 0.166$ ) (Graph 1). The characteristics of the patients in the glioblastoma group with respect to the *IDH1* mutation status and *MGMT* methylation status are shown in Tab. 5.

## Discussion

In this single-center study, we investigated the association of *IDH* mutations with molecular-genetic and clinical characteristics in a group of the Czech glioma patients. We used a CADMA PCR to examine *IDH1* (R132H and R132C) and *IDH2* (R172K) mutations in 145 glioma samples. We investigated whether *IDH* testing by CADMA is feasible from both the clinical and laboratory points of view.

One-step CADMA PCR as a 2-hour process including analysis, with sensitivity of 2.5% was more rapid and more sensitive than Sanger sequencing, which is a process lasting at least 5 hours with

detection limit about 20% of mutant DNA on the wild-type background [40]. Immunohistochemistry, the most frequently used screening method, requires at least 2 days for analysis and in general practice provides results only for one *IDH1* mutation.

Based on these findings, CADMA PCR can be successfully used for the simple and rapid detection of *IDH* mutations in clinical practice, in which the methodology of *IDH* detection is not standardized.

We detected 36 (97%) *IDH1* R132H mutations and 1 (2.7%) *IDH1* R132C mutation from the whole spectrum of detected mutations, concordantly with results from previously studies showing 88–100% and 2.6–7% mutations, resp. [7].

Despite expectations based on previously published data [28,41], we did not detect any *IDH2* R172K mutations in the patient group. This finding is consistent with that obtained by the NOA-04 group trial [42], which included randomized WHO grade 3 anaplastic glioma patients. However, *IDH* mutations are considered primary in growing gliomas, thus suggesting that the differences between the glioma diagnoses in the present and NOA-04 group studies are irrelevant. We did not find any *IDH1/2* mutations in

a group of three pilocytic astrocytomas and eight ependymomas (data not shown), which were eliminated from analysis for their paediatric and not infiltrating glioma origin.

*MGMT* methylation was observed in 52% (75/143) of all patients. The frequency of *MGMT* methylation in individual groups of gliomas corresponded to previously published results [43]. We observed that 72% (26/36) of the *IDH1* mutated patients also harbored *MGMT* methylation in comparison with 46% (49/107) of *MGMT* methylation in *IDH1* wild-type patients. Consequently, among the group of glioma samples examined in the present study, *IDH1* mutations were strongly positively associated with the presence of *MGMT* promoter methylation (OR 3.08, 95% CI 1.387–7.282;  $p = 0.007$ ). In clinical studies, the association and frequency of *MGMT* methylation in *IDH* mutated patients appears to depend on the method of *MGMT* testing. In previous studies using the same methods as proposed in the present study, methylation-specific PCR and glioma patients with grade 2–4 have shown similar results [40]. In contrast, in studies using pyrosequencing in a group of grade 2–4 gliomas, nearly all *IDH* mutated patients have also been found to be *MGMT* methylated [9]. This

**Tab. 5. Characteristics of glioblastoma patients with respect to *IDH1* mutation and *MGMT* methylation status.**

| Characteristics  |  | <i>IDH1</i> mutation status |             | <i>MGMT</i> methylation status |              |
|--|--|-----------------------------|-------------|--------------------------------|--------------|
|  |  | mutated                     | wild-type   | methylated                     | unmethylated |
| number   |  | 9                           | 90          | 50                             | 48           |
| age at diagnosis   | median   | 39                          | 62          | 61                             | 59           |
|  | range  | (26–48)                     | (24–85)     | (32–85)                        | (24–81)      |
| gender   | male   | 6 (67%)                     | 56 (62%)    | 32 (64%)                       | 30 (62.5%)   |
|  | female   | 3 (33%)                     | 34 (38%)    | 18 (36%)                       | 18 (37.5%)   |
| survival   | median OS (months)                               | 20                          | 6.5         | 8                              | 7            |
|  | range of OS (months)                             | 1–64                        | 0.1–49      | 0.4–64                         | 0.1–34       |
| number of patients who live at least 30 days after surgery |  | 9                           | 80          | 44                             | 44           |
| therapy  | radiotherapy alone                               | 0/9 (0%)                    | 24/80 (30%) | 12/44 (27%)                    | 12/45 (27%)  |
|  | concomitant radio-chemotherapy with temozolomide | 8/9 (89%)                   | 32/80 (40%) | 19/44 (43%)                    | 20/45 (44%)  |
|  | adjuvant chemotherapy with temozolomide          | 6/9 (67%)                   | 30/80 (38%) | 12/44 (27%)                    | 25/45 (56%)  |
|  | another type of chemotherapy                     | 2/9 (22%)                   | 4/80 (5%)   | 2/44 (5%)                      | 5/45 (11%)   |
|  | no therapy                                       | 0/9 (0%)                    | 14/80 (18%) | 8/44 (18%)                     | 8/45 (18%)   |
| <i>IDH1</i> mutation                                       |  | –                           | –           | 7/44 (16%)                     | 1/44 (2%)    |
| <i>MGMT</i> methylation                                    |  | 7/8 (86%)                   | 37/80 (46%) | –                              | –            |
| <i>EGFR</i> amplification                                  |  | 2/9 (22%)                   | 26/67 (39%) | 14/40 (35%)                    | 14/35 (40%)  |
| <i>CDKN2A</i> loss   |  | 4/9 (44%)                   | 24/67 (36%) | 18/40 (45%)                    | 10/35 (29%)  |
| 1p36.3 loss  |  | 4/9 (44%)                   | 21/69 (30%) | 16/41 (39%)                    | 9/36 (25%)   |
| <i>RB1</i> loss  |  | 5/9 (56%)                   | 18/67 (27%) | 17/40 (43%)                    | 5/35 (14%)   |
| <i>p53</i> loss  |  | 1/9 (11%)                   | 13/69 (18%) | 6/41 (15%)                     | 8/36 (22%)   |
| 10p loss   |  | 0/9 (0%)                    | 20/63 (32%) | 14/38 (37%)                    | 6/33 (18%)   |
| 19q13 loss   |  | 2/9 (22%)                   | 11/68 (16%) | 7/40 (18%)                     | 6/36 (16%)   |
| 1p/19q co-loss   |  | 2/9 (22%)                   | 3/67 (5%)   | 3/40 (8%)                      | 2/35 (6%)    |
| <i>MDM2</i> gain   |  | 2/9 (22%)                   | 21/67 (31%) | 14/41 (34%)                    | 9/34 (27%)   |

*IDH1* – isocitrate dehydrogenase 1, *MGMT* – O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, *EGFR* – epidermal growth factor receptor, *CDKN2A* – cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, *MDM2* – mouse double minute 2 homolog, OS – overall survival

may reflect higher sensitivity of *MGMT* methylation testing by pyrosequencing.

*EGFR* amplification was observed in 27% (32/119) of all glioma patients. *EGFR* is considered to be the most frequently amplified gene in primary glioblastomas and the *EGFR* amplification was found in 38% (28/73) of the *IDH* wild-type

glioblastomas in our group, a result that correlated well with the literature findings for primary glioblastomas [45]. Among of the patients examined in the present study, *EGFR* amplification occurred in 6% (2/33) of *IDH1* mutated gliomas in contrast to the 35% (30/86) of patients with *IDH* wild-type gliomas.

Consequently, *IDH1* mutations were significantly negatively correlated with *EGFR* amplification (OR 0.12; 95% CI 0.019–0.437;  $p = 0.006$ ), as described also in a meta-analysis [46].

*CDKN2A* loss was observed in 31% (37/119) of all glioma patients, which is in correlation with previously published

37% [47]; 24% (8/33) of the *IDH1* mutated gliomas also harbored *CDKN2A* loss, but there was no significant correlation between these biomarkers.

In the present study, we assessed the status of the chromosomal regions 1p36.3 and 19q13 and co-loss of both regions together, as described in previous studies [48]. 1p36.3 loss was observed in 29% (35/121) and 19q13 loss was observed in 17% (20/120) of patients. Losses in 1p and 19q regions were predominantly observed in oligodendroglial tumors [49,50], and there were only 15 patients with oligodendroglioma and oligoastrocytoma grade 2 and 3 in our group, which may have resulted in the lower observed frequency of the losses of 1p or 19q than reported in the literature [51]. 1p/19q co-loss was observed in 9% (11/119) of all gliomas and was closely positively associated with *IDH1* mutations (OR 8.85, 95% CI 2.367–42.786;  $p = 0.002$ ), similarly to the results from published studies [4,10].

*RB1* loss was observed in 24% (29/119) of all gliomas, a value slightly higher than the previously published 2–12% loss [52,53]. Approximately 24% (8/33) of all gliomas harbored both an *IDH1* mutation and *RB1* loss, but there was no significant association between these aberrations.

*P53* loss was observed in 15% (18/121) of all gliomas. The allelic loss of chromosome 17p was observed in approximately one-third of grade 2–4 adult astrocytomas [1] and in mutations of *p53* gene with the same frequency [4]. *P53* mutations were positively associated with *IDH1* mutations in astrocytomas [54], but in the present study, this correlation was not confirmed.

The loss of chromosomal region 10p was observed in 20% (23/115) of all gliomas. Chromosomal region 10p11.1 is located near the centromere of chromosome 10 and was used as a marker of the loss of the entire chromosome 10. The loss of chromosome 10 is primarily observed in high-grade glial tumors. In the present study, frequency of chromosome 10 loss in the *IDH* wild-type glioblastoma was 32% (22/69), which was less than the 60% frequency reported in other studies [55].

However, there was a strong correlation between chromosome 10 loss and *IDH1* mutations. Only 3% (1/33) of the *IDH1* mutated gliomas also harbored chromosome 10 loss, whereas 27% (22/82) of the *IDH1* wild-type gliomas occurred together with chromosome 10 loss (OR 0.09; 95% CI 0.005–0.436;  $p = 0.019$ ). Sanson et al. suggested the same association between *IDH1* mutations and chromosome 10 loss [44].

*MDM2* gain was observed in 25% (29/117) of all gliomas and in 29% (21/73) of glioblastomas, *IDH* wild-type, in which the *MDM2* gain was predominantly observed. The presence of *MDM2* high amplification 8% (6/73) in *IDH* wild-type glioblastomas correlate with 6% in study of Houillier et al. [56]. There was no correlation observed between *IDH1* mutations and the *MDM2* gain in the gliomas examined in the present study.

We found a statistically significant correlation between the OS of glioma patients and the *IDH1* mutational status in a group of glioblastomas with OS more than 30 days – *IDH1* mutated glioblastoma patients had almost 3 times longer OS than did *IDH1* wild-type patients (HR 0.4; CI 0.2–0.96;  $p = 0.035$ ) whereas the prognostic relevance of the *MGMT* promoter methylation was not confirmed (HR 0.7; CI 0.46–1.14;  $p = 0.166$ ). Polivka et al. showed the same results for the association of *IDH* mutations with patient outcome in another non-overlapping group of Czech glioblastoma patients [57]. Survival analysis of the selected glioblastomas with all radiotherapy and chemotherapy combinations (75 glioblastomas) showed the same trend that *IDH1* mutations are better prognostic marker than *MGMT* methylation (*IDH1* – HR 0.5; CI 0.21–1.06;  $p = 0.069$ , *MGMT* – HR 0.7; CI 0.43–1.18;  $p = 0.193$ ) as well as in the group with concomitant chemo-radiotherapy (so-called Stupp regimen) (*IDH1* – HR 0.6; CI 0.25–1.3;  $p = 0.183$ , *MGMT* – HR 0.8; CI 0.43–1.47;  $p = 0.457$ ). However, in the multivariate cox regression analysis with age, *IDH1* mutation and *MGMT* methylation as variables, only age was significant. This may be due to the small number of glioblastoma patients.

There was no other relevant prognostic association between the screened glioma biomarkers. Neither of these markers showed significant correlations with the *IDH* mutation status (1p/19q co-loss, *EGFR* amplification and chromosome 10 loss).

*MGMT* promoter methylation is considered to be a favorable prognostic factor for survival that is independent of the therapy regime and is also considered to be a predictive factor for alkylating agent chemotherapy in patients with the wild-type *IDH1* [42,58]. This suggests that *MGMT* belongs to the glioma CpG island methylator phenotype (G-CIMP) characterized by promoter DNA methylation alteration) gene set [59] and that there is a tight correlation between the G-CIMP phenotype and absence of *IDH1* mutation [60]. On the basis of the G-CIMP study, Wiestler et al. have suggested that *IDH1/2* and 1p/19q status is the most relevant for the determination of anaplastic glioma prognosis [61], whereas 1p/19q co-deletion is an indispensable prognostic and predictive marker for oligodendroglial and oligoastrocytic tumors [62]. In addition, Wick et al. found *IDH1/2* mutation a convenient proxy for *MGMT* promoter methylation obviating need for *MGMT* methylation status testing in *IDH* mutated gliomas [42,63]. However, a study of 98 primary glioblastomas disagreed and confirmed using 2-log likelihood tests better survival predictions based on both genes than those based on either *IDH1* mutations or *MGMT* methylation alone [64].

We agree with conclusions of Wick et al. also from laboratory point of view. Methylation-specific PCR after bisulphite conversion is the most frequently used method for the analysis of *MGMT* methylation [63]. If we consider the known complications of bisulphite reaction, i.e. chemical degradation and incomplete bisulphite conversion leading to compromised analytical parameters [60], particularly in degraded DNA from rare patient samples, it is reasonable to examine *IDH* mutation instead of *MGMT* promoter methylation in glioma patients. The limitations of our study reflect the design of retro-

spectively selected patients from only a single institution. The 145 patients were stratified by histopathological criteria into 11 groups with an unequal representation of patients. Only the most numerous group of glioblastomas was sufficient for follow-up clinical data analysis.

## Conclusions

In conclusion, we retrospectively analyzed 145 glioma tissues for the presence of *IDH1/2* mutations and compared the results with other molecular genetics markers, cytogenetic markers, and clinical characteristics. We confirm positive prognostic effect of *IDH1* mutations in contrast with *MGMT* methylation in a group of 89 glioblastomas. The results suggested that *IDH1/2* mutation analysis is a favorable procedure in genetic examination of glioblastoma samples in comparison to *MGMT* methylation analysis with respect to OS prognosis.

Moreover, we confirmed the known positive association of *MGMT* and 1p/19q codeletion and negative association of *EGFR* and chromosome 10 deletion with presence of *IDH1* mutations in our glioma dataset. Although the prognostic or predictive role of *CDKN2A*, *P53*, *RB1*, and *MDM2* is not clearly established in our set, these cytogenetic markers may advance diagnosis and classification of gliomas and may be appreciated with increasing knowledge in neuro-oncology.

This work was financially supported by grants from the Ministry of Health (NT 13581), Technology Agency (TE02000058) and the Ministry of Education, Youth and Sports (LM2015089) of the Czech Republic. The infrastructural part of this project (Institute of Molecular and Translational Medicine) was supported by a grant from the National Program of Sustainability (NPU LO1304).

Tato práce byla podpořena Ministerstvem zdravotnictví (NT 13581), Technologickou agenturou (TE02000058), Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (LM2015089) České republiky. Infrastruktura projektu byla podpořena grantem Národního programu udržitelnosti (NPU LO1304).

## Acknowledgements

The authors would like to thank the CGB laboratory for the providing of *IDH1* R132C standard DNA and the Nature Publishing Group language editing for English editing services.

## References

- Furnari FB, Huang HJ, Cavenee WK. Genetics and malignant progression of human brain tumours. *Cancer Surv* 1995; 25: 233–275.
- Ohgaki H, Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol* 2005; 109(1): 93–108. doi: 10.1007/s00401-005-0991-y.
- Parsons D, Jones S, Zhang X et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008; 321(5897): 1807–1812. doi: 10.1126/science.1164382.
- Yan H, Parsons DW, Jin G et al. *IDH1* and *IDH2* mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009; 360(1533–4406): 765–773. doi: 10.1056/NEJMoa0808710.
- Horbinski C. What do we know about *IDH1/2* mutations so far, and how do we use it? *Acta Neuropathol* 2013; 125(5): 621–636. doi: 10.1007/s00401-013-1106-9.
- Hartmann C, Meyer J, Balss J et al. Type and frequency of *IDH1* and *IDH2* mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 2009; 118(4): 469–474. doi: 10.1007/s00401-009-0561-9.
- Megova M, Drabek J, Koudelakova V et al. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in gliomas. *J Neurosci Res* 2014; 92(12): 1611–1620. doi: 10.1002/jnr.23456.
- Bettgeowda C, Agrawal N, Jiao Y et al. Mutations in *CIC* and *FUBP1* contribute to human oligodendroglioma. *Science* 2011; 333(1095–9203): 1453–1455. doi: 10.1126/science.1210557.
- Mulholland S, Pearson D, Hamoudi R et al. *MGMT* CpG island is invariably methylated in adult astrocytic and oligodendroglial tumors with *IDH1* or *IDH2* mutations. *Int J Cancer* 2012; 131(5): 1104–1113. doi: 10.1002/ijc.26499.
- Ichimura K, Pearson D, Kocalkowski S et al. *IDH1* mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol* 2009; 11(4): 341–347. doi: 10.1215/15228517-2009-025.
- Duncan C, Barwick B, Jin G et al. A heterozygous *IDH1*R132H/WT mutation induces genome-wide alterations in DNA methylation. *Genome Res* 2012; 22(12): 2339–2355. doi: 10.1101/gr.132738.111.
- Dang L, White D, Gross S et al. Cancer-associated *IDH1* mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 2009; 462(7274): 739–744. doi: 10.1038/nature08617.
- Gilbert MR, Liu Y, Neltner J et al. Autophagy and oxidative stress in gliomas with *IDH1* mutations. *Acta Neuropathol* 2014; 127(2): 221–233. doi: 10.1007/s00401-013-1194-6.
- Lu C, Ward P, Kapoor G et al. *IDH* mutation impairs histone demethylation and results in a block to cell differentiation. *Nature* 2012; 483(7390): 474–478. doi: 10.1038/nature10860.
- SongTao Q, Lei Y, Si G et al. *IDH* mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma. *Cancer Sci* 2012; 103(2): 269–273. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02134.x.
- Metellus P, Coulibaly B, Colin C et al. Absence of *IDH* mutation identifies a novel radiologic and molecular subtype of WHO grade II gliomas with dismal prognosis. *Acta Neuropathol* 2010; 120(6): 719–729. doi: 10.1007/s00401-010-0777-8.
- Gorlia T, Delattre JY, Brandes AA et al. New clinical, pathological and molecular prognostic models and calculators in patients with locally diagnosed anaplastic oligodendroglioma or oligoastrocytoma. A prognostic factor analysis of European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumour Group Study 26951. *Eur J Cancer* 2013; 49(16): 3477–3485. doi: 10.1016/j.ejca.2013.06.039.
- Rohle D, Popovici-Muller J, Palaskas N et al. An inhibitor of mutant *IDH1* delays growth and promotes differentiation of glioma cells. *Science* 2013; 340(6132): 626–630. doi: 10.1126/science.1236062.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. 4th ed. IARC 2016; 1(1): 408.
- Masui K, Mischel PS, Reifenberger G. Molecular classification of gliomas. *Handb Clin Neurol* 2016; 97–120. doi: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00006-2.
- Balss J, Meyer J, Mueller W et al. Analysis of the *IDH1* codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol* 2008; 116(6): 597–602. doi: 10.1007/s00401-008-0455-2.
- Horbinski C, Kofler J, Kelly L et al. Diagnostic use of *IDH1/2* mutation analysis in routine clinical testing of formalin-fixed, paraffin-embedded glioma tissues. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009; 68(12): 1319–1325. doi: 10.1097/NEN.0b013e3181c391be.
- Arita H, Narita Y, Matsushita Y et al. Development of a robust and sensitive pyrosequencing assay for the detection of *IDH1/2* mutations in gliomas. *Brain Tumor Pathol* 2015; 32(1): 22–30. doi: 10.1007/s10014-014-0186-0.
- Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P et al. *IDH1* mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol* 2009; 174(4): 1149–1153. doi: 10.2353/ajpath.2009.080958.
- Meyer J, Pusch S, Balss J et al. PCR- and restriction endonuclease-based detection of *IDH1* mutations. *Brain Pathol* 2010; 20(2): 298–300. doi: 10.1111/j.1750-3639.2009.00327.x.
- Horbinski C, Kelly L, Nikiforov Y et al. Detection of *IDH1* and *IDH2* mutations by fluorescence melting curve analysis as a diagnostic tool for brain biopsies. *J Mol Diagn* 2010; 12(4): 487–492. doi: 10.2353/jmolx.2010.090228.
- Lv S, Teugels E, Sadones J et al. Correlation between *IDH1* gene mutation status and survival of patients treated for recurrent glioma. *Anticancer Res* 2011; 31(12): 4457–4463.
- Perizzolo M, Winkfein B, Hui S et al. *IDH* mutation detection in formalin-fixed paraffin-embedded gliomas using multiplex PCR and single-base extension. *Brain Pathol* 2012; 22(5): 619–624. doi: 10.1111/j.1750-3639.2012.00579.x.
- Pang B, Durso MB, Hamilton RL et al. A novel COLD-PCR/FMCA assay enhances the detection of low-abundance *IDH1* mutations in gliomas. *Diagn Mol Pathol* 2013; 22(1): 28–34. doi: 10.1097/PDM.0b013e31826c7ff8.
- Jancik S, Drabek J, Berkovcova J et al. A comparison of Direct sequencing, Pyrosequencing, High resolution melting analysis, TheraScreen DxS, and the K-ras StripAssay for detecting *KRAS* mutations in non small cell lung carcinomas. *J Exp Clin Cancer Res* 2012; 31(1756–9966): 79. doi: 10.1186/1756-9966-31-79.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007; 114(2): 97–109. doi: 10.1007/s00401-007-0243-4.
- Bouchalova K, Trojanec R, Kolar Z et al. Analysis of *ERBB2* and *TOP2A* gene status using fluorescence in situ hybridization versus immunohistochemistry in localized breast cancer. *Neoplasma* 2006; 53(5): 393–401.
- Horbinski C, Miller C, Perry A. Gone FISHing: clinical lessons learned in brain tumor molecular diagnostics over the last decade. *Brain Pathol* 2011; 21(1): 57–73. doi: 10.1111/j.1750-3639.2010.00453.x.
- Pinkham MB, Telford N, Whitfield GA et al. FISHing Tips: What Every Clinician Should Know About 1p19q Analysis in Gliomas Using Fluorescence in situ Hybridisation. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2015; 27(8): 445–453. doi: 10.1016/j.clon.2015.04.008.
- Kristensen LS, Andersen GB, Hager H et al. Competitive amplification of differentially melting amplicons (CADMA) enables sensitive and direct detection of all mutation types by high-resolution melting analysis. *Hum*

- Mutat 2012; 33(1098–1004): 264–271. doi: 10.1002/humu.21598.
36. Parrella P, la Torre A, Copetti M et al. High specificity of quantitative methylation-specific PCR analysis for MGMT promoter hypermethylation detection in gliomas. *J Biomed Biotechnol* 2009; 531692. doi: 10.1155/2009/531692.
37. Baumann S, Keller G, Puhlinger F et al. The prognostic impact of O<sup>6</sup>-Methylguanine-DNA Methyltransferase (MGMT) promoter hypermethylation in esophageal adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2006; 119(2): 264–268. doi: 10.1002/ijc.21848.
38. Toyooka KO, Toyooka S, Maitra A et al. Establishment and validation of real-time polymerase chain reaction method for CDH1 promoter methylation. *Am J Pathol* 2002; 161(2): 629–634. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64218-6.
39. Weisenberger DJ, Campan M, Long TI et al. Analysis of repetitive element DNA methylation by MethylLight. *Nucleic Acids Res* 2005; 33(1362–4962): 6823–6836. doi: 10.1093/nar/gki987.
40. Loussouarn D, Le Loupp AG, Frenel JS et al. Comparison of immunohistochemistry, DNA sequencing and allele-specific PCR for the detection of IDH1 mutations in gliomas. *Int J Oncol* 2012; 40(6): 2058–2062. doi: 10.3892/ijo.2012.1404.
41. Das BR, Tangri R, Ahmad F et al. Molecular investigation of isocitrate dehydrogenase gene (IDH) mutations in gliomas: first report of IDH2 mutations in Indian patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(12): 7261–7264.
42. Wick W, Meisner C, Hentschel B et al. Prognostic or predictive value of MGMT promoter methylation in gliomas depends on IDH1 mutation. *Neurology* 2013; 81(17):1515–1522. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a95680.
43. Olar A, Aldape K. Biomarkers classification and therapeutic decision-making for malignant gliomas. *Curr Treat Options Oncol* 2012; 13(4): 417–436. doi: 10.1007/s11864-012-0210-8.
44. Sanson M, Marie Y, Paris S et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol* 2009; 27(25): 4150–4154. doi: 10.1200/JCO.2009.21.9832.
45. Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol* 2007; 170(5): 1445–1453. doi: 10.2353/ajpath.2007.070011.
46. Peng Z, Haitao X, Pin C et al. IDH1/IDH2 Mutations Define the Prognosis and Molecular Profiles of Patients with Gliomas: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2013; 8(7): e68782. doi: 10.1371/journal.pone.0068782.
47. Reis GF, Pekmezci M, Hansen HM et al. CDKN2A loss is associated with shortened overall survival in lower-grade (World Health Organization Grades II–III) Astrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2015; 74(5): 442–452. doi: 10.1097/NEN.0000000000000188.
48. Zhao J, Ma W, Zhao H. Loss of heterozygosity 1p/19q and survival in glioma: a meta-analysis. *Neuro Oncol* 2014; 16(1523–5866): 103–112. doi: 10.1093/neuonc/not145.
49. Smith JS, Perry A, Borell TJ et al. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol* 2000; 18(0732–183X): 636–645. doi: 10.1200/JCO.2000.18.3.636.
50. Lhotská H, Zemanová Z, Kramář F et al. Molecular cytogenetic analysis of chromosomal aberrations in cells of low grade gliomas and its contribution for tumour classific. *Klin Onkol* 2014; 27(3): 183–191. doi: 10.14735/amko2014183.
51. Kuo LT, Kuo KT, Lee MJ et al. Correlation among pathology, genetic and epigenetic profiles, and clinical outcome in oligodendroglial tumors. *Int J Cancer* 2009; 124(12): 2872–2879. doi: 10.1002/ijc.24303.
52. Ichimura K, Bolin MB, Goike HM et al. Deregulation of the p14ARF/MDM2/p53 pathway is a prerequisite for human astrocytic gliomas with G1-S transition control gene abnormalities. *Cancer Res* 2000; 60(2): 417–424.
53. Kramar F, Zemanova Z, Michalova K et al. Cytogenetic analyses in 81 patients with brain gliomas: correlation with clinical outcome and morphological data. *J Neuro-oncol* 2007; 84(2): 201–211. doi: 10.1007/s11060-007-9358-7.
54. Weller M, Felsberg J, Hartmann C et al. Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German Glioma Network. *J Clin Oncol* 2009; 27(34): 5743–5750. doi: 10.1200/JCO.2009.23.0805.
55. Homma T, Fukushima T, Vaccarella S et al. Correlation among pathology, genotype, and patient outcomes in glioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006; 65(9): 846–854. doi: 10.1097/01.jnen.0000235118.75182.94.
56. Houillier C, Lejeune J, Benouaich-Amiel A et al. Prognostic impact of molecular markers in a series of 220 primary glioblastomas. *Cancer* 2006; 106(10): 2218–2223. doi: 10.1002/cncr.21819.
57. Polivka J, Polivka J Jr, Rohan V et al. Isocitrate dehydrogenase-1 mutations as prognostic biomarker in glioblastoma multiforme patients in West Bohemia. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 735659. doi: 10.1155/2014/735659.
58. Hegi M, Diserens AC, Gorlia T et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 997–1003. doi: 10.1056/NEJMoa043331.
59. Bady P, Sciuscio D, Diserens AC et al. MGMT methylation analysis of glioblastoma on the Infinium methylation BeadChip identifies two distinct CpG regions associated with gene silencing and outcome, yielding a prediction model for comparisons across datasets, tumor grades, and CIMP-status. *Acta Neuropathol* 2012; 124(4): 547–560. doi: 10.1007/s00401-012-1016-2.
60. Noushmehr H, Weisenberger D, Diefes K et al. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell* 2010; 17(5): 510–522. doi: 10.1016/j.ccr.2010.03.017.
61. Wiestler B, Capper D, Sill M et al. Integrated DNA methylation and copy-number profiling identify three clinically and biologically relevant groups of anaplastic glioma. *Acta Neuropathol* 2014; 128(4): 561–571. doi: 10.1007/s00401-014-1315-x.
62. Brandner S, von Deimling A. Diagnostic, prognostic and predictive relevance of molecular markers in gliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2015; 41(6): 694–720. doi: 10.1111/nan.12246.
63. Wick W, Hartmann C, Engel C et al. NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with procarbazine, lomustine, and vincristine or temozolomide. *J Clin Oncol* 2009; 27(35): 5874–5880. doi: 10.1200/JCO.2009.23.6497.
64. Molenaar RJ, Verbaan D, Lamba S et al. The combination of IDH1 mutations and MGMT methylation status predicts survival in glioblastoma better than either IDH1 or MGMT alone. *Neuro Oncol* 2014; 16(9): 1263–1273. doi: 10.1093/neuonc/nou005.
65. Christians A, Hartmann C, Benner A et al. Prognostic value of three different methods of MGMT promoter methylation analysis in a prospective trial on newly diagnosed glioblastoma. *PLoSOne* 2012; 7(3): e33449. doi: 10.1371/journal.pone.0033449

# The Anti-apoptotic Mechanism of Metformin Against Apoptosis Induced by Ionizing Radiation in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells

Anti-apoptotický mechanismus metforminu proti apoptóze indukované ionizujícím zářením v mononukleárních buňkách lidské periferní krve

Kolivand S.<sup>1</sup>, Motevaseli E.<sup>2,3</sup>, Cheki M.<sup>4</sup>, Mahmoudzadeh A.<sup>5</sup>, Shirazi A.<sup>6</sup>, Fait V.<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Department of Medical Biotechnology, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Molecular Medicine, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

<sup>4</sup> Department of Radiologic Technology, Faculty of Paramedicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

<sup>5</sup> Department of Biosciences and Biotechnology, Malek Ashtar University of Technology, Tehran, Iran

<sup>6</sup> Department of Medical Physics and Biomedical Engineering, Faculty of Medicine, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

<sup>7</sup> Department of Surgical Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

## Summary

**Background:** In a previous article, we showed that metformin (MET) can reduce ionizing radiation (IR) induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells. However, the anti-apoptotic mechanism of MET against IR remains unclear. The present study attempts to investigate the mechanism of action of MET in limiting X-ray induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells. **Material and Methods:** Mononuclear cells were treated with MET for 2 hours and irradiated with 6 MV X-rays. The gene expression levels of *BAX*, *CASP3* and *BCL2* were determined 24 hours post irradiation using real time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) technique. Furthermore, the protein levels of *BAX*, *CASP3* and *BCL2* were analyzed by Western blotting assay. **Results:** Radiation exposure increased the expressions of *BAX* and *CASP3* genes, and decreased the expression of *BCL2* gene in mononuclear cells. Conversely, an increase in *BCL2* gene expression along with a decrease in *BAX* and *CASP3* genes expression was observed in MET plus irradiated mononuclear cells. It was found that radiation increased *BAX/BCL2* ratio, while MET pretreatment reduced these ratios. Also, treatment with MET without irradiation did not change the expressions of *BAX*, *CASP3* and *BCL2* genes. On the other hand, downregulated expression of *BCL2* protein and upregulated expressions of *BAX* and *CASP3* proteins were found in 2 Gy irradiated mononuclear cells, while pretreatment with MET significantly reversed this tendency. **Conclusion:** These results suggest that MET can protect mononuclear cells against apoptosis induced by IR through induction of cellular anti-apoptotic signaling.

## Key words

ionizing radiation – metformin – apoptosis – genes – proteins – blood cells

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

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

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

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



Mohsen Cheki, PhD.

Department of Radiologic  
Technology

Faculty of Paramedicine, Ahvaz  
Jundishapur University of Medical  
Sciences

Golestan Avenue

Ahvaz, Iran

email: mohsenchekey@gmail.com

Submitted/Obdrženo: 2. 8. 2017

Accepted/Přijato: 7. 9. 2017

doi: 10.14735/amko2017372



## Souhrn

**Výhodiska:** V předchozím článku jsme ukázali, že metformin (MET) může snížit apoptózu indukovanou ionizační radiací (ionizing radiation – IR) v mononukleárních buňkách lidské periferní krve. Anti-apoptotický mechanismus MET vůči IR však zůstává nejasný. Tato studie se pokouší ověřit mechanismus působení MET v omezování rentgenem indukovanou apoptózu v mononukleárních buňkách lidské periferní krve. **Materiál a metody:** Mononukleární buňky byly 2 hod ošetřovány MET a ozářovány 6 Gy rentgenovými paprsky. Úrovně genové exprese *BAX*, *CASP3* a *BCL2* byly stanoveny 24 hod po ozáření za použití kvantitativní polymerázové řetězové reakce (qualitative polymerase chain reaction – qPCR) v reálném čase. Kromě toho byly hladiny proteinů *BAX*, *CASP3* a *BCL2* analyzovány pomocí metody Western blott. **Výsledky:** Radiační expozice zvýšila expresi genů *BAX* a *CASP3* a snížila expresi genu *BCL2* u mononukleárních buněk. Naopak, zvýšení exprese genu *BCL2* spolu se snížením exprese genu *BAX* a *CASP3* bylo pozorováno u MET a ozářených mononukleárních buněk. Bylo zjištěno, že záření zvýšilo poměr *BAX/BCL2*, zatímco MET snížil tento poměr. Také léčba s MET bez ozáření nezměnila expresi genů *BAX*, *CASP3* a *BCL2*. Na druhou stranu snížená hladina proteinu *BCL2* a zvýšená hladina proteinů *BAX* a *CASP3* v 2 Gy ozářených mononukleárních buňkách, zatímco ovlivnění pomocí MET výrazně zvrátila tuto tendenci. **Závěr:** Výsledek naznačuje, že MET může chránit mononukleární buňky před apoptózou indukovanou IR prostřednictvím indukce buněčné anti-apoptotické signalizace.

## Klíčová slova

ionizující záření – metformin – apoptóza – geny – proteiny – krevní buňky

## Introduction

Interaction between ionizing radiation (IR) and cells leads to production of free radicals that arise in the process of energy absorption and breakdown of chemical bonds in molecules. Free radicals play a major role in radiation effects on biological tissues and organisms. Since cellular damage induced by IR is attributed primarily to the harmful effects of free radicals, molecules with direct free radical scavenging properties are particularly promising as radioprotectants. Initial efforts were centralized on synthetic thiol compounds. These compounds are effective at reducing IR-induced lethality. Amifostine as the most effective compound of this type is the only radioprotector that has been clinically approved by the Food and Drug Administration (FDA) for reducing side effects in cancer patients undergoing radiotherapy. Because of some undesirable side effects of amifostine, such as hypotension, nausea, vomiting, sneezing, hot flashes, mild somnolence and hypocalcemia, researchers diverted their attention toward other compounds as radioprotectors [1–3]. Over the years, a number of compounds have been tested for their radioprotective efficacy with generally limited success. Thus, there is still an urgent need to identify novel, nontoxic compounds to protect humans from the damaging effects of IR.

Metformin (MET) is a widely used drug in the treatment of diabetes mellitus type 2 [4]. MET can neutralize reactive

oxygen species (ROS) as a direct and indirect free radical scavenger through donation of H atom from its  $\text{CH}_3$  or NH groups, and upregulation of the anti-oxidant thioredoxin, and/or suppression of NAD(P)H oxidase activity [5–9]. Several studies have confirmed that MET possesses anti-inflammatory and anti-apoptotic properties [10–13]. MET can act as a radiosensitizer under *in vitro* conditions in a variety of cancer cell lines. For example, MET potentiated the effects of irradiation on human hepatic, lung, pancreatic, esophageal, prostate, and breast cancer cells [14]. Recently, we have shown that MET plays a role in reduction of radiation induced apoptosis and genotoxicity in cultured human blood lymphocytes (HBLs) [15]. Although, the radioprotective effect of MET on cultured HBLs is clear, but its mechanism is still unknown. Thus, the present study attempts to investigate the mechanism of action of MET in limiting X-ray induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs).

## Materials and Methods

### Isolation of mononuclear cells and treatment procedure

This research was approved by the ethics committee of the Tehran University of Medical Sciences and Health Services. Fifteen ml of blood samples were collected in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) coated tubes from the median cubital vein of each of the three

healthy male volunteers. The donors were 25–30 year old non-smokers with no history of radiotherapy, no alcohol or medication consumption and no disease at the time of blood collection. Written consent was obtained from each blood donor. Mononuclear cells were isolated by Ficoll-Hypaque (Baharafshan Co., Iran) using the protocol suggested by the manufacturer. The blood was diluted 1 : 1 with phosphate buffered saline (PBS) and layered onto Ficoll-Hypaque solution with the ratio of blood and PBS – Ficoll-Hypaque maintained at 2 : 1. The blood was centrifuged at 3000 rpm for 30 minutes at room temperature. The mononuclear cells layer was removed, washed twice with PBS and centrifuged at 2000 rpm for 10 minutes each. After separation, the mononuclear cells were cultivated overnight at concentration of  $3 \times 10^6$  cells/ml in Roswell Park Memorial Institute (RPMI) Medium supplemented with 10% fetal bovine serum (Gibco Co., USA), 10 mg/ml streptomycin (Sigma-Aldrich Co., USA), 10,000 U penicillin (Sigma-Aldrich Co., USA) and 2 mmol/mL L-glutamine (Gibco Co., USA) in a humidified atmosphere with 5%  $\text{CO}_2$  at 37 °C. The number of viable cells was assessed by staining the cells with trypan blue (Gibco Co., USA) and counting the cells by hemocytometer. Trypan blue exclusion showed their viability to be > 96%.

The results of our previous article showed that the maximum protective effect of metformin against apoptosis

induced by IR in HBLs occurred at the dose of 2 Gy radiation and 50  $\mu$ M of metformin [15]. Hence, 2 Gy radiation and 50  $\mu$ M of metformin were chosen for this study. In our experiment, cells were divided into four groups and in each group, three samples were processed with triplicate:

Group I – Control – mononuclear cells were treated with MET solvent (PBS + RPMI Medium).

Group II – 50  $\mu$ M MET – mononuclear cells were treated with 50  $\mu$ M of MET (Exir Pharmaceutical Co., Iran).

Group III – Radiation only – mononuclear cells were treated with MET solvent (PBS + RPMI medium) for 2 hours before exposure to 2 Gy X-radiation.

Group IV – 50  $\mu$ M MET + Radiation – mononuclear cells were treated with 50  $\mu$ M of MET for 2 hours before exposure to 2 Gy X-radiation.

#### Irradiation

Mononuclear cells were irradiated with 6 MV X-rays from a medical linear accelerator (Elekta, Stockholm, Sweden) at a dose rate of 2 Gy/min, 100 cm distance from the source (SSD), over an area of 20  $\times$  20 cm<sup>2</sup>, at room temperature.

#### Real time quantitative polymerase chain reaction

Real time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) was used to measure the expression of *BAX*, *CASP3* and *BCL2* genes. The total RNA was extracted 24 hours after irradiation using RNA extraction kit (SinaClon BioScience Co., Iran) according to manufacturer's instructions. RNA purity was quantified by spectrophotometry at 260/280 nm ratio and the integrity was confirmed by electrophoresis on a denaturing agarose gel. For each RNA sample, absence of contaminating DNA was examined by a PCR without preceding RT-qPCR and no amplification product was observed. Further, complementary DNA (cDNA) synthesis kit (Yekta Tajhiz Azma Co., Iran) was used to prepare cDNA directly from cultured cells, according to the manufacturer's instructions. The primers and cDNA sample qualities were analyzed using PCR and agarose gel electrophoresis. RT-qPCR was performed

Tab. 1. The primer sequences that were used in real time PCR.

| Genes        | Primers sequences (5'-3')                             | Product size (bp) |
|--------------|---|-------------------|
| <i>BAX</i>   | F: CGCCGTGGACACAGACTC<br>R: TCCCGGAGGAAGTCCAATGT      | 195               |
| <i>CASP3</i> | F: ACATGGCGTGCATAAAATACC<br>R: CACAAAGCGACTGGATGAAC   | 120               |
| <i>BCL2</i>  | F: GACTTCTCCCGCCGCTAC<br>R: ATCTCCCGTTGACGCTCT        | 191               |
| <i>GAPDH</i> | F: AAGGTGAAGGTCGGAGTCAAC<br>R: GGGGTCATTGATGGCAACAATA | 102               |

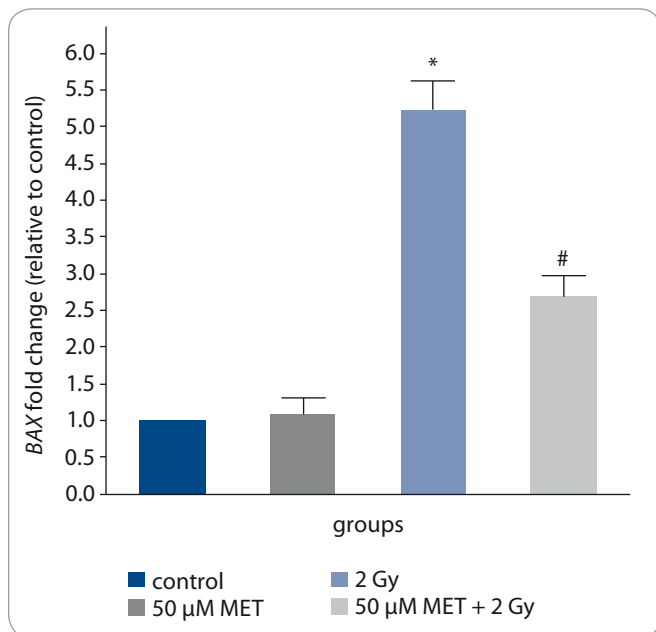
PCR – polymerase chain reaction

in a reaction volume of 25  $\mu$ L according to the manufacturer's instructions. Briefly, 12.5  $\mu$ L of master mix, 1  $\mu$ L of primer assay, 9  $\mu$ L PCR grade H<sub>2</sub>O and 2.5  $\mu$ L of template cDNA were added to each sample. After a brief centrifugation, the PCR plate was subjected to 40 cycles of the following conditions – (i) PCR activation at 95 °C for 15 minutes, (ii) denaturation at 95 °C for 15 seconds and (iii) annealing/extension at 60 °C for 30 seconds. All samples and controls were run in duplicate on a Roter-Gene 6000 instrument (Corbett Life Science, Australia) using RealQ Plus 2x Master Mix Green (Ampliqon Co., Denmark). The quantitative RT-PCR data was analyzed by a comparative threshold (Ct) method, and the fold inductions of samples were compared with the untreated samples. GAPDH was used as an internal reference gene to normalize the expression of the genes. The Ct cycle was used to determine the expression level in control and treated mononuclear cells. The gene expression level was then calculated as described by Yuan et al. [16]. The results were expressed through the ratio of reference gene to target gene by using the following formula –  $\Delta$ Ct = Ct (*BAX*, *CASP3*, *BCL2* genes) – Ct (*GAPDH*). To determine the relative expression levels, the following formula was used –  $\Delta\Delta$ Ct =  $\Delta$ Ct (treated) –  $\Delta$ Ct (control). Thus, the expression levels were expressed as n-fold differences relative to the calibrator. The value was used to plot the expression of genes using the expression of 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup>. The primers sequences that were used for

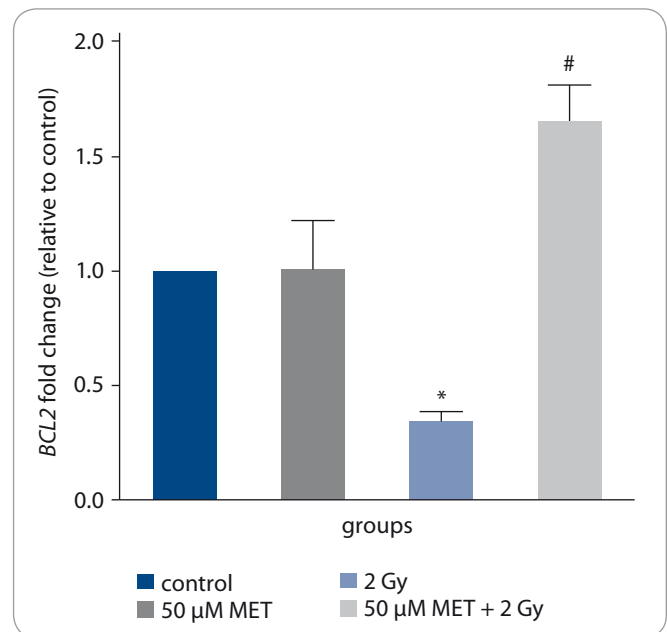
*BAX*, *CASP3* and *BCL2* in real time PCR experiments, are illustrated in Tab. 1.

#### Western blotting assay

After 24 hours from irradiation, the mononuclear cells were washed twice in PBS and suspended in radioimmuno-precipitation assay buffer (RIPA buffer), and placed on ice for 30 minutes. The supernatant was collected after centrifugation at 12,000 g for 10 minutes at 4 °C and the protein concentration in supernatant was determined using the Lowry method. Equal amounts of protein (50  $\mu$ g) were fractionated by 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel and transferred to a nitrocellulose acetate membrane. Nitrocellulose membrane were blocked with 5% (w/v) nonfat milk in TBST (1.5 M NaCl, 20 mM Tris-HCl, 0.05% [v/v] Tween-20) for overnight and then incubated with primary antibodies (mouse monoclonal antibodies anti-BAX, anti-Bcl-2, anti-CASP3, and anti- $\beta$ -Actin; Sigma-Aldrich Co., USA) for 6 hours. The membranes were washed with TBST thrice for 10-minute interval and then incubated with horseradish peroxidase conjugated secondary antibody (goat anti-Mouse IgG-HRP polyclonal antibody; Sigma-Aldrich Co., USA) for 2 hours. Then, the membranes were washed with TBST thrice for 10-minute interval and the bands were detected using a 3,3'-diaminobenzidine solution. The relative amount of protein expressed was determined by using  $\beta$ -Actin as an internal control. The relative intensity of bands was analyzed by Image J software (v. 1.47, Ras-



**Graph 1. Effect of MET on the fold change of *BAX* expression at 24 hours after 2 Gy X-ray radiation (relative to control). Values are expressed as mean  $\pm$  SEM of three experiments in each group with triplicate (\* $p < 0.001$  compared to the control group, # $p < 0.001$  compared to the 2 Gy alone group).**



**Graph 2. Effect of MET on the fold change of *BCL2* expression at 24 hours after 2 Gy X-ray radiation (relative to control). Values are expressed as mean  $\pm$  SEM of three experiments in each group with triplicate (\* $p < 0.05$  compared to the control group, # $p < 0.05$  compared to the 2 Gy alone group).**

band W S, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA).

### Statistical analysis

The data values are presented as means  $\pm$  standard error of mean (SEM). Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance (ANOVA), as well as post hoc Turkey tests. Value  $p < 0.05$  was considered to represent a statistically significant difference.

### Results

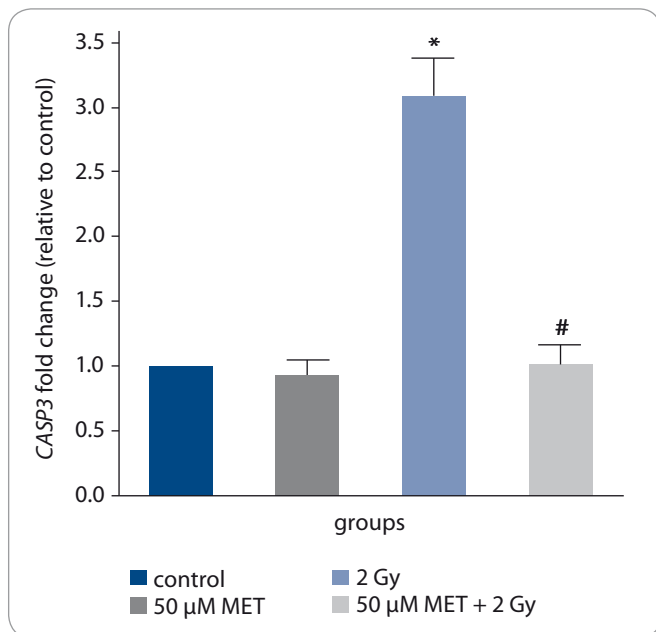
As shown in Graph 1, irradiation with 2 Gy caused a marked increase in the expression of *BAX* as compared with the control group ( $5.23 \pm 0.39$ -fold;  $p < 0.001$ ). However, treatment with 50  $\mu$ M of MET 2 hours before irradiation showed a significant decrease in the expression of *BAX* when compared to radiation only group ( $2.69 \pm 0.27$ -fold vs.  $5.23 \pm 0.39$ -fold, resp.  $p < 0.001$ ) (Graph 1). Furthermore, treatment with 50  $\mu$ M of MET had no effect on *BAX* expression when compared to control group ( $1.07 \pm 0.22$ -fold;  $p = 0.997$ ) (Graph 1). On the other hand, in the irradiation only group, the expression of *BCL2* was significantly decreased as compared to control group

( $0.34 \pm 0.04$ -fold;  $p < 0.05$ ) (Graph 2). However, treatment with 50  $\mu$ M of MET 2 hours before irradiation caused a significant increase in *BCL2* expression when compared to radiation only group ( $1.65 \pm 0.15$ -fold vs.  $0.34 \pm 0.04$ -fold, resp.  $p < 0.05$ ) (Graph 2). The statistically significant differences in the expression of *BCL2* was not seen in 50  $\mu$ M of MET alone group in comparison with control group ( $1.00 \pm 0.21$ -fold;  $p = 1.00$ ) (Graph 2). As shown in Graph 3, irradiation with 2 Gy caused a marked increase in the expression of *CASP3* as compared with the control group ( $3.09 \pm 0.29$ -fold;  $p < 0.001$ ). However, treatment with 50  $\mu$ M of MET 2 hours before irradiation showed a significant decrease in the expression of *CASP3* when compared to radiation only group ( $1.01 \pm 0.15$ -fold vs.  $3.09 \pm 0.29$ -fold, resp.  $p < 0.001$ ) (Graph 3). Moreover, the treatment with 50  $\mu$ M of MET did not lead to a significant difference in *CASP3* expression when compared to the control group ( $p = 0.995$ ) (Graph 3).

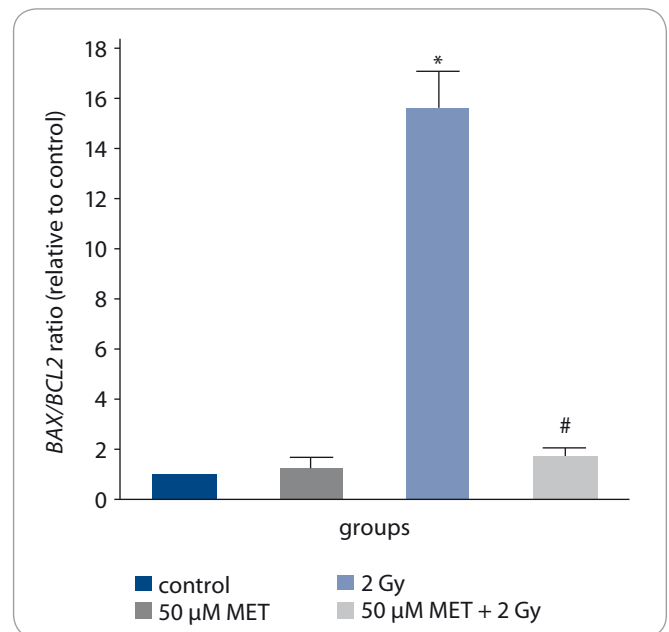
The ratio of pro-apoptotic *BAX* to anti-apoptotic *BCL2* gene expression levels has been suggested as a diagnostic biomarker for radiation exposure assess-

ment. Graph 4 illustrates the results of the *BAX* to *BCL2* ratio for treatment with MET, radiation (2 Gy), and the combined treatment. Treatment with 50  $\mu$ M of MET had no effect on the *BAX/BCL2* gene expression ratio when compared to control group ( $1.23 \pm 0.40$ -fold;  $p = 0.996$ ) (Graph 4). A 2 Gy dose of radiation resulted in  $15.60 \pm 1.47$ -fold increase in the *BAX/BCL2* ratio in comparison with control group ( $p < 0.001$ ) (Graph 4). When 50  $\mu$ M of MET was combined with radiation, there was a significant decrease in the *BAX/BCL2* gene expression ratio in comparison with 2 Gy alone group ( $1.70 \pm 0.30$ -fold vs.  $15.60 \pm 1.47$ -fold, resp.  $p < 0.001$ ) (Graph 4).

The protein level in 2 Gy irradiated mononuclear cells with or without MET pretreatment were examined (Graph 5). Down-regulated expression of *BCL2* protein and up-regulated expressions of *BAX* and *CASP3* proteins were found in 2 Gy irradiated mononuclear cells, while pretreatment with MET significantly reversed this tendency ( $p < 0.001$ ). In addition, the ratio of *BAX* to *BCL2* protein expression levels were calculated for treatment with MET,



**Graph 3.** Effect of MET on the fold change of *CASP3* expression at 24 hours after 2 Gy X-ray radiation (relative to control). Values are expressed as mean  $\pm$  SEM of three experiments in each group with triplicate (\* $p < 0.001$  compared to the control group, # $p < 0.001$  compared to the 2 Gy alone group).



**Graph 4.** Effect of MET on the fold change of *BAX/BCL2* ratio at 24 hours after 2 Gy X-ray radiation (relative to control). Values are expressed as mean  $\pm$  SEM of three experiments in each group with triplicate (\* $p < 0.001$  compared to the control group, # $p < 0.001$  compared to the 2 Gy alone group).

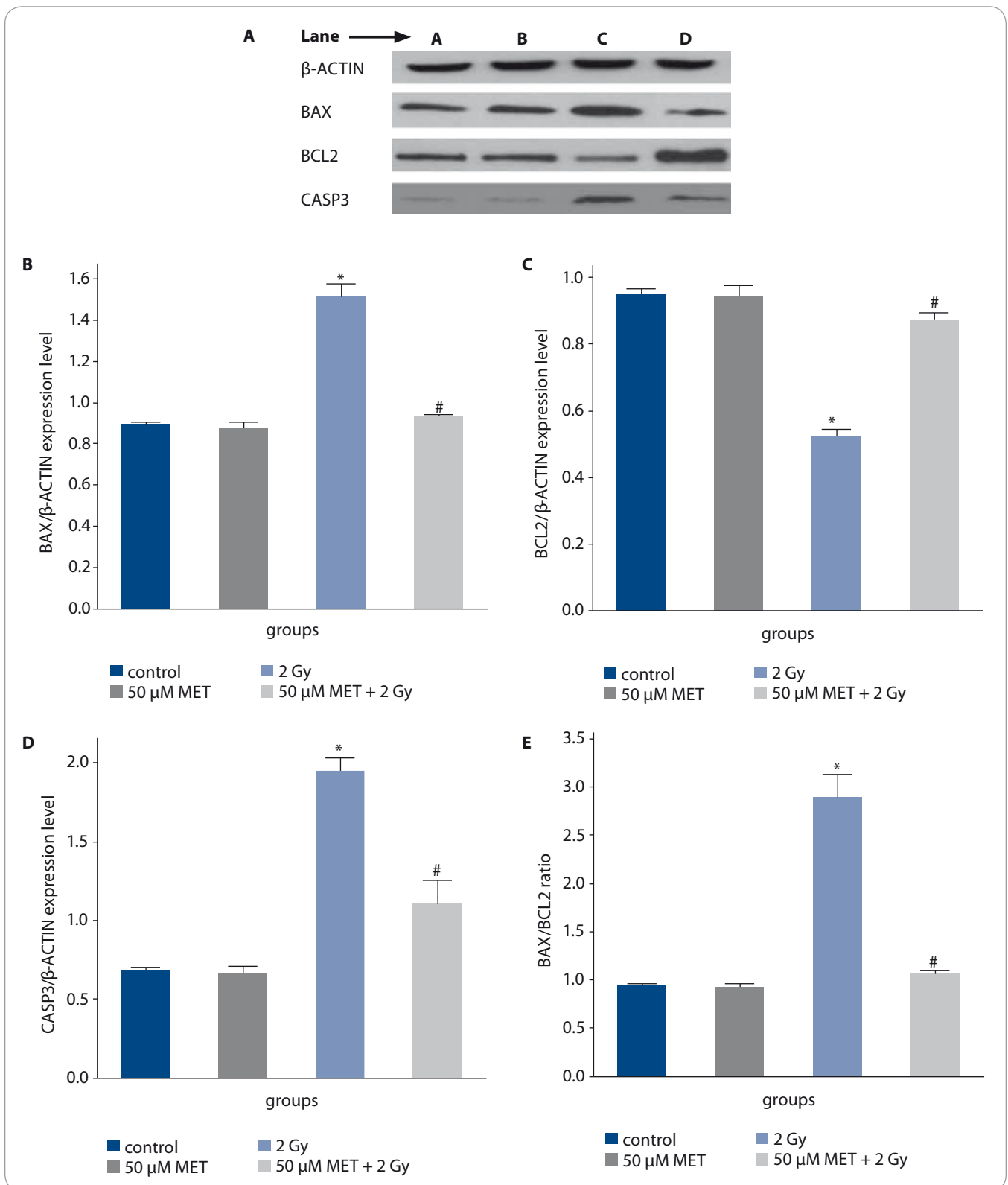
radiation (2 Gy), and the combined treatment (Graph 5). *BAX/BCL2* ratio increased after 2 Gy radiation, while these ratio was decreased by MET pretreatment.

## Discussion

Lymphocytes as a component of human immune system are very sensitive to IR [17]. It is reported that the major cause of lymphocytopenia in the early phase after radiotherapy might be lymphocyte apoptosis. In cancer patients undergoing radiotherapy, lymphocytopenia as a negative prognostic marker has been accepted to be associated with a poor prognosis in terms of both response to therapy and survival time [18–22]. Hence, lymphocytopenia control by radioprotectors may result in an improved response to cancer therapy and finally longer survival time. We previously determined that pretreatment with 50 µM of MET 2 hours before a 2 Gy of 6 MV X-rays diminish apoptosis in cultured HBLs [15]. Apoptosis occurs via two different death signaling pathways – the extrinsic death receptor-dependent pathway and the intrinsic mitochondria-dependent

pathway [23–25]. For the intrinsic mitochondria-dependent pathway, the release of cytochrome c from the inner mitochondrial membrane space into the cytosol will cause Caspase-3 activation and apoptosome formation [26]. The Bcl-2 family members have important role in modulation of cytochrome c release in the context of apoptotic stimuli [27]. Within the Bcl-2 family, BAX is a pro-apoptotic protein and Bcl-2 is an anti-apoptotic protein. BAX or Bcl-2 may control mitochondrial permeability and facilitate the passage of cytochrome c [2]. Thus, the BAX/Bcl-2 ratio determines the fate of many cells [29]. An imbalance of BAX and Bcl-2 proteins may lead to the loss of mitochondrial membrane potential and the release of cytochrome c, which triggers Caspase-3 activation and results in apoptosis [30]. Our study showed that 2 Gy of X-radiation may produce the upregulation of *BAX* and *CASP3*, and downregulation of *BCL2* and subsequently increase in *BAX/BCL2* ratio in irradiated mononuclear cells. Moreover, our findings revealed that 50 µM of MET pretreatment reduced the expression of *BAX* and *CASP3*, and increased the *BCL2* expression in

irradiated mononuclear cells. In addition, the significant decrease was observed in the *BAX/BCL2* ratio following irradiation in the 50 µM of MET pretreatment group. On the other hand, the results of this study show an increase in *BCL2* protein expression along with a decrease in *BAX* and *CASP3* proteins expression in MET plus irradiated mononuclear cells. Ullah et al. [31] showed that MET prevented neuronal apoptosis by decreasing the expression of proapoptotic BAX protein, and increasing the expression of anti-apoptotic Bcl-2 protein in primary cortical neurons. They also observed that MET attenuated the elevation of cytosolic free  $[Ca^{2+}]_i$ , the activation of Caspases-3 and -9 and the cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1), and releasing of cytochrome c from mitochondria. Furthermore, pretreatment of nucleus pulposus cells with MET attenuated tert-butyl hydroperoxide-induced increases in protein content of BAX and cleaved Caspase-3, and decreases in Bcl-2 [32]. Zhou et al. [33] observed that MET diminished neuronal apoptosis in glutamate treated cerebellar granule neurons by reducing cytochrome c re-



**Graph 5. Western blotting analysis of BAX, BCL2 and CASP3.**

**A** – shows immunoblot images of BAX, BCL2 and CASP3. β-ACTIN was used as loading control. Lane **A** – represents the control, lane **B** – 50 μM MET, lane **C** – 2 Gy; lane **D** – 50 μM MET + 2 Gy.

**B-E** – effect of MET on the expression of BAX, BCL2 and CASP3 in normal, 2 Gy and MET pretreated mononuclear cells. Values are expressed as mean ± SEM of three experiments in each group with triplicate (\*p < 0.001 compared to the control group, #p < 0.001 compared to the 2 Gy alone group).

lease, Caspase-3 activation and phosphorylation of MAP kinases. Another study demonstrated that MET inhibited menadione-induced apoptosis, Caspases-9, -6 and -3 activation and PARP cleavage in primary rat hepatocytes via induction of heme oxygenase-1 and Bcl-xl, and inhibition of c-Jun N-terminal kinase (JNK) activation [34]. It is reported that gentamicin increases PARP and Caspase-3 in auditory cell line, while pretreatment with MET reduced all of these changes [13]. Asensio-Lopez et al. [35] showed that pretreatment with MET significantly attenuated doxorubicin-induced apoptosis and Caspases-8, -9 and -3 activation in adult mouse cardiomyocytes. In mouse Schwann cells, MET reduced apoptosis, the activation of Caspase-3 and JNK induced by methylglyoxal [36]. Recent investigations have showed that MET prevented oxidative stress-induced death in several cell types through a mechanism dependent on the mitochondrial permeability transition pore (MPTP) opening and cytochrome c release [37–39]. These studies established that significant decrease in the BAX/BCL2 ratio by MET can prevent the translocation of BAX from cytoplasm to mitochondria, inhibit opening of MPTP in the mitochondrial membrane, reduce release of cytochrome c to the cytosol and inactivate Caspase cascade and finally reduce irradiation-induced apoptosis.

The majority of radioprotectors under active investigation are designed to scavenge IR-induced intracellular free radicals and inhibit apoptosis, averting initial cascades of radiochemical events in cells following IR exposure [40,41]. Edaravone as a ROS scavenger protects HBLs against apoptosis induced by  $\gamma$ -irradiation through downregulation of BAX, upregulation of BCL2, and consequent reduction of the BAX – BCL2 ratio [42]. Begum et al. [43] showed the anti-apoptotic effect of apigenin against IR in HBLs by increasing BCL2 and decreasing BAX, p53, p21 and NF- $\kappa$ B expressions. In addition, black tea and tetramethylpyrazine as two radioprotective agents reduced apoptosis, Caspases activation and BAX

expression, and also increased BCL2 expression in irradiated HBLs [44,45]. Studies have suggested that ROS are associated with the BAX activation in apoptosis induced by some stimuli [46]. MET is effective in scavenging ROS and modulating the intracellular production of superoxide radicals [47]. Regarding the close relationship between ROS and apoptosis, the anti-apoptotic effect of MET is supposed to have resulted from the action of MET as direct free radical scavengers against ROS generated by radiation.

### Conclusion

To the best of our knowledge, this is the first study to present the molecular mechanism of MET that it may be beneficial in reduction of X-ray induced apoptosis in PBMCs. This study reveals that MET may reduce irradiation induced apoptosis in mononuclear cells presumably by induction of cellular anti-apoptotic signaling. However, further *in vivo* studies are needed to clarify anti-apoptotic mechanism of MET.

### References

- Cheki M, Mihandoost E, Shirazi A et al. Prophylactic role of some plants and phytochemicals against radiogenotoxicity in human lymphocytes. *J Cancer Res Ther* 2016; 12(4): 1234–1242. doi: 10.4103/0973-1482.172131.
- Cheki M, Shahbazi Gahrouei D, Moslehi M. Determination of organ absorbed doses in patients following bone scan with using of MIRD method. *Iran South Med J* 2013; 16(5): 296–303.
- Shahbazi-Gahrouei D, Cheki M, Moslehi M. Estimation of organ absorbed doses in patients from 99mTc-diphosphonate using the data of MIRDose software. *J Med Signals Sens* 2012; 2(4): 231–234.
- Viollet B, Guigas B, Sanz Garcia N et al. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin Sci (Lond)* 2012; 122(6): 253–270. doi: 10.1042/CS20110386.
- Halicka HD, Zhao H, Li J et al. Genome protective effect of metformin as revealed by reduced level of constitutive DNA damage signaling. *Aging (Albany NY)* 2011; 3(10): 1028–1038. doi: 10.18632/aging.100397.
- Hou X, Song J, Li XN et al. Metformin reduces intracellular reactive oxygen species levels by upregulating expression of the antioxidant thioredoxin via the AMPK-FOXO3 pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 396(2): 199–205. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.04.017.
- Piwkowska A, Rogacka D, Jankowski M et al. Metformin induces suppression of NAD(P)H oxidase activity in podocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393(2): 268–273. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.01.119.
- Brunmair B, Staniek K, Gras F et al. Thiazolidinediones, like metformin, inhibit respiratory complex I: a common mechanism contributing to their antidiabetic action? *Diabetes* 2004; 53(4): 1052–1059.
- Drose S, Hanley PJ, Brandt U. Ambivalent effects of diazoxide on mitochondrial ROS production at respiratory

- chain complexes I and III. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1790(6): 558–565. doi: 10.1016/j.bbagen.2009.01.011.
- Lee SY, Lee SH, Yang EJ et al. Metformin Ameliorates Inflammatory Bowel Disease by Suppression of the STAT3 Signaling Pathway and Regulation of the between Th17/Treg Balance. *PLoS One* 2015; 10(9): 1358–1358. doi: 10.1371/journal.pone.0135858.
- Liu Y, Yang F, Ma W et al. Metformin inhibits proliferation and proinflammatory cytokines of human keratinocytes in vitro via mTOR-signaling pathway. *Pharm Biol* 2016; 54(7): 1173–1178. doi: 10.3109/13880209.2015.1057652.
- Yeh CH, Chen TP, Wang YC et al. AMP-activated protein kinase activation during cardioplegia-induced hypoxia/reoxygenation injury attenuates cardiomyocyte apoptosis via reduction of endoplasmic reticulum stress. *Mediators Inflamm* 2010. doi: 10.1155/2010/130636.
- Chang J, Jung HH, Yang JY et al. Protective role of antidiabetic drug metformin against gentamicin induced apoptosis in auditory cell line. *Hear Res* 2011; 282(1–2): 92–96.
- Koritzinsky M. Metformin: A novel biological modifier of tumor response to radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015; 93(2): 454–464. doi: 10.1016/j.ijrobp.2015.06.003.
- Cheki M, Shirazi A, Mahmoudzadeh A et al. The radioprotective effect of metformin against cytotoxicity and genotoxicity induced by ionizing radiation in cultured human blood lymphocytes. *Mutat Res* 2016; 809: 24–32. doi: 10.1016/j.mrgentox.2016.09.001.
- Yuan JS, Reed A, Chen F et al. Statistical analysis of real-time PCR data. *BMC Bioinformatics* 2006; 7: 81–85. doi: 10.1186/1471-2105-7-85.
- Kulkarni S, Ghosh SP, Hauer-Jensen M et al. Hematological targets of radiation damage. *Curr Drug Targets* 2010; 11(11): 1375–1385.
- Razzaghdoust A, Mozdarani H, Mofid B et al. Reduction in radiation-induced lymphocytopenia by famotidine in patients undergoing radiotherapy for prostate cancer. *Prostate* 2014; 74(1): 41–47. doi: 10.1002/pros.22725.
- De Giorgi U, Mezo M, Scarpi E et al. Relationship between lymphocytopenia and circulating tumor cells as prognostic factors for overall survival in metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2012; 12(4): 264–269. doi: 10.1016/j.clbc.2012.04.004.
- Balmanoukian A, Ye X, Herman J et al. The association between treatment-related lymphopenia and survival in newly diagnosed patients with resected adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Invest* 2012; 30(8): 571–576. doi: 10.3109/07357907.2012.700987.
- Grossman SA, Ye X, Lesser G et al. Immunosuppression in patients with high-grade gliomas treated with radiation and temozolomide. *Clin Cancer Res* 2011; 17(16): 5473–5480. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0774.
- Lissoni P, Merigalli S, Bonetto E et al. Radiotherapy-induced lymphocytopenia: Changes in total lymphocyte count and in lymphocyte subpopulations under pelvic irradiation in gynecologic neoplasms. *J Biol Regul Homeost Agents* 2005; 19(3–4): 153–158.
- Xu P, Cai X, Zhang W et al. Flavonoids of *Rosa roxburghii* Tratt exhibit radioprotection and anti-apoptosis properties via the Bcl-2(Ca(2+))/Caspase-3/PARP-1 pathway. *Apoptosis* 2016; 21(10): 1125–1143. doi: 10.1007/s10495-016-1270-1.
- Shen Y, Luo Q, Xu H et al. Mitochondria-dependent apoptosis of activated T lymphocytes induced by astin C, a plant cyclopeptide, for preventing murine experimental colitis. *Biochem Pharmacol* 2011; 82(3): 260–268. doi: 10.1016/j.bcp.2011.04.013.
- Xia L, Luo QL, Lin HD et al. The effect of different treatment time of millimeter wave on chondrocyte apoptosis, caspase-3, caspase-8, and MMP-13 expression in rabbit surgically induced model of knee osteoarthritis. *Rheumatol Int* 2012; 32(9): 2847–2856. doi: 10.1007/s00296-011-2080-y.

26. Mohan S, Abdelwahab SI, Kamalidehghan B et al. Involvement of NF- $\kappa$ B and BCL2/BAX signaling pathways in the apoptosis of MCF7 cells induced by a xanthone compound Pyranocycloartobioxanthone A. *Phytomedicine* 2012; 19(11): 1007–1015. doi: 10.1016/j.phymed.2012.05.012.
27. Kluck RM, Bossy-Wetzel E, Green DR et al. The release of cytochrome C from mitochondria: a primary site for Bcl-2 regulation of apoptosis. *Science* 1997; 275(5303): 1132–1136.
28. Lindsten T, Zong WX, Thompson CB. Defining the role of the Bcl-2 family of proteins in the nervous system. *Neuroscientist* 2005; 11(1): 10–15. doi: 10.1177/1073858404269267.
29. Bivik CA, Larsson PK, Kagedal KM et al. UVA/B-Induced apoptosis in human melanocytes involves translocation of cathepsins and Bcl-2 family members. *J Invest Dermatol* 2006; 126(5): 1119–1127. doi: 10.1038/sj.jid.5700124.
30. Green DR. At the gates of death. *Cancer Cell* 2006; 9(5): 328–330. doi: 10.1016/j.ccr.2006.05.004.
31. Ullah I, Ullah N, Naseer MI et al. Neuroprotection with metformin and thymoquinone against ethanol-induced apoptotic neurodegeneration in prenatal rat cortical neurons. *BMC Neuroscience* 2012; 13: 11. doi: 10.1186/1471-2202-13-11.
32. Chen D, Xia D, Pan Z et al. Metformin protects against apoptosis and senescence in nucleus pulposus cells and ameliorates disc degeneration in vivo. *Cell Death Dis* 2016; 7(10): e2441. doi: 10.1038/cddis.2016.334.
33. Zhou C, Sun R, Zhuang S et al. Metformin prevents cerebellar granule neurons against glutamate-induced neurotoxicity. *Brain Res Bull* 2016; 121: 241–245. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.02.009.
34. de la Rosa LC, Vrenken TE, Buist-Homan M et al. Metformin protects primary rat hepatocytes against oxidative stress-induced apoptosis. *Pharm Res Perspect* 2015; 3(2): e00125. doi: 10.1002/prp2.125.
35. Asensio-Lopez MC, Lax A, Pascual-Figal DA et al. Metformin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity: involvement of the adiponectin cardiac system. *Free Radic Biol Med* 2011; 51(10): 1861–1871. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.015.
36. Ota K, Nakamura J, Li W et al. Metformin prevents methylglyoxal-induced apoptosis of mouse Schwann cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 357(1): 270–275. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.03.140.
37. Guigas B, Demaille D, Chauvin C et al. Metformin inhibits mitochondrial permeability transition and cell death: a pharmacological in vitro study. *Biochem J* 2004; 382(Pt 3): 877–884. doi: 10.1042/BJ20040885.
38. El-Mir MY, Demaille D, Villanueva G et al. Neuroprotective role of antidiabetic drug metformin against apoptotic cell death in primary cortical neurons. *J Mol Neurosci* 2008; 34(1): 77–87. doi: 10.1007/s12031-007-9002-1.
39. Morales AI, Demaille D, Prieto M et al. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. *Kidney Int* 2010; 77(10): 861–869. doi: 10.1038/ki.2010.11.
40. Park SJ, Ahn G, Lee NH et al. Phloroglucinol (PG) purified from *Ecklonia cava* attenuates radiation-induced apoptosis in blood lymphocytes and splenocytes. *Food Chem Toxicol* 2011; 49(9): 2236–2242. doi: 10.1016/j.fct.2011.06.021.
41. Park E, Lee NH, Joo HG et al. Modulation of apoptosis of eckol against ionizing radiation in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 372(4): 792–797. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.05.140.
42. Chen L, Liu Y, Dong L et al. Edaravone protects human peripheral blood lymphocytes from  $\gamma$ -irradiation-induced apoptosis and DNA damage. *Cell Stress Chaperones* 2015; 20(2): 289–295. doi: 10.1007/s12192-014-0542-3.
43. Begum N, Prasad NR. Apigenin, a dietary antioxidant, modulates gamma radiation-induced oxidative damages in human peripheral blood lymphocytes. *Biomed Prev Nut* 2012; 2(1): 16–24. doi: 10.1016/j.bionut.2011.11.003.
44. Ghosh D, Dey SK, Saha C. Antagonistic effects of black tea against gamma radiation-induced oxidative damage to normal lymphocytes in comparison with cancerous K562 cells. *Radiat Environ Biophys* 2014; 53(4): 695–704. doi: 10.1007/s00411-014-0551-8.
45. Wang XY, Ma ZC, Wang YG et al. Tetramethylpyrazine protects lymphocytes from radiation-induced apoptosis through nuclear factor- $\kappa$ B. *Chin J Nat Med* 2014; 12(10): 730–737. doi: 10.1016/S1875-5364(14)60112-6.
46. Villunger A, Michalak EM, Coultas L et al. p53- and drug-induced apoptotic responses mediated by BH3-only proteins puma and noxa. *Science* 2003; 302(5647): 1036–1038. doi: 10.1126/science.1090072.
47. Bonnefont-Rousselot D, Raji B, Walrand S et al. An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. *Metabolism* 2003; 52(5): 586–589. doi: 10.1053/meta.2003.50093.

# Odmietnutie liečby v detskej onkológii

## Treatment Refusal in Pediatric Oncology

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

Klinika detskej hematológie a onkológie, LF UK a DFNSP, Bratislava

### Súhrn

**Východiská:** S odmietaním liečby sa detskí onkológovia v súčasnosti stretávajú pomerne často. Rozhodovanie, ako postupovať v takýchto situáciách, je etickou dilemou. Cieľom tohto článku je zamyslieť sa, ako riešiť situácie, keď rodič veľmi rázne odmietne onkologickú liečbu, a tým berie dieťaťu právo na zdravotnú starostlivosť a šancu na vyliečenie. **Kazuistiky:** Uvádzame dve kazuistiky odmietnutia liečby z nášho pracoviska a dopad takéhoto rozhodnutia na samotné dieťa. Kazuistika č. 1 opisuje situáciu dieťaťa s retinoblastómom, keď rodičia odmietli liečbu, aby hľadali alternatívne spôsoby liečby v zahraničí. V kazuistike č. 2 pacientka s kostným lymfómom, ktorej rodičia odmietali dať súhlas s onkologickou liečbou, bola liečená na základe súdneho rozhodnutia. **Záver:** Rozhodovanie v detskej onkológii je v mnohých prípadoch náročné. Keď rodičia odmietajú liečbu potenciálne liečiteľnej rakoviny, lekári informujú rodičov o fakte, že dieťa bez onkologickej liečby zomrie. Na druhej strane si lekári dobre uvedomujú, že v prípade akceptovania liečby rodičmi, existuje potenciálne riziko, že dieťa môže aj napriek liečbe zomrieť na komplikácie, ktoré súvisia s liečbou, alebo ochorenie môže byť na liečbu refraktérne a dieťaťu sa môže spôsobiť značné utrpenie. Príčiny odmietnutia liečby v detskej onkológii môžu byť rôzne. Úlohou celého ošetrovateľského tímu je snaha pochopiť príčinu neochoty rodičov spolupracovať, resp. pokúsiť sa zistiť dôvody odmietania a následne vysvetliť všetky možné nedorozumenia a navrhnúť také riešenie, ktoré by mohlo byť akceptovateľné aj rodičmi. V niektorých situáciách je však nevyhnutné v záujme dieťaťa riešiť dilemu právnou cestou.

### Kľúčové slová

onkológia – etika – rozhodovanie – odmietnutie liečby – zákonní zástupcovia

### Summary

**Background:** Pediatric oncologists are often faced with situations in which parents or guardians refuse recommended treatment for curable childhood cancer. Deciding how to proceed in such situations is an ethical dilemma. The aim of this article is to consider optimal approaches when parents are strongly against oncological treatment, potentially compromising their children's rights for health care and to the chance for cure. **Cases:** In this paper, we report two cases of treatment refusal from our department and the impact of such decisions on the children themselves. Case no. 1 describes a child with retinoblastoma whose parents refused standard treatment in order to seek alternative treatment abroad. Case no. 2 describes a patient with a primary lymphoma of bone who received treatment by a court order after parental refusal. **Conclusion:** When parents refuse a treatment for potentially curable cancer, the medical team often focuses on the certainty of death without treatment. In the background, there is a smaller but still significant risk that – even if the treatment is eventually accepted or compelled – the child will still die from treatment-related complications or refractory disease, possibly with considerable suffering. The reasons for refusing a treatment vary. The entire medical team is tasked with trying to respectfully understand the reasoning behind the parents' unwillingness to accept the treatment, in order to address all possible misunderstandings and to propose solutions that could be acceptable for the parents. In some situations however, it is necessary to resolve the dilemma by legal means in order to protect the life of the child.

### Key words

oncology – ethics – decision making – treatment refusal – legal guardians

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

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

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

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



doc. MUDr. Alexandra Kolenova, PhD.  
Klinika detskej hematológie  
a onkológie  
LF UK a DFNSP  
Limbová 1  
833 40 Bratislava  
e-mail: sasa.kolenova@gmail.com

Obdržané/Submitted: 7. 8. 2017

Prijaté/Accepted: 7. 9. 2017

doi: 10.14735/amko2017380



## Úvod

Súčasný pokrok v informačných technológiách, jednoduchá a rýchla dostupnosť informácií, šírenie rôznych správ v médiách a na sociálnych sieťach prinášajú so sebou novú problematiku a určité komplikácie aj do oblasti zdravotníctva a do rutínnej práce zdravotníckych pracovníkov. Lekári sa dnes pomerne často stretávajú s odmietnutím navrhovaného štandardného a overeného diagnostického liečebného postupu. Poskytnutie poučenia o ochorení a liečbe alebo udelenie súhlasu s liečbou väčšinou neznamená problém u plne kompetentných a spôsobilých pacientov. Toto tvrdenie však neplatí pre pacientov, ktorí nemajú plnú spôsobilosť na právne úkony. Zákon 576/2004 Z. z. o zdravotnej starostlivosti používa termín osoby nespôsobilé dať informovaný súhlas, medzi ktoré patria aj maloleté deti [1].

Špecifikum pediatrie je práve to, že pediatri sa starajú o neplnoleté osoby a rozhodnutie o osude dieťaťa je v rukách zákonného zástupcu. Podľa ustanovenia § 31 Zákona č. 36/2005 Z. z. o rodine rodičia zastupujú dieťa pri právnych úkonoch, na ktoré nie je spôsobilé [2].

Poslaním zdravotníckych pracovníkov je robiť to, čo je najlepšie pre dieťa, na druhej strane chcú rešpektovať úlohu rodiča v rozhodovaní o jeho dieťati. Lekár prakticky nič nemôže urobiť bez povolenia alebo súhlasu od rodiča, resp. iného zákonného zástupcu. Samozrejme podľa § 6 ods. 9a zákona č. 576/2004 Z. z. to neplatí v urgentných situáciách, keď treba konať okamžite, lebo neskorá liečba môže vážne ohroziť život dieťaťa. Odmietnutie liečby, resp. zdravotnej starostlivosti rodičom maloletého má súvislosť s právnym inštitútom informovaného súhlasu.

V prípadoch poskytovania zdravotnej starostlivosti maloletému, t.j. osobe nespôsobilej dať informovaný súhlas, dáva súhlas s liečbou jeho zákonný zástupca podľa § 6 ods. 5 zákona č. 576/2004 Z. z. [3]. „Maloletá osoba nie je však úplne vylúčená z rozhodovania o poskytovanej zdravotnej starostlivosti, v závislosti od jej schopností by sa na ňom mala podieľať v čo najväčšej miere v súlade so zásadou čl. 12 ods. 1 Dohovoru o právach dieťaťa“ [4].

Lekár by teda mal brať do úvahy aj názor dieťaťa, samozrejme treba prihliadnúť tiež na vek dieťaťa a konkrétny prípad [3].

V prípade závažných, chronických, ale nie urgentne život ohrozujúcich ochorení, ako je to väčšinou pri onkologických diagnózach, ktorým sa chceme v tomto článku venovať, sme často na hrane etických dilem. O etickom probléme hovoríme vtedy, keď pred človeka alebo skupinu ľudí sú postavené minimálne dve alternatívy konania (správania), pričom každá alternatíva má svoje rozumné dôvody pre aj proti. Etická dilema však znamená situáciu, keď žiadna z ponúkaných alternatív konania (správania) nepredstavuje všeobecne prijateľné riešenie etického problému [5].

Detští onkológovia navrhujú diagnostické a terapeutické postupy na základe vedecky overených poznatkov, štandardných postupov, svojich odborných skúseností a podľa toho, v čom veria, že je pre pacienta najlepšie. Napriek tomu sa stáva, že rodič nesúhlasí s týmito odporúčaniami a nedá svoj súhlas k navrhovanej liečbe. V týchto situáciách je primárnou úlohou celého tímu (lekára, psychológa, zdravotnej sestry, sociálneho pracovníka) snaha pochopiť príčinu neochoty rodičov spolupracovať, resp. pokúsiť sa zistiť dôvody odmietania a následne vysvetliť všetky možné nerozumienia a navrhnúť riešenie, ktoré by mohlo byť akceptovateľné aj rodičmi [6].

Cieľom tohto článku je poukázať na možné reakcie a postupy v situáciách, keď rodičia veľmi rázne odmietnu onkologickú liečbu a berú dieťaťu právo na zdravotnú starostlivosť a šancu na vyliečenie.

Chceme sa podeliť o naše skúsenosti a na dvoch prípadoch odmietnutia liečby poukázať na dopad takeého rozhodnutia na zdravie dieťaťa.

### Kazuistika č. 1

V roku 2013 u 9-mesačného chlapčeka diagnostikovali na očnej klinike DFNSP v Bratislave retinoblastóm ľavého oka. Dieťa bolo z prvej gravidity, narodilo sa dva týždne po plánovanom termíne a bolo kriesené, s Apgarovej skóre 1-2-3 a s indikáciou na hospitalizáciu na jednotke intenzívnej starostlivosti (JIS) so

závažnou hypoxicko-ischemickou encefalopatiou s krvácaním do sietnice vľavo. Po prepustení bolo dieťa naďalej sledované u neurológa a oftalmológa. Retinoblastóm lekári zistili pri pravidelnej očnej kontrole, podľa CT nálezu orbít a mozgu boli na dorzolaterálnej vnútornej stene ľavého bulbu zobrazené kalcifikáty uložené plošne pozdĺž retiny s okolitým ložiskom, okrajovo zasahovali k terču zrakového nervu.

Po stavovení diagnózy retinoblastómu oftalmológovia odporúčali onkologické konzílium. Toto však rodičia odmietli tak ako aj všetky ďalšie navrhované diagnostické a terapeutické postupy. Pacient sa následne stratil na 3 roky z dohľadu očnej aj onkologickej starostlivosti na Slovensku, pretože rodičia hľadali alternatívne spôsoby liečby v zahraničí. Liečbu viedol maďarský lekár venujúci sa alternatívnej medicíne. Pozostávala z diéty (bez cukru, mlieka, múky, živočíšnych produktov a obsahovala holistické výživové doplnky, vitamíny a pod).

Začiatkom augusta roku 2015 si rodičia všimli progresiu očného nádoru, ktorá bola v septembri 2015 aj potvrdená na zobrazovacom vyšetrení. Následne rodičia po neúspechu alternatívnej liečby v Maďarsku získali informácie, že by mohla pomôcť fotodynamická laserová terapia v nemeckom Heidelbergu. Dieťa liečbu absolvovalo v čase január–marec 2016. Vzhľadom na neúčinnosť lokálnej liečby pre závažnú progresiu nádoru bola vykonaná v apríli 2016 vo fakultnej nemocnici v Debrecíne (Maďarsko) enukleácia oka (histologický nález – masívna choroidálna infiltrácia, extraokulárne reziduálne nádorové tkanivo, prítomné prerastanie do ciev, prerastanie do nervus opticus s negatívnou resekcíou líniou). Po chirurgickej liečbe ďalšiu odporúčanú onkologickú liečbu rodičia opäť odmietli. Domnievali sa, že enukleácia je dostatočným kuratívnym zákrokom a stále nedôverovali účinkom cytostatickej liečby.

Koncom júla 2016 rodičia spozorovali opuch ľavého horného viečka. V auguste 2016 po vyšetrení dieťaťa na očnej klinike s potvrdením lokálnej progresie nádoru bola odporúčaná chemoterapia, ktorú rodičia naďalej odmietali, a pokračovali len vo fotodynamickej liečbe



Obr. 1. Extrémna progresia nádoru v orbite aj extraorbitálne, veľkosť nádoru – 10 × 3 × 6 cm (september 2016).



Obr. 2. Výrazná regresia nálezu po podaní piatich cyklov chemoterapie.

v Nemecku. Finančná náročnosť celej liečby sa pohybovala až do 50 000 eur.

V septembri 2016 bolo dieťa znovu vyšetrené v Heidelbergu na onkologickej klinike, kde bola pre veľký rozsah ochorenia navrhnutá onkologická liečba (chemoterapia a rádioterapia). Vzhľadom na finančnú vyčerpanosť a zadlženosť rodiny, po zlyhaní alternatívnych spôsobov liečby sa rodičia rozhodli vrátiť a pokračovať v onkologickej liečbe na Slovensku.

Koncom septembra 2016 bolo kachektické dieťa prvýkrát prijaté na našom pracovisku s extrémnou progresiou v orbite aj extraorbitálne. Veľkosť nádoru bola 10 × 3 × 6 cm, prítomné bolo rozsiahle metastatické postihnutie ľavostranných krčných lymfatických uzlín (obr. 1). Vykonané vyšetrenia nepotvrdili metastázy v pľúcach, parenchýmových orgánoch, kostnej dreni, mozgu a likvorových cestách.

Vzhľadom na veľmi závažný stav pacienta sa s rodičmi za prítomnosti onkológov a sociálneho pracovníka prediskutoval návrh na ďalší liečebný postup – cytostatická liečba a podľa odpovede na chemoterapiu následne zvažovaná možnosť radikálneho chirurgického riešenia a rádioterapie.

Rodičia s navrhnutým postupom súhlasili, pacient absolvoval päť cyklov chemoterapie s výraznou regresiou nálezu (obr. 2). Následne 28. februára 2017 sa na Neurochirurgickej klinike v Bratislave

v spolupráci s oftalmológom a stomatochirurgom vykonala radikálna extirpácia nádoru (retinoblastoma l. sin. štádium IV) a pacient ďalej pokračuje v liečbe chemoterapiou. Dieťa má odvtedy výrazne zlepšenú kvalitu života, primerane sa vyvíja. Rodičia spolupracujú.

#### Kazustika č. 2

Šesnásťročná pacientka sa sťažovala na bolesti pravého ramena, neskôr aj hornej časti pravého predkolenia s opuchom a začervenaním. Po zobrazovacích vyšetreniach vykonali ortopédi v našej nemocnici biopsiu nádorového procesu proximálneho konca tibia vpravo (obr. 3A, 3B). Histologické vyšetrenie potvrdilo, že ide o malígnu B lymfóm zo spektra DLBCL (diffuse large B-cell lymphoma), aj trepanbiopsické vyšetrenie kostnej drene potvrdilo rozsiahlu nádorovú infiltráciu.

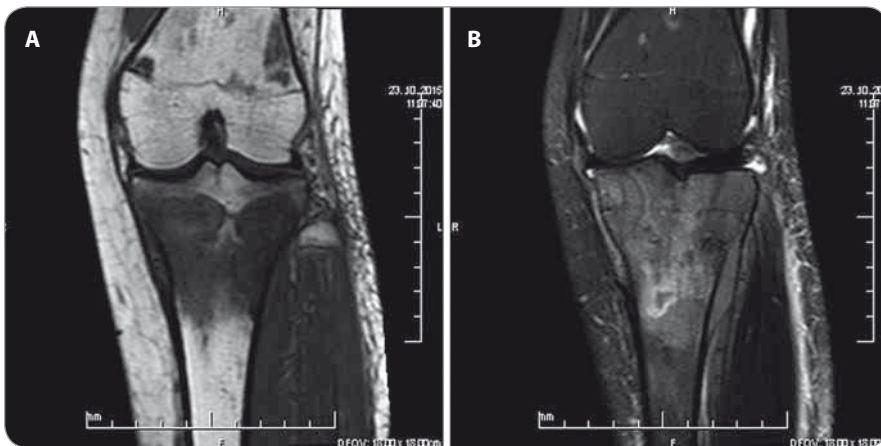
Vstupným vyšetrením PET/CT sa zistil nález viacpočetných viabilných kostnodreňových lézií axiálneho aj apendikulárneho skeletu, deštrukcia v oblasti pravej skapuly a v proximálnej metafýze ľavej tibia. Na základe všetkých vyšetrení bola pacientke odporúčaná onkologická liečba. O povahe ochorenia a jeho prognóze, o navrhovanej liečbe chemoterapiou a možných vedľajších účinkoch liečby boli rodičia opakovane informovaní. Napriek opakovaným rozhovorom a snahe lekárov informovať zákonných zástupcov o závažnosti ochorenia a ohro-

zení ich dieťaťa zákonní zástupcovia (otec aj matka) odmietli liečbu chemoterapiou a plánovali liečiť svoje dieťa alternatívnou liečbou – biorezonanciou.

Onkologická liečba, ktorú sme navrhovali, vychádza z najnovších poznatkov detskej onko-hematológie, používa protokoly, ktoré sú koordinované s poprednými európskymi centrami. Vzhľadom na typ lymfómu a rozsah postihnutia pacientky sa očakával veľmi slušný liečebný výsledok s dobrou šancou na dlhodobé prežívanie.

Zákonných zástupcov a aj pacientku sme opakovane poučili o liečbe a jej prípadných rizikách v zmysle zákona [3]. Liečbu sme začali na základe nariadenia neodkladného opatrenia podľa § 365 ods.1 Civilného mimosporového poriadku [7], podľa ktorého boli rodičia pacientky povinní odovzdať ju do starostlivosti DFNSp Bratislava na poskytnutie zdravotnej starostlivosti, a to bezodkladne. Pacientka po tejto intervencii absolvovala kompletnú navrhovanú liečbu chemoterapiou s primeraným priebehom za prítomnosti rodičov, ktorí po nariadení liečby spolupracovali.

Liečba trvala 5 mesiacov. Koncom júla 2017 (7 mesiacov po jej ukončení) pretrvávala prvá kompletná remisia, pacientka je v dobrom klinickom stave, pokračuje v štúdiu na strednej škole a je pravidelne sledovaná v onkologickej ambulancii.



Obr. 3. MRI ľavej tibiie – chaoticky nehomogénne zmenený signál – expanzia proximálnej epi-meta-diafýzy tibiie s mäkkotkanivovou zložkou (október 2015).

### Diskusia

V poslednom období došlo k dramatickému pokroku v liečbe detských nádorových ochorení. Kým v polovici 60. rokov minulého storočia prežívalo menej ako 10 % detských pacientov s touto diagnózou, v súčasnosti vďaka multimodálnej liečbe (chirurgická liečba, chemoterapia, rádioterapia, biologická liečba, transplantácia kostnej drene) sa dá vyliečiť viac ako 75 % pacientov s detským onkologickým ochorením [8]. Na tomto úspechu sa podieľajú mnohé faktory, ako napríklad lepšie pochopenie biologickej podstaty onkologických chorôb, zlepšená diagnostika, vývoj nových liečebných postupov, viacliekové chemoterapeutické režimy, nové metódy rádioterapie a moderné chirurgické postupy [9].

Starostlivosť o detských onkologických pacientov na Slovensku (od narodenia do 18. roku života) sa centralizuje do troch detských onkologických centier – v Bratislave, Banskej Bystrici a Košiciach. Všetky tri detské onkologické centrá používajú koordinované liečebné postupy podľa medzinárodne vypracovaných protokolov a postupne sa zapájajú do medzinárodných štúdií.

Problém odmietnutia liečby v detskej onkológii by sa dal porovnať s odmietaním očkovania v detskej populácii. Ide o určitý nový fenomén v čase jednoduchej dostupnosti množstva informácií, v ktorých zorientovať sa môže byť pre laikov náročné. Súvisí to aj so slobodou rozhodovania sa a voľby.

Na Slovensku v poslednom desaťročí liečbu odmietla odhadom jedna rodina na 150 nových pacientov ročne. Plánujeme retrospektívnu analýzu týchto prípadov, a to od roku 2000, keď bola na Slovensku zriadená spoločná databáza detských onkologických ochorení.

Samotné odmietnutie liečby závisí od viacerých faktorov. Možno predpokladať, že odmietnutie liečby v rozvojových krajinách je ovplyvnené prevažne sociálnymi faktormi, kým v rozvinutých krajinách sú hlavnou príčinou odmietnutia liečby zvyčajne psychologické faktory, ako úzkosť, strach z nežiaducich účinkov, náboženské presvedčenie, hľadanie alternatívnych možností pre nedostatok dôvery zo strany rodičov, čo zároveň poukazuje aj na potrebu dostatočnej komunikácie a starostlivosti lekárov a psychosociálneho tímu [10].

V prvej kazuistike išlo o silné presvedčenie a vieru v silu prírodných zdrojov, svoju úlohu zohrala aj strata blízkeho človeka s onkologickým ochorením v rodine, u ktorého chemoterapia nepomohla, a spôsob komunikácie zdravotníckeho personálu. Celkovo išlo o kombináciu faktorov, ktoré spôsobovali nedostatok dôvery zo strany rodičov.

V druhom prípade, keď rodičia opakovane odmietali hospitalizáciu na začatie liečby, bola vzniknutá situácia vyhodnotená ako prekážka na strane zákonného zástupcu pri podaní život zachraňujúcej onkologickej liečby pri úspešnosti 4-year EFS bolo 85 % (n = 366) podľa francúzskej štúdie a 84 % (n = 393) podľa ne-

meckej štúdie [11]. V tomto prípade príčinou odmietania liečby bola aj nepriaznivá skúsenosť s onkologickým ochorením v rodine, nedôvera k cytostatickej liečbe a predovšetkým obava z nežiaducich účinkov onkologickej liečby.

Obavy, ktoré sa týkajú konvenčnej liečby a ktoré môžu viesť k odmietnutiu liečby, by sa mohli interpretovať v rámci tzv. mechanizmu zvládania/vysporiadania sa s problémom. Rodičia detí s onkologickým ochorením prechádzajú rôznymi štádiami zvládania/vysporiadania sa s problémami a ťažkosťami. Jedným z nich je emocionálne vyrovnávanie sa, čo môže byť výrazne ovplyvnené náboženským presvedčením alebo nedôverou k modernej medicíne. To môže viesť k extrémnemu prijatiu alebo naopak odmietaniu samotného ochorenia alebo jeho liečby [12].

V odbornej literatúre je obranný mechanizmus definovaný anglickým pojmom coping a znamená „vedieť si poradiť a vyrovnáť sa s mimoriadne ťažkou, takmer nezvládnuteľnou situáciou, stačiť na nezvyčajne ťažkú úlohu. Inak povedané, znamená s niekým bojovať, doslova „biť sa“ snažiť sa ho premôcť, a tak sa s ním porátať, zvládnuť ho, skrotiť a podrobiť vlastnej vôli – v tom zmysle aj zvládnuť životnú krízu, konfliktné napätie a spor nepriateľských síl [13].

Oznámenie vážnej diagnózy dieťaťa rodičom je veľmi náročná úloha. Nová informácia zasahuje rodičov rôznou formou a každý z nich môže reagovať na takúto situáciu inak a zvládať ju individuálnym spôsobom. Priebeh prvých reakcií môže mať určitú formu analógie – úzkosť, strach, hnev, smútok a depresia [14].

Ďalším problémom je aj to, že sa u rodičov automaticky spája slovo rakovina s umieraním. Výsledný strach a úzkosť následne môžu zabrániť rodičom vidieť významný nárast miery vyliečiteľnosti onkologického ochorenia [15].

Podľa retrospektívnej dotazníkovej štúdie v Nemecku bola u 15 detských pacientov s onkologickým ochorením dokumentovaná odmietnutá alebo prerušená odporúčaná onkologická liečba. Miera odmietnutia v percentách bola 0,4 % novo diagnostikovaných pacientov. Zákonnými zástupcami boli vo všetkých prípadoch rodičia [10].

Nedôvera rodičov či zákonných zástupcov voči vyskúšaným a úspešným štandardným terapiám môže viesť k zhoršeniu kvality života, ako to bolo v prípade nášho pacienta, ktorého sme uviedli v kazuistike č. 1. Ten by v prípade včasnej liečby mohol mať 100% šancu na vyliečenie. Odmietnutie navrhnutých terapeutických možností môže viesť k podstatnému zhoršeniu zdravotného stavu a k ohrozeniu života pacienta (viz. kazuistika č. 2).

Dohovor o ochrane ľudských práv a dôstojnosti človeka v súvislosti s aplikáciou biológie a medicíny a spomínaný zákon o zdravotnej starostlivosti 576/2004 uprednostňuje zásadu, že pri rozhodovaní o prijatí zdravotnej starostlivosti sa má prihliadať na názor nespôsobilej osoby (dieťaťa). Vyjadrenie dieťaťa sa zaznamená v zdravotnej dokumentácii, ale bez ohľadu na vyjadrenie dieťaťa konečné rozhodnutie je vždy na zákonomnom zástupcovi [4]. V prípade odmietnutia navrhovaného zdravotného výkonu zákonným zástupcom dieťaťa zákon zabezpečuje ochranu práv dieťaťa prostredníctvom ustanovenia § 6 ods. 7, na základe ktorého poskytovateľ zdravotnej starostlivosti môže dať návrh na súd, ak je to v záujme dieťaťa, ktorému sa má zdravotná starostlivosť poskytnúť. Súhlas súdu nahrádza informovaný súhlas zákonného zástupcu. Do rozhodnutia súdu možno vykonávať zdravotné výkony nevyhnutné len na ochranu života dieťaťa [3].

Ak sa odmietne onkologická liečba u dieťaťa, negatívny reverz síce chráni zdravotníckeho pracovníka a zdravotnícke zariadenie, ale nechráni samotné dieťa. Dieťa je chránenou osobou a jeho ochrana a záujmy sú kontrolované štátom, konkrétne orgánom sociálnoprávnej ochrany detí a sociálnej kurately, ktorý postupuje v intenciách zákona [16].

Dalo by sa uvažovať aj o tom, aká vysoká má byť pravdepodobnosť úspechu navrhovaného terapeutického postupu, aby sa považoval za prijateľný pre rodiča. Rozhodnutie o prijateľnosti alebo naopak neprijateľnosti je základným predpokladom rozhodnutia o prijatí, eventuálne odmietnutí liečby. Toto rozhodnutie by malo byť urobené až po predchádzajúcom dôkladnom a prime-

ranom informovaní o povahe ochorenia a výsledkoch navrhovaných liečebných postupov.

„Samotný vzťah medzi lekárom a pacientom – proces poučenia, získania súhlasu – je problematický. Každý totiž môže mať o potrebe a dôvodnosti zdravotnej starostlivosti vlastný názor. Situácia sa o to viac komplikuje, keď sa schéma dvoch subjektov rozširuje o subjekt tretí. To je práve prípad rozhodovania o prijatí zdravotnej starostlivosti u nespôsobilých pacientov“ [17].

Čo sa týka publikovaných údajov, odmietanie liečby je síce veľmi diskutovanou témou, ale doteraz nebola publikovaná systematická štúdia tohto fenoménu vo vyspelých krajinách, kde je onkologická liečba rýchle dostupná.

V časopise *Pediatrics* bude v tomto roku publikovaná prvá takáto štúdia, ktorej cieľom bolo identifikovať a zistiť prípady odmietnutia liečby v súčasnosti. Jednotlivé kazuistiky boli analyzované podľa týchto kľúčových znakov – demografické údaje, dôvod odmietnutia, právne konanie, výsledok liečby. Posudzovalo sa 4 342 publikácií, z nich 579 spĺňalo kritériá skríningu. Medián veku pacientov bol 10 rokov. Väčšina prípadov bola z USA. Dôvody na odmietnutie liečby možno zaradiť do štyroch skupín (preferovanie alternatívnej medicíny, náboženské dôvody, strach z nežiaducich účinkov, nepochopenie povahy ochorenia a potreby liečby). V 51 prípadoch (70 %) sa prípad riešil právnym konaním.

Na základe tejto štúdie boli zistené vážne nedostatky v publikovanej literatúre. Týkali sa hlavne problému konsenzu, hranice v prognóze odmietnutia liečby a absencie názoru dieťaťa a adolescenta, ktorí boli liečení na základe rozhodnutia rodiča. Limitáciami tejto štúdie sú chýbajúce údaje predovšetkým v tých prípadoch, keď nebolo začaté právne konanie.

Záverom štúdie autori konštatujú, že na identifikáciu efektívnej stratégie pre prácu s rodinami, ktoré odmietajú liečbu, je potrebný ďalší výskum [18].

Na našom pracovisku sme zaviedli štandardný postup informovania ro-

dičov a pacientov, a to v čase stanovenia diagnózy, pri relapse, pri prechode do paliatívnej starostlivosti a vždy, keď si to rodina vyžiada. Štandardný rozhovor sa koná v tzv. rodinnej izbe – pokojnom, nerušenom a príjemne upravenom priestore. Príprava na rozhovor a čas rozhovoru dohodne s rodinou psychológ. Psychológ pozve oboch rodičov a podľa potreby aj ďalších príbuzných, resp. zákonných zástupcov. Prítomnosť pacienta sa rieši individuálne (podľa veku, nastavenia rodičov, klinického stavu pacienta apod.). Malé deti môžu pri rozhovore rodičov zamestnávať a vyrušovať a rodičia sa nevedia úplne sústrediť. Psychológ v spolupráci s rodičmi zabezpečí, aby bolo o malé dieťa v čase rozhovoru dobre postarané. Pacienti v staršom školskom veku a adolescenti sa na rozhovor pozývajú. Rešpektujeme však špecifickosť a zázemie jednotlivých rodín.

Na rozhovore sa zúčastňujú ošetrojúci lekár, lekár špecialista, ktorý je zodpovedný za danú diagnózu a psychológ. Dĺžka rozhovoru je cca 45–60 minút, podávame informácie o povahe ochorenia, diagnostike, možnostiach liečby, nežiaducich účinkoch, prognóze atď. Snažíme sa vytvoriť pokojnú a bezpečnú atmosféru, aby sa rodičia mohli bez obáv pýtať. V prípade, že zaznamenáme problém s podpisom informovaného súhlasu, rodičom nechávame čas a priestor na premyslenie a naplánujeme ďalší rozhovor. Podľa potreby potom prizveme ostatných odborníkov. V prípade opakovaného odmietania podpisu informovaného súhlasu v čase 1. línie liečby pri ochorení s dobrou prognózou kontaktujeme sociálneho pracovníka, vedieme ďalší rozhovor a pri opakovanom odmietaní riešime problematiku tak ako v kazuistike č. 2, t.j. vyžiadanim informovaného súhlasu právnou cestou.

Lekári, zdravotné sestry, psychológovia, sociálny pracovník a pedagogickí pracovníci na našom pracovisku majú možnosť bezplatne sa zúčastniť akreditovaných vzdelávacích seminárov a workshopov na overenie a zlepšenie komunikačných schopností s rodičmi a pacientom. Základným princípom komunikácie v našom pracovnom prostredí je najskôr empatia a až potom fakty.

## Záver

Rozhodovanie v detskej onkológii je v mnohých prípadoch náročné. Keď rodičia odmietajú liečbu potenciálne liečiteľnej rakoviny, lekári informujú rodičov o fakte, že dieťa bez onkologickej liečby zomrie. Na druhej strane si lekári dobre uvedomujú, že v prípade akceptovania liečby rodičmi, existuje potenciálne riziko, že dieťa môže aj napriek liečbe zomrieť na komplikácie, ktoré súvisia s liečbou alebo ochorenie môže byť na liečbu refraktérne a dieťaťu sa môže spôsobiť značné utrpenie.

Príčiny odmietnutia liečby sú rôzne, úlohou celého ošetrovateľského tímu je snaha pochopiť príčinu neochoty rodičov spolupracovať, respektíve pokúsiť sa zistiť dôvody odmietania a následne vysvetliť všetky možné nedorozumenia a navrhnúť také riešenie, ktoré by mohli akceptovať aj rodičia.

Naším cieľom bolo demonštrovať na dvoch konkrétnych prípadoch odmietnutie onkologickej liečby rodičmi a zároveň sa zamyslieť nad tým, ako by sa dalo odmietnutiu liečby v prípadoch s dobrou prognózou predchádzať.

Myslíme si, že do určitej miery je pre predchádzanie odmietnutia onkologickej

liečby dôležité, akým spôsobom sa vedie komunikácia s rodičmi, či je snaha pochopiť dôvody a príčiny odmietania liečby a zároveň je rodičom a pacientom poskytnutá odborná psychologická podpora. V prípade odmietania liečby aj napriek adekvátnej komunikácii a psychologической podpore je dôležité včas zvážiť riešenie právnou cestou.

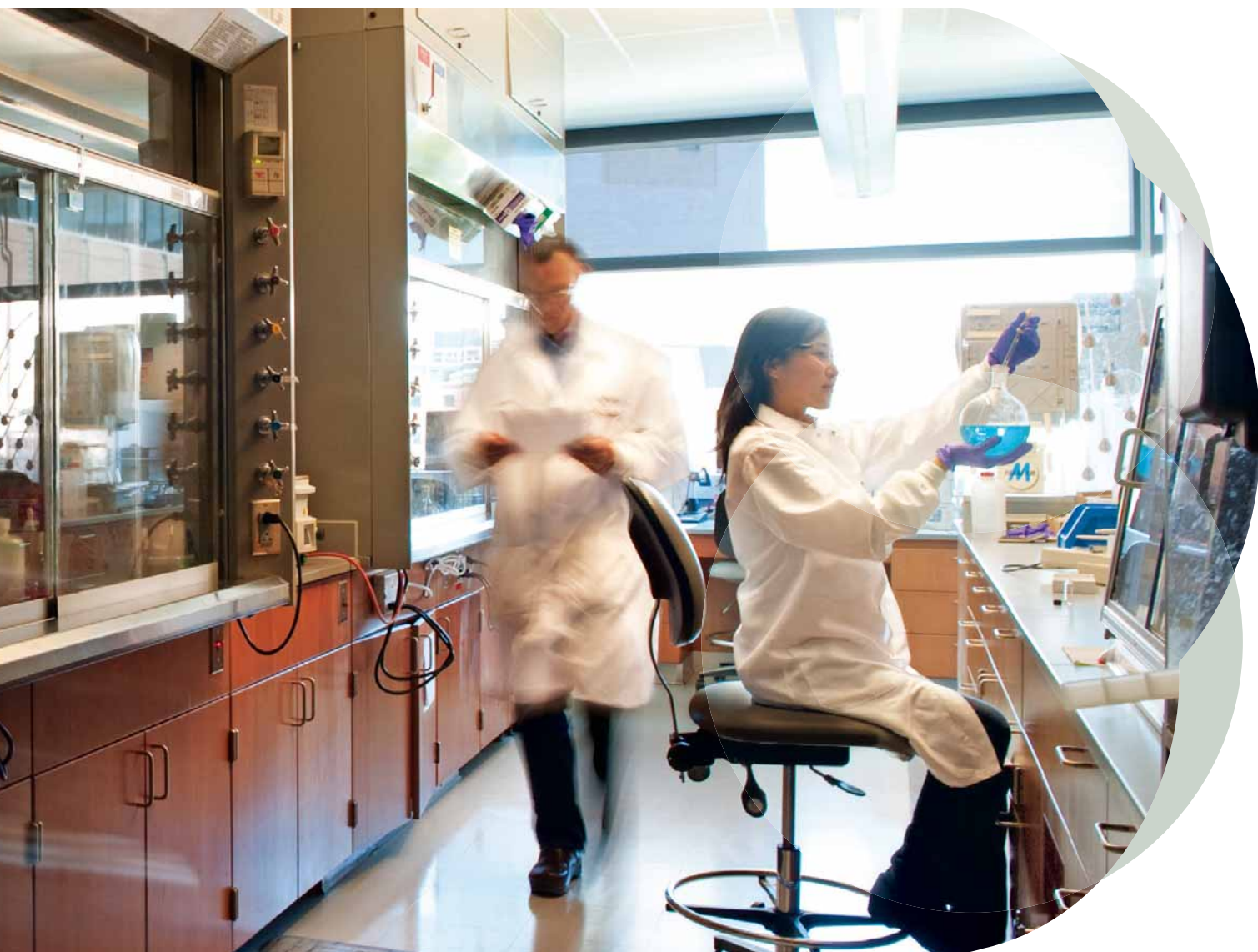
Podľa najnovšej americkej štúdie z tohto roku má tento fenomén značné nedostatky v publikovanej literatúre a je potrebný ďalší výskum, ktorý by vedecky podporil, aké stratégie pre komunikáciu s rodinami odmietajúcimi liečbu by boli najefektívnejšie [18].

## Literatúra

1. Chovancová D, Volčko V. Nespôsobilé osoby a informovaný súhlas. *Onkológia* 2015; 10(3): 196–197.
2. Fekete I. Občiansky zákonník 1. Veľký komentár. Bratislava: Eurokódex, 2011; 85.
3. Zákon č. 576/2004 Z. z. Zákon o zdravotnej starostlivosti, službách súvisiacich s poskytovaním zdravotnej starostlivosti a o zmene a doplnení niektorých zákonov.
4. Seneši Z. Kedy môže rodič odmietnuť liečbu dieťaťa? *Pediatrica pre prax* 2015; 16(2): 83–84.
5. Glasa J, Glasová H. Farmakoekonomika a etika v onkológii: etické dilemy a možnosti ich riešenia. *Onkológia* 2014; 9(1): 19–23.
6. Diekema DS. Parental refusals of recommended medical interventions. In: *Clinical Ethics in Pediatric*. Cambridge: Cambridge University Press 2011: 14–17.
7. Zákon č. 161/2015 Z. z. § 365 ods. 1 až 5 Civilného mimosporového poriadku.
8. Kolenová A. Onkologické ochorenia v detskom veku. Bratislava: Univerzita Komenského 2014.
9. Kaiserová E, Bubanská E, Oravkinová I et al. Incidencia a kurabilita nádorov v detskom veku v Slovenskej republike. *Onkológia* 2006; 1(3): 180–186.
10. Zuzak TJ, Kameda G, Schutze T et al. Contributing factors and outcomes of treatment refusal in pediatric oncology in Germany. *Pediatr Blood and Cancer* 2016; 63(10): 1800–805. doi: 10.1002/pbc.26111.
11. Patte C, Zimmermann M, Auperin A et al. Similar results are currently observed in the LMB and BFM studies for B-cell Non Hodgkin's lymphoma and B-AL allowing future common studies. *Pediatric Blood and Cancer* 2010; 55(5): 795.
12. Grootenhuis MA, Last BF. Adjustment and coping by parents of children with cancer: a review of the literature. *Support Care Cancer* 1997; 5(6): 466–484.
13. Křivohlavý J. Vážně nemocné mezi námi. Praha: Avicenum 1989.
14. Vágnerová M. Psychopatologie pro pomáhající profese. Praha: Portál 2012.
15. Sitorus RS, Moll AC, Suhardjono S et al. The effect of therapy refusal against medical advice in retinoblastoma patients in a setting where treatment delays are common. *Ophthalmic Genet* 2009; 30(1): 31–36. doi: 10.1080/13816810802464320.
16. Zákon č. 305/2005 Z. z. o sociálnoprávnej ochrane detí a sociálnej kuratele na zabezpečenie sústavnej ochrany života, zdravia a priaznivého psychického vývinu, fyzického vývinu a sociálneho vývinu dieťaťa.
17. Humeník I. Praktické otázky týkajúce sa informovaného súhlasu nespôsobilých pacientov. In: *Informovaný súhlas a inštitút predchádzajúceho prania*. Bratislava: Eurokódex 2012: 112.
18. Caruso Brown A. Refusal of Treatment for Childhood Cancer: A Systematic Review. *Pediatrics* 2017. In press.

# Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané 26. 9. 2017 ve FN Motol v Praze naleznete na [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz).



## PŘEV RATNÉ OBJEVY NOVÝCH LÉKŮ VZNIKAJÍ V LABORATOŘÍCH, ALE RODÍ SE UŽ V NAŠICH SRDCÍCH.

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

**Chcete vědět více o našem poslání? Navštivte [www.msd.cz](http://www.msd.cz)**



# Aktuality z odborného tisku

## Starting Dose of Sorafenib for the Treatment of Hepatocellular Carcinoma: A Retrospective, Multi-institutional Study

Reiss KA, Yu S, Mamtani R et al.

*J Clin Oncol* 2017; *JCO*2017738245. doi: 10.1200/JCO.2017.73.8245.



Sorafenib je v současné době jediným lékem schváleným k systémové terapii pro pacienty s pokročilým hepatocelulárním karcinomem. Existuje však jen málo údajů o tom, jak může počáteční dávka sorafenibu ovlivnit celkové přežití (overall survival – OS), nežádoucí účinky a celkové náklady na léčbu. Retrospektivně bylo v této analýze zhodnoceno 4 903 pacientů, léčených v období od ledna 2006 do dubna 2015, jimž byl podáván sorafenib pro hepatocelulární karcinom. Primárním cílem studie bylo zhodnocení OS pacientů léčených standardní počáteční dávkou sorafenibu (800 mg/den per os) oproti pacientům, kterým byla předepsána snížená počáteční dávka sorafenibu (< 800 mg/den per os). Celkem bylo hodnoceno 3 094 pacientů se standardní dávkou sorafenibu (63 %) a 1 809 pacientů se sníženou počáteční dávkou sorafenibu (37 %). I když měli pacienti se sníženou počáteční dávkou sorafenibu nižší OS (medián 200 vs. 233 dní; HR 1,10). Po statistickém zpracování nebyl v OS významný rozdíl (HR 0,92; 95% CI 0,83–1,01) s výrazným poklesem pod hranici noninferiority ( $p < 0,001$ ). U pacientů se sníženou počáteční dávkou sorafenibu, byly signifikantně nižší celkové kumulativní náklady na léčbu s menší pravděpodobností přerušení terapie sorafenibem z důvodu nežádoucích účinků (8,7 % vs. 10,8 %;  $p = 0,047$ ). Závěrem autoři uvádí, že zahájení léčby nižšími dávkami sorafenibu bylo spojeno s nižšími náklady na léčbu a nižší pravděpodobností přerušení léčby v důsledku nežádoucích účinků. Snížené dávkování nebylo spojeno s nižším OS v porovnání se standardním dávkováním.

## Non-V600 BRAF Mutations Define a Clinically Distinct Molecular Subtype of Metastatic Colorectal Cancer

Jones JC, Renfro LA, Al-Shamsi HO et al.

*J Clin Oncol* 2017; *JCO*2017714394. doi: 10.1200/JCO.2016.71.4394.



Molekulární diagnostické vyšetření se stalo nedílnou součástí léčebné strategie u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem (metastatic colorectal carcinoma – mCRC). Rozšířené mutační testy, jako je sekvenování nové generace (next generation sequencing – NGS), často identifikují mutace s nejasnými klinickými nebo prognostickými důsledky. Jedním z takových příkladů jsou mutace *BRAF*, které se vyskytují mimo kodon 600 (non-V600 *BRAF*). Autoři této multicentrické retrospektivní kohortové studie provedli analýzu klinických a patologických charakteristik včetně přežití u non-V600 *BRAF* mutací u mCRC. Jednalo se o pacienty, u kterých byly v NGS databázích identifikovány non-V600 *BRAF* mutace ve třech referenčních molekulárně genetických laboratořích. Celkem bylo provedeno testování u 9 643 pacientů s mCRC. Bylo identifikováno 208 pacientů s non-V600 *BRAF* mutacemi, tj. 2,2 % všech testovaných pacientů a 22 % všech identifikovaných mutací *BRAF*. Non-*BRAF* mutace byly častěji nalezeny u mladší nemocných (58 vs. 68 let), méně žen (46 vs. 65 %) a high-grade nádorů (13 vs. 64 %) a méně také u pravostranných primárních nádorů (36 vs. 81 %). Medián celkového přežití byl významně delší u pacientů non-V600 *BRAF* ve srovnání s pacienty s mutací V600 *BRAF* a wt*BRAF* (60,7 vs. 11,4 vs. 43,0 měsíce;  $p < 0,001$ ). V multivariační analýze byly mutace non-V600 *BRAF* nezávisle spojeny s lepším celkovým přežitím (HR 0,18;  $p < 0,001$ ). Non-V600 *BRAF* mutace se tak vyskytují u přibližně 2,2 % pacientů s mCRC a definují klinicky odlišný subtype CRC s dobrou prognózou.

## Effect of Age on the Efficacy and Safety of Lenvatinib in Radioiodine-refractory Differentiated Thyroid Cancer in the Phase III SELECT Trial

Brose MS, Worden FP, Newbold KL et al.

*J Clin Oncol* 2017; *JCO*2017716472. doi: 10.1200/JCO.2016.71.6472.



Ve studii SELECT lenvatinib významně prodloužil přežití bez progresu onemocnění (progression-free survival – PFS) proti placebu u pacientů s radiojód-refrakterním diferencovaným karcinomem štítné žlázy (radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer – RR-DTC). Aktuální předběžná subanalýza zkoumala vliv věku na účinnost a bezpečnost léčby lenvatinibem. Tato randomizovaná, dvojité zaslepená studie fáze III zahrnovala 392 pacientů s histologicky potvrzeným RR-DTC, kteří byli rozděleni do skupin podle věku ( $\leq 65$  nebo  $> 65$  let) a byli léčeni lenvatinibem 24 mg/den ( $n = 261$ ) nebo placebem ( $n = 131$ ). Medián věku v mladší skupině

byl 56 let, ve starší pak 71 let. Prodloužení PFS bylo ve srovnání s placebem zjištěno jak u mladší tak i starší věkové skupiny s mediánem PFS 20,2 vs. 3,2 měsíce (HR 0,19; 95% CI 0,13–0,27;  $p < 0,001$ ) a 16,7 vs. 3,7 (HR 0,27; 95% CI 0,17–0,43;  $p < 0,001$ ). Celkové přežití bylo delší u starších pacientů léčených lenvatinibem oproti placebo (HR 0,53; 95% CI 0,31–0,91;  $p = 0,020$ ). U mladších pacientů léčených lenvatinibem ve srovnání se staršími pacienty byla signifikantně lepší celková odpověď (72 vs. 55 %;  $p = 0,0038$ ), delší doba do první redukce dávky (3,7 vs. 1,5 měsíce) a nižší podíl stupně  $\geq 3$  nežádoucích účinků souvisejících s léčbou (67 % vs. 89 %;  $p < 0,001$ ). Tato subanalýza tedy prokázala prodloužení PFS léčbou lenvatinibem oproti placebo v obou věkových skupinách, i když u starších pacientů byla pozorována vyšší toxicita. Benefit v celkovém přežití u starších pacientů naznačuje, že léčba lenvatinibem by měla být zvažována v jakémkoli věku nemocných s RR-DTC.

### Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III BRAF-mutated Melanoma

**Long GV, Hauschild A, Santinami M et al.**

*N Engl J Med 2017. doi: 10.1056/NEJMoa1708539.*



Kombinovaná terapie inhibitorem BRAF dabrafenibem a inhibitorem MEK trametinibem zlepšila přežití pacientů s pokročilým melanomem s mutací *BRAF* V600. Cílem této analýzy bylo zjistit, zda adjuvantní podání dabrafenibu v kombinaci s trametinibem zlepší výsledky u pacientů s resekováným melanomem s mutací *BRAF* V600 stadia III. Celkem bylo ve dvojité zaslepené, placebem kontrolované studii fáze III hodnoceno 870 pacientů s kompletně resekováným melanomem stadia III s mutacemi *BRAF* V600E nebo V600K, kteří byli léčeni dabrafenibem v dávce 150 mg 2× denně plus trametinibem v dávce 2 mg 1× denně (kombinační léčba, 438 pacientů) nebo dostávali placebo (432 pacientů) po dobu 12 měsíců. Medián sledování byl 2,8 let při odhadované 3leté míře přežití bez relapsu 58 % pro kombinační terapii a 39 % ve skupině s placebem (HR 0,47; 95% CI 0,39–0,58;  $p < 0,001$ ). Tříleté přežití bylo 86 % ve skupině s kombinovanou léčbou a 77 % ve skupině s placebem (HR 0,57; 95% CI 0,42–0,79;  $p = 0,0006$ ). Bezpečnostní profil dabrafenibu a trametinibu byl shodný s profilem pozorovaným u pacientů s metastatickým melanomem. Adjuvantní podávání kombinované léčby dabrafenibem a trametinibem vedlo k významně nižšímu riziku recidivy u pacientů s melanomem stadia III s mutacemi *BRAF* V600E nebo V600K než při adjuvantním užívání placeba a nebylo spojeno s novými nežádoucími účinky léčby.

### Adjuvant Nivolumab versus Ipilimumab in Resected Stage III or IV Melanoma

**Weber J, Mandala M, Del Vecchio M et al.**

*N Engl J Med 2017. doi: 10.1056/NEJMoa1709030.*



Nivolumab a ipilimumab patří mezi checkpoint inhibitory, schválené pro léčbu pokročilého maligního melanomu (MM). Ve Spojených státech byl ipilimumab rovněž schválen jako adjuvantní léčba lokálně pokročilého MM. Cílem této studie bylo stanovit účinnost nivolumabu a ipilimumabu jako adjuvantní terapie u pacientů s resekováným pokročilým MM. V této randomizované, dvojité zaslepené studii fáze III bylo hodnoceno 906 pacientů (ve věku  $\geq 15$  let), kteří absolvovali úplnou resekci MM stadia IIIB, IIIC nebo IV, kteří byli léčeni buď nivolumabem v dávce 3 mg/kg každé 2 týdny (453 pacientů) nebo ipilimumabem v dávce 10 mg/kg každé 3 týdny čtyřmi dávkami a následně s aplikací každých 12 týdnů (453 pacientů). Nemocní byli léčeni po dobu 1 roku nebo do recidivy onemocnění či toxicity léčby. Při sledování minimálně 18 měsíců byla 12 měsíční doba přežití bez známek recidivy 70,5 % (95% CI 66,1–74,5) u skupiny s nivolumabem a 60,8 % (95% CI 56,0–65,2) ve skupině s ipilimumabem (HR 0,65; 95% CI 0,51–0,83;  $p < 0,001$ ). Nežádoucí účinky stupně 3 a 4 spojené s léčbou byly hlášeny u 14,4 % pacientů ve skupině léčené nivolumabem a u 45,9 % pacientů ve skupině léčené ipilimumabem. Léčba byla přerušena kvůli nežádoucím účinkům u 9,7 % a 42,6 % pacientů, resp. dvě úmrtí (0,4 %) související s toxickými účinky terapie byly hlášeny ve skupině léčené ipilimumabem více než 100 dnů po léčbě. Mezi pacienty, kteří podstoupili resekci MM stadia IIIB, IIIC nebo IV vedla adjuvantní léčba nivolumabem k výrazně delšímu přežití bez rekurence s nižším výskytem nežádoucích účinků 3 nebo 4 stupně, než adjuvantní léčba ipilimumabem.

### Adjuvant Capecitabine for Breast Cancer after Preoperative Chemotherapy

**Masuda N, Lee SJ, Ohtani S et al.**

*N Engl J Med 2017; 376(22): 2147–2159. doi: 10.1056/NEJMoa1612645.*



Přínos adjuvantní chemoterapie u pacientek, u kterých perzistuje reziduální invazivní karcinom po neoadjuvantní chemoterapii pro HER2 negativní karcinom prsu, zůstává nejasný. V této analýze bylo hodnoceno 910 žen s HER2 negativním invazivním karcinomem prsu po neoadjuvantní chemoterapii obsahujících antracyklin, taxan nebo obojí, které byly pooperačně léčeny buď



kapecitabinem nebo byly pouze sledovány. Přežití bez známek onemocnění (disease free survival – DFS) po 5 letech bylo delší ve skupině léčené kapecitabinem než u kontrolní skupiny (74,1 vs. 67,6 %; 95% CI 0,53–0,92;  $p = 0,01$ ). Celkové přežití (overall survival – OS) po 5 letech bylo u skupiny s kapecitabinem taktéž delší než v kontrolní skupině (89,2 vs. 83,6 %; 95% CI 0,39–0,90;  $p = 0,01$ ). U pacientek s triple-negativním onemocněním byla míra DFS 69,8 % ve skupině s kapecitabinem oproti 56,1 % u kontrolní skupiny (HR 0,58; 95% CI 0,39–0,87) a OS bylo 78,8 % oproti 70,3 % (HR 0,52; 95% CI 0,30–0,90). Hand-foot syndrom byl nejčastější nežádoucí reakcí na kapecitabin s výskytem u 73,4 % pacientů ve skupině léčené kapecitabinem. Po standardní neoadjuvantní chemoterapii obsahující antracyklin, taxan nebo obojí bylo přidání kapecitabinu do adjuvantní léčby bezpečné a účinné při prodloužení DFS a OS u pacientek s HER 2 negativním karcinomem prsu, které měly histologicky ověřen reziduální invazivní karcinom.

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

Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

## 4. NÁRODNÍ KONGRES O KOLOREKTÁLNÍM KARCINOMU

REGISTRACE SPUŠTĚNA

24.–25. 11. 2017

Vienna House Diplomat Prague Hotel  
[www.crc2017.cz](http://www.crc2017.cz)



**SGO**

SPOLEČNOST  
PRO GASTROINTESTINÁLNÍ  
ONKOLOGII ČLS JEP

Pořadatel:

Společnost pro gastrointestinální onkologii ČLS JEP

Ve spolupráci s:

Českou gastroenterologickou společností ČLS JEP

Českou chirurgickou společností ČLS JEP

Českou onkologickou společností ČLS JEP

Českou radiologickou společností ČLS JEP

Společností všeobecného lékařství ČLS JEP

Sekretariát kongresu a SGO:

GUARANT International / SGO / NKKK 2017

Na Pankráci 17, 140 21 Praha 4

Tel.: +420 284 001 444, fax.: +420 284 001 448

Web: [www.guarant.cz](http://www.guarant.cz), e-mail: [crc2017@guarant.cz](mailto:crc2017@guarant.cz)

# Podpořte činnost České onkologické společnosti!

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

1

Podpora vydávání a distribuce doporučených postupů „Modrá kniha ČOS“, časopisu Klinická onkologie a provozu internetových stránek ČOS „www.linkos.cz“.

2

Podpora a propagace Národního onkologického programu ČR.

3

Podpora a propagace vzdělávání a výzkumu v onkologii (včetně akademických klinických studií) v ČR.

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

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



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

## Děkujeme!

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

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

[www.linkos.cz](http://www.linkos.cz)

Česká  
onkologická  
společnost ČLS JEP

# Onkologie v obrazech

## Vznik postradiační reakce a její preventivní ošetřování během radioterapie

Jurišová Z.

Klinika radiační onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno



Zuzana Jurišová  
Klinika radiační onkologie  
Masarykův onkologický ústav  
Žlutý kopec 7  
656 53 Brno  
e-mail: zjurisova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 26. 9. 2017

Pacient ve věku 59 let s diagnózou tumor hypofaryngu – histologicky nížce diferencovaný spinocelulární karcinom. Inoperabilní, indikován ke kurativní chemoradioterapii.

V rámci prevence postradiační dermatitidy byla zvolena aplikace fólie Mepitel Film.



Obr. 1. Preventivní aplikace fólie před zahájením léčby.



Obr. 2. Třicátá frakce radioterapie, po třetí sérii chemoterapie – počínající vlhká deskvamace, na kterou bylo aplikováno pěnové krytí Mepilex Lite.



Obr. 3. Rozvoj vlhké deskvamace – 2 dny po léčbě. Pokračování v péči o reakci aplikací pěnového krytí Mepilex Lite.

Fólie byla lepena každé pondělí před ozářením a odlepena každý pátek po poslední frakci záření.

I přes preventivní opatření s použitím folie došlo u pacienta k vystupňované postradiační reakci ve formě vlhké

deskvamace. Tato postradiační dermatitida se zhojila do 6 týdnů po skončení radioterapie.

Na ozařovnách radiologičtí asistenti a lékaři sledují celkový stav pacienta a nežádoucí účinky léčby. V případě po-

lykacích potíží jsou pacienti odesíláni do nutriční ambulance a při bolestech je zahájena analgetická léčba. ORL kontroly provádíme minimálně jedenkrát za týden, v případě potřeby je možno využít i odbornou konzultaci psychologa.



Obr. 4. Reakce zhojena 16 dní po radioterapii.



Obr. 5. Kosmetický efekt 6 týdnů po ozařování.

# STUDIO MEDICÍNA

Diskusní televizní pořad  
redakce AM Review



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



Reprízy každý den v různých časech  
nebo kdykoli na internetu [prahatv.eu](http://prahatv.eu)

Aktuálně vysíláme:

## PŘEDVOLEBNÍ KULATÝ STŮL O BUDOUCNOSTI ZDRAVOTNICTVÍ: OBČAN JAKO KLIENT ZDRAVOTNÍHO SYSTÉMU

Hosté:

J. Běhounek (ČSSD), L. Hovorka (KDU-ČLS), S. Marková (KSČM),  
J. Skalický (TOP 09), B. Svoboda (ODS), A. Vojtěch (ANO)

V archivu ke zhlédnutí mimo jiné:

Finance jsou Damoklův  
meč visící (nejen) nad  
hematoonkologií

Pro pacienta s rakovinou vždy  
nejvhodnější lék? Zapomeňte!

Osamělí hrdinové – vážně  
nemocné děti, jejich rodiny  
i jejich zdravotníci

Pacienti s mnohočetným  
myelomem – oběti úspěchu  
medicíny?

# KLINICKÁ ONKOLOGIE

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

## REDAKČNÍ RADA

### Výkonná redakční rada (Brno)

#### vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

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

#### výkonný redaktor

doc. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

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

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

### Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno  
doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc., Košice  
doc. MUDr. Soňa Balogová, Ph.D., Bratislava  
MUDr. Otakar Bednařík, Brno  
doc. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. David Cibula, CSc., Praha  
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D., Olomouc  
doc. MUDr. Luboš Drgoňa, CSc., Bratislava  
doc. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha  
doc. MUDr. David Feltl, Ph.D., Ostrava  
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc  
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava  
MUDr. Jana Halámková, Ph.D., Brno

prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha  
doc. MUDr. Alexandra Kolenová, Ph.D., Bratislava  
assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul  
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc., Brno  
prof. MUDr. Michal Mego, DrSc., Bratislava  
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc  
prof. MUDr. Beata Mladosičová, CSc., Bratislava  
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha  
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava  
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., MPH, Bratislava  
prof. Yeon Hee Park, M.D., Ph.D., Seoul  
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha  
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno  
doc. MUDr. Luděk Pour, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Igor Puzanov, Nashville  
prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc., Praha  
prof. MUDr. Miroslav Ryska, CSc., Praha  
prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., Hradec Králové  
prof. MUDr. Jana Skříčková, CSc., Brno  
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno  
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň  
MUDr. Tomáš Šálek, Bratislava  
prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., Brno  
doc. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno  
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno  
prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc., dr. h. c., Brno  
prof. MUDr. Rostislav Vyzula, CSc., Brno  
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice

### Čestní členové redakční rady

prof. MUDr. Josef Bilder, CSc., Brno  
prof. Sándor Eckhardt, Budapešť  
prof. MUDr. Ludovít Jurga, DrSc., Trnava  
doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava

prof. Jan Klasterský, Brusel  
prof. MUDr. Josef Koutecký, DrSc., Praha  
prof. RNDr. Jan Kovařík, DrSc., Brno  
prof. MUDr. Ivan Kozá, DrSc., Bratislava

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

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2017

## KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně.

Registrační značka MK ČR 5158. ISSN 0862-495X. ISSN pro on-line přístup 1802-5307.

On-line verze je přístupná na adrese [www.linkos.cz](http://www.linkos.cz) nebo [www.klinickaonkologie.cz](http://www.klinickaonkologie.cz).

Časopis Klinická onkologie je uveden na Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik vydávaných v ČR, schváleném Radou pro výzkum a vývoj vlády ČR.

Nakladatel: Ambit Media, a. s., Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5-Smíchov, tel./fax: +420 222 352 573/572.

Odpovědná redaktorka: Mgr. Veronika Hrabalová, e-mail: [veronika.hrabalova@ambitmedia.cz](mailto:veronika.hrabalova@ambitmedia.cz).

Adresa redakce: Ambit Media, a. s., Media Hall, Bidláky 20, 639 00 Brno.

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

Vychází 6krát ročně. Předplatné na rok 2017 činí 540 Kč (22 eur).

Informace o předplatném podává a objednávky předplatitelů přijímá: e-mail: [predplatne@ambitmedia.cz](mailto:predplatne@ambitmedia.cz).

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

Rukopisy vkládejte do redakčního systému: <http://redakce.ambitmedia.cz/ko>; případně dotazy směřujte na e-mail [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz)  
Redakce časopisu Klinická onkologie, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno, e-mail: [klinickaonkologie@mou.cz](mailto:klinickaonkologie@mou.cz).

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

Toto číslo vychází 16. 10. 2017.

Votrient (pazopanib) prokázal v 1. linii mRCC vysokou účinnost,<sup>1,2,3</sup>  
odlišný bezpečnostní profil vs. sunitinib<sup>2</sup> a preferenci pacienty<sup>4</sup>



**Votrient**<sup>®</sup>  
pazopanibum  
SÍLA PRVNÍ LINIE



# SÍLA NA CESTU VPŘED

## ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

**VOTRIENT 200 mg, potahované tablety**  
**VOTRIENT 400 mg, potahované tablety**

**Složení:** Pazopanibum 200 mg., Pazopanibum 400 mg. **Indikace:** Přípravek Votrient je indikován u dospělých k podávání v první linii léčby pokročilého karcinomu ledviny a k léčbě pacientů, kterým byly dříve podávány cytokyiny pro pokročilé onemocnění. Votrient je indikován k léčbě dospělých pacientů s vybranými subtypy pokročilého sarkomu měkkých tkání, kteří podstoupili chemoterapii pro metastazující onemocnění nebo u pacientů, u kterých došlo k progresi onemocnění během 12 měsíců po (neo)adjuvantní terapii. **Dávkování:** Doporučená dávka pazopanibu u obou indikací je 800 mg jednou denně. Dávka se upravuje postupným přidáváním 200 mg podle individuální snášenlivosti. **Speciální skupiny pacientů:** U poruchy renálních funkcí u pacientů s clearance kreatininu nad 30 ml/min není nutno dávku upravovat. Pacientům s clearance kreatininu nižší než 30 ml/min (0,5 ml/s) je třeba věnovat zvýšenou pozornost. U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou funkce jater je doporučeno podávat léčbu pazopanibem v dávce 800 mg, event. podle transamináz a hladin sérového bilirubinu dávku sníženou na 200 mg viz SPC. Přísnější kritérium se vztahuje na pacienty, u kterých dochází k současnému zvýšení transamináz a bilirubinu během léčby, viz SPC (vyjma Gilbertova sy). Současné užívání pazopanibu a simvastatinu (statinů) zvyšuje riziko zvýšení hladin ALT a má protibat s opatrností a za pečlivého monitorování. Pazopanib se nedoporučuje u pacientů s těžkou poruchou jaterních funkcí. Přípravek nemá být podáván dětem mladším 2 let. O použití pazopanibu u pacientů ve věku 65 let a starších jsou k dispozici pouze omezené údaje. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Těžká porucha jaterních funkcí. **Zvláštní upozornění/opatření:** Byly hlášeny případy jaterního selhání (včetně případů končících úmrtím). V klinických studiích s pazopanibem bylo pozorováno zvýšení sérových transamináz ALT, AST, většinou izolovaně bez zvýšení alkalické fosfatázy nebo bilirubinu, s větším rizikem u starších 60 let. Jaterní testy je třeba provést před zahájením léčby, ve 3., 5., 7. a 9. týdnu léčby, dále ve 3. a ve 4. měsíci a s doporučením pokračovat v jejich pravidelném monitorování i po 4. měsíci. V klinických studiích s pazopanibem se objevily případy hypertenze, prodloužení QT intervalu a torsade de pointes. Doporučuje se provést úvodní a pravidelné monitorování EKG a hladiny elektrolytů. Pazopanib má být podáván pacientům s rizikem gastrointestinální perforace nebo vzniku píštělí s opatrností. V klinických studiích s pazopanibem byly zaznamenány případy hypotyreózy, proteinurie a kožních infekcí. V souvislosti s užíváním pazopanibu byla vzácně hlášena intersticiální plicní nemoc (ILD)/pneumonitida. Přípravek nemá být podáván pediatrickým pacientům mladším než 2 roky. **Interakce:** Vzhledem k riziku zvýšení expozice pazopanibu je třeba se vyvarovat souběžné léčby silnými inhibitory CYP3A4, glykoproteinem P (P-gp) nebo BCRP. V nezbytných případech souběžné léčby se silnými inhibitory CYP3A4 by se měl pazopanib podávat ve snížené dávce 400 mg denně. Vzhledem k riziku snížení expozice pazopanibu je třeba se vyvarovat podávání induktorů CYP3A4 nebo inhibitorů protonové pumpy (esomeprazol)

viz SPC. Protože pazopanib je inhibitor UGT1A1, je při souběžném podávání pazopanibu a substrátů uridin difosfát-glukuronosyltransferázy 1A1 (UGT1A1) (např. irinotekan) nutno postupovat s opatrností. V průběhu léčby pazopanibem se nesmí pít grapefruitový džus. **Těhotenství a kojení:** Adekvátní údaje o podávání pazopanibu těhotným ženám nejsou k dispozici. Studie na zvířatech prokázaly reprodukční toxicitu. Možné riziko pro člověka není známo. Pazopanib lze v těhotenství podat pouze v případě, že klinický stav ženy vyžaduje léčbu pazopanibem. Ženy ve fertilním věku by měly být poučeny, aby v průběhu léčby pazopanibem \*a nejméně 2 týdny po jejím ukončení\* užívaly vhodnou metodu antikoncepce a vyvarovaly se otěhotnění. Pacienti – muži (včetně těch, kteří podstoupili vasektomii) musí používat kondom během pohlavního styku v průběhu užívání pazopanibu a nejméně 2 týdny po poslední dávce pazopanibu, aby těhotné partnerky a partnerky v reprodukčním věku uchránili od možného vystavení léku. V průběhu léčby pazopanibem by mělo být kojení přerušeno. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté nežádoucí účinky: snížení chuti k jídlu, průjem, změna barvy vlasů a kůže, hypertenze, nauzea, únava, anorexie, zvracení, dysgezie, zvýšení hladiny ALT, AST a bolesti břicha. Časté nežádoucí účinky: trombocytopenie, neutropenie, leukopenie, hypotyreóza, hypofosfatémie, bolest hlavy, závrať, letargie, parestezie, návaly horka, epistaxe, dysfonie, dyspepsie, stomatitida, flatulence, abdominální distenze, porucha jaterních funkcí, hyperbilirubinémie, vyrážka, alopecie, syndrom palmo-plantární erytrodysestezie, hypopigmentace kůže, erytém, pruritus, depigmentace kůže, suchá kůže, hyperhidróza, myalgie, svalové spazmy, proteinurie, asténie, zánět sliznic, otok, bolest na hrudi, snížení hmotnosti, zvýšení hladiny kreatininu v krvi, zvýšení hladiny bilirubinu v krvi, snížení počtu bílých krvinek, zvýšení lipázy, zvýšení krevního tlaku, zvýšení TSH v krvi, zvýšení GMT, zvýšení jaterních enzymů, nové mikroangiopatická angiopatie a zadní reverzibilní encefalopatie (PRES). Pazopanib není indikován do kombinace s jinou léčivou látkou. **Další nežádoucí účinky – viz úplná informace o přípravku.** **Podmínky uchovávání:** Žádné zvláštní podmínky uchovávání se nevyžadují. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** HDPE lahvička s dětským bezpečnostním uzávěrem, 30, 60 nebo 90 tablet. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. **Reg. číslo:** EU/1/10/628/001-004. **Datum registrace:** 14. 6. 2010. **Datum poslední revize textu SPC:** 13.10.2016. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis Europharm Limited, Frimley Business Park, Camberley GU16 7SR, Velká Británie.

*Výdej přípravku je vázán na lékařský předpis, hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.*

\*Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.

## Reference:

1. Sternberg CN et al. Pazopanib in Locally Advanced or Metastatic Renal Cell Carcinoma: Results of a Randomized Phase III Trial, JCO 2010
2. Motzer RJ et al. Pazopanib versus Sunitinib in Metastatic Renal-Cell Carcinoma, NEJM 2013
3. Motzer RJ et al. Overall Survival in Renal-Cell Carcinoma with Pazopanib versus Sunitinib, NEJM 2014
4. Escudier B et al. Randomized, Controlled, Double-Blind, Cross-Over Trial Assessing Treatment Preference for Pazopanib Versus Sunitinib in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma: PISCES Study, JCO 2014

**KEYTRUDA**

je v monoterapii indikována k léčbě pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých.<sup>1</sup>

**Zkrácená informace o léčivém přípravku. KEYTRUDA 50 mg prášek pro koncentrát pro infuzní roztok.**

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

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

**Reference:** 1. SPC přípravku Keytruda, 2016.

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

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

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

0NCO-1195387-0000

**MSD Oncology**