

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Z obsahu:

Význam aberantní metylace DNA pro diagnostiku a terapii nádorových onemocnění

Tailoring postoperative management through sentinel lymph node biopsy
in low- and intermediate-risk endometrial cancer – the SENTRY clinical trial

Tebentafusp v léčbě metastatického uveálního melanomu – první pacientka léčená
v České republice



DALŠÍ PERSPEKTIVY v léčbě onkologických onemocnění.¹

každých 6 týdnů 400 mg
každě 3 týdny 200 mg
KEYTRUDA®
- možnost flexibilního dávkování¹

Zkrácená informace o léčivém přípravku

Název přípravku: KEYTRUDA® 25 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok. **Kvalitativní a kvantitativní složení:** Injekční lahvička se 4 ml koncentrátu obsahuje 100 mg pembrolizumabu. **Pomocné látky:** Sacharóza, histidin, polysorbát 80, monohydrát histidin-hydrochloridu, voda pro injekci. **Indikace:** Přípravek KEYTRUDA je indikován k léčbě: 1. v monoterapii dospělých a dospívajících ve věku 12 let a starších s pokročilým (neresekovatelným nebo metastazujícím) melanomem; 2. v monoterapii k adjuvantní léčbě dospělých a dospívajících ve věku 12 let a starších s melanomem stadia IIB, IIC nebo III, kteří podstoupili kompletní resekci; 3. v monoterapii indikován k adjuvantní léčbě dospělých s nemalobuněčným karcinomem plic, kteří mají vysoké riziko recidivy po kompletní resekci a léčbě chemoterapií na bázi platinu; 4. v monoterapii v první linii metastazujícího nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1, se skóre nádorového podílu (TPS) $\geq 50\%$ bez pozitivních nádorových mutací EGFR nebo ALK; 5. v kombinaci s chemoterapií pemtrexedem a platinou v první linii u metastazujícího neskvamózního NSCLC u dospělých, jejichž nádory nevykazují pozitivní mutace EGFR nebo ALK; 6. v kombinaci s karboplatinou a (nab)paklitaxelem v první linii u metastazujícího skvamózního NSCLC u dospělých; 7. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího NSCLC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s TPS $\geq 1\%$, a kteří již byli léčeni nejméně jedním chemoterapeutickým režimem. Pacienti s pozitivními nádorovými mutacemi EGFR nebo ALK musí být také předtím, než dostanou přípravek KEYTRUDA, léčeni cílenou terapií; 8. v monoterapii u dospělých a pediatrických pacientů od 3 let s relabujícím nebo refrakterním klasickým Hodgkinovým lymfomem, u nichž selhala autologní transplantace kmenových buněk (ASCT), nebo byli léčeni alespoň dvěma předchozími terapiemi, přičemž ASCT není možností léčby; 9. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, kteří již byli léčeni chemoterapií obsahující platinu; 10. v monoterapii u lokálně pokročilého nebo metastazujícího uroteliálního karcinomu u dospělých, u kterých není chemoterapie obsahující cisplatinu vhodná a u kterých nádory vykazují expresi PD-L1 s kombinovaným pozitivním skóre (CPS) ≥ 10 ; 11. v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií platinou a fluorouracilem (5-FU) v první linii u metastazujícího nebo nesekovatelného recidivujícího skvamózního karcinomu hlavy a krku (HNSCC) u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 1 ; 12. v monoterapii u recidivujícího nebo metastazujícího HNSCC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s TPS $\geq 50\%$, a kteří podstoupili nebo podstoupili chemoterapii obsahující platinu; 13. u dospělých v kombinaci s axitinibem v první linii u pokročilého renálního karcinomu (RCC); 14. v kombinaci s lenvatinibem v první linii u pokročilého RCC u dospělých; 15. v monoterapii k adjuvantní léčbě dospělých s RCC se zvýšeným rizikem recurence po nefrektomii, nebo po nefrektomii a resekci metastatických lézí; 16. Nádory MSI-H/dMMR. **Kolorektální karcinom (CRC), v monoterapii pro dospělé s MSI-H nebo dMMR CRC - v první linii metastazujícího CRC,** - po předchozí kombinované léčbě založené na fluoropyrimidinu u nesekovatelného nebo metastazujícího CRC; **Nádory kromě CRC, v monoterapii k léčbě následujících MSI-H nebo dMMR nádorů s:** - pokročilým nebo recidivujícím endometriálním karcinomem, u kterých došlo k progresi onemocnění při nebo po předchozí léčbě založené na platině v jakémkoli režimu léčby a kteří nejsou kandidáty pro kurativní chirurgickou léčbu nebo radioterapii, - nesekovatelnými nebo metastazujícími nádory žaludku, tenkého střeva nebo žlučových cest, u kterých došlo k progresi onemocnění během nebo po alespoň jedné předchozí léčbě; 17. v kombinaci s chemoterapií na bázi platinu a fluoropyrimidinu v první linii k léčbě pacientů s lokálně pokročilým nesekovatelným nebo metastazujícím karcinomem jícnu u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 10 ; 18. v kombinaci s chemoterapií v neoadjuvantní léčbě a následně po chirurgické léčbě v monoterapii v adjuvantní léčbě u dospělých s lokálně pokročilým nebo časným stadiem triple-negativního karcinomu prsu (TNBC) s vysokým rizikem recidivy; 19. v kombinaci s chemoterapií u lokálně rekurentního nesekovatelného nebo metastazujícího TNBC u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 10 a kteří dosud nebyli léčeni chemoterapií pro metastatické onemocnění; 20. v kombinaci s lenvatinibem u pokročilého nebo rekurentního endometriálního karcinomu u dospělých, u nichž došlo k progresi onemocnění během předchozí léčby terapií obsahující platinu v jakémkoli režimu nebo po ní a kteří nejsou kandidáty na chirurgický zákrok nebo ozařování; 21. v kombinaci s chemoterapií s nebo bez bevacizumabu u perzistentního, recidivujícího nebo metastazujícího karcinomu děložního hrdla u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 1 ; 22. v kombinaci s trastuzumabem, fluoropyrimidinem a chemoterapií obsahující platinu v první linii léčby lokálně pokročilého nesekovatelného nebo metastazujícího HER2-positivního adenokarcinomu žaludku nebo gastroezofageální jícnu u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 1 ; *23. v kombinaci s chemoterapií obsahující fluoropyrimidin a platinu indikován v první linii k léčbě lokálně pokročilého nesekovatelného nebo metastazujícího HER2-negativního adenokarcinomu žaludku nebo gastroezofageální jícnu u dospělých, jejichž nádory exprimují PD-L1 s CPS ≥ 1 ; *24. v kombinaci s gemcitabinem a cisplatinou indikován v první linii k léčbě lokálně pokročilého nesekovatelného nebo metastazujícího karcinomu žlučových cest u dospělých. **Dávkování a způsob podání:** Doporučená dávka přípravku KEYTRUDA u dospělých je 200 mg každé 3 týdny nebo 400 mg každých 6 týdnů. Doporučená dávka přípravku KEYTRUDA v monoterapii u pediatrických pacientů ve věku od 3 let výše s cHL nebo pacientů od 12 let výše s melanomem je 2 mg/kg tělesné hmotnosti (bw - bodyweight) (až do maximální dávky 200 mg) každé 3 týdny. Dávka se podává intravenózní infuzí po dobu 30 minut. Při podávání přípravku KEYTRUDA v rámci kombinace s chemoterapií je nutno přípravek KEYTRUDA podávat první. Pacienti je nutno přípravek KEYTRUDA léčit do progresie nemoci nebo do vzniku nepřijatelné toxicity (a až po maximální dobu trvání léčby, pokud je to pro indikaci specifikováno). Byly pozorovány atypické odpovědi (tj. počáteční přechodné zvětšení nádoru nebo vznik nových malých lézí během prvních několika měsíců, následované zmenšením nádoru). Klinicky stabilní pacienti s počátečními známkami progresie nemoci se doporučuje léčit dál, dokud se progresie nepotvrdí. Další podrobné informace ohledně dávkování a trvání léčby v jednotlivých indikacích udává Souhrn údajů o přípravku (SPC). Dávkování přípravků v kombinaci s pembrolizumabem viz SPC pro souběžně použitá léčiva. **Zvláštní upozornění:** Vyhodnocení stavu PD-L1: Při hodnocení stavu tumoru s ohledem na PD-L1 je důležité zvolit dobře validovanou a robustní metodiku. Aby se zlepšila sledovatelnost biologických léčivých přípravků, má se piehledně zaznamenat název podaného přípravku a číslo šarže. **Imunitně zprostředkované nežádoucí účinky:** U pacientů, kterým byl podáván pembrolizumab, se vyskytly imunitně zprostředkované nežádoucí účinky, včetně závažných a fatálních, většina z nich byla reverzibilní a zvládla se přerušením podávání pembrolizumabu, podáním kortikosteroidů a/nebo podpůrnou léčbou. Mohou se vyskytnout nežádoucí účinky postihující současně více tělesných systémů, např. pneumonitida, kolitida, hepatitida, nefritida, endokrinopatie, kožní nežádoucí účinky, další nežádoucí účinky podrobně uvedeny v SPC. Pembrolizumab musí být trvale vysazen při jakémkoli imunitně zprostředkovaném nežádoucím účinku stupně 3, který se opakuje, nebo při jakémkoli imunitně zprostředkovaném nežádoucím toxicitě stupně 4, kromě endokrinopatií, které jsou zvládnuty hormonální substituční. Pembrolizumab může být znovu nasazen po 12 týdnech po poslední dávce přípravku KEYTRUDA, pokud se nežádoucí účinek zlepšil na stupeň ≤ 1 a dávka kortikosteroidů byla redukována na ≤ 10 mg prednisonu nebo jeho ekvivalentu za den. Léčba pembrolizumabem může u příjemců transplantovaných solidních orgánů zvýšit riziko rejekce, je nutné zvážit benefit/risk. U pacientů s cHL, podstupujících alogenní transplantaci kostní dřeně, byly pozorovány případy GVHD a VOD. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Interakce:** Nebyly provedeny žádné formální farmakokinetické studie lékových interakcí. Pembrolizumab se odstraňuje z oběhu katabolizací, žádné metabolické lékové interakce se nepředpokládají. Před nasazením pembrolizumabu je nutno se vyhnout podávání systémových kortikosteroidů nebo imunosupresiv, a to kvůli jejich potenciálnímu vlivu na farmakodynamickou aktivitu a účinnost pembrolizumabu. Systémové kortikosteroidy nebo jiná imunosupresiva však lze používat po nasazení pembrolizumabu k léčbě imunitně zprostředkovaných nežádoucích účinků. **Těhotenství, kojení:** Údaje o podávání pembrolizumabu těhotným ženám nejsou k dispozici. Ženy ve fertilním věku musí během léčby a nejméně 4 měsíce po poslední dávce pembrolizumabu používat účinnou antikoncepci. Není známo, zda se pembrolizumab vylučuje do lidského mateřského mléka. Je nutno se rozhodnout, zda přerušit kojení nebo vysadit pembrolizumab. **Nežádoucí účinky:** Velmi časté ($\geq 1/10$): infekce močových cest, anémie, neutropenie, trombocytopenie, hypotyreóza, snížení chuti k jídlu, hypokalémie, insomnie, periferní neuropatie, dysgeuzie, hypertenze, dyspnoe, kašel, dysfonie, příjem, bolest břicha, nauzea, zvracení, zácpa, vyrážka, pruritus, alopecie, muskuloskeletální bolest, myozitida, artralgie, bolest v končetině, únava, astenie, edém, pyrexie, zvýšení ALT, AST, lipázy a kreatininu v krvi; Časté ($\geq 1/100$ až $< 1/10$): pneumonie, *leukopenie, lymfopenie, febrilní neutropenie, reakce spojená s infúzí, hypertyreóza, tyreoiditida, adrenální insuficience, hypokalémie, hyponatremie, *závrť, letargie, suché oko, srdeční arytmie (včetně fibrilace síní), pneumonitida, kolitida, pankreatitida, gastritida, suchá ústa, hepatitida, těžké závažné reakce, suchá kůže, erytém, vitiligo, ekzém, akneiformní dermatitida, artritida, nefritida, akutní poškození ledvin, onemocnění podobné chřipce, zimnice, hyperkalémie, zvýšení ALP, bilirubinu a amylázy v krvi. Udána vždy nejvyšší frekvence výskytu. Přípravek KEYTRUDA, v monoterapii nebo v kombinované terapii, je nutno trvale vysadit při nežádoucích účincích stupně 4 nebo recidivujících imunitně zprostředkovaných nežádoucích účincích stupně 3, pokud není v tabulce 1 SPC uvedeno jinak. Podrobnější informace o výskytu a úpravách dávky při léčbě v monoterapii nebo v kombinaci s chemoterapií, axitinibem či lenvatinibem viz SPC přípravků. Při hematologické toxicitě stupně 4, pouze u pacientů s cHL, se přípravek KEYTRUDA musí vysadit do zlepšení nežádoucích účinků na stupeň 0 až 1. **Upozornění:** Pembrolizumab může mít mírný vliv na schopnost řídit motorová vozidla a obsluhovat stroje. Po podání pembrolizumabu byla hlášena únava. **Doba použitelnosti:** 2 roky. Z mikrobiologického hlediska má být přípravek, jakmile se naředí, použit okamžitě. Není-li použit okamžitě, chemická a fyzikální stabilita přípravku po otevření před použitím byla prokázána na dobu 96 hodin při 2 až 8 °C. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 až 8 °C). **Balení:** Jedna 10ml injekční lahvička se 4 ml koncentrátu obsahuje 100 mg pembrolizumabu. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Merck Sharp & Dohme B.V., Waarderweg 39, 2031 BN Haarlem, Nizozemsko. Kontaktní e-mail: dpoc_czechslovak@merck.com. **Registrační číslo:** EU/1/15/1024/002. **Datum poslední revize textu:** 11. 12. 2023. RCN 000025779-CZ; 000026026-CZ. Způsob výdeje: Vázán na lékařský předpis. Způsob úhrady: Léčivý přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění (indikace 1,2,4,5,6,9,11,14,16-pouze MSI-H/dMMR metastazující CRC v 1. linii, 18,19,20,21) více na www.sukl.cz.

*Věnujte prosím pozornost změnám v informacích o léčivém přípravku.

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

Reference: 1. SPC přípravku KEYTRUDA® na www.sukl.cz, datum poslední revize 11. 12. 2023.



MSD ONCOLOGY

Copyright © 2024 Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA a přidružené společnosti. Všechna práva vyhrazena. Merck Sharp & Dohme s.r.o., Na Valentince 3336/4, 150 00 Praha 5, Česká republika, IČ: 028462564, Tel.: +420 277 050 000, e-mail: dpoc_czechslovak@merck.com, www.MSD.cz CZ-KEY-00996 (2.0), leden 2024

Neuroonkologie jako perspektivní oblast medicíny

Brain Awareness Week je celosvětová iniciativa zaměřená na zvýšení povědomí veřejnosti o významu mozku a neurověd. Byla založena v roce 1995 organizací Dana Alliance for Brain Initiatives a koordinuje ji Dana Foundation, soukromá filantropická organizace se sídlem v New Yorku, která se zasazuje o rozvoj neurověd podporou multidisciplinární spolupráce v oblastech, jako jsou neurovědy a etika, právo, politika, humanitní vědy a umění. V České republice tradici Týdne mozku inicioval a založil uznávaný neurovědec, prof. Josef Syka, v roce 1998. Tato událost se koná každoročně v první polovině března a je pořádána Akademií věd České republiky. V týdnu 11.–17. 3. 2024 proběhl již 25. ročník, opět s několika přednáškami a tematickými videi týkajícími se mozkových nádorů, prezentovanými nejen ve spolupráci s Národním ústavem pro výzkum rakoviny.

Neuroonkologie je specializované multidisciplinární odvětví medicíny zahrnující neurochirurgii, klinickou a radiační onkologii, neurologii, neuropatologii, neuroradiologii a nukleární medicínu a další obory jako je např. logopedie, klinická psychologie nebo paliativní péče. I přestože u nás ani ve většině

zahraničních zemí neexistuje žádný akreditovaný specializační nastavbový obor. Řada odborníků z výše uvedených disciplín, kteří se zabývají nádory mozku, se právem nazývá neuroonkology. V porovnání s jinými specializovanými oblastmi onkologie se však jedná o velmi malý, až okrajový obor, s pouze limitovanými možnostmi léčby a velmi špatnou prognózou většiny pacientů diagnostikovaných s nádorem v oblasti centrální nervové soustavy. Zatímco jsme svědky větších či menších průlomů a registrací nových léků či zavádění nových postupů u většiny nádorů dospělých, v neuroonkologii byla většina studií za posledních 20 let negativních, nebo nebyly výsledky dostatečně přesvědčivé, aby se staly jednoznačně uznávaným standardem léčby s plošnou úhradou (příkladem je terapie pomocí systému Optune u glioblastomů).

V poslední době však zaznamenáváme určitou naději s pozitivními výsledky studií hodnotících účinek dabrafenibu a trametinibu u pacientů s V600 BRAF mutovanými gliomy, nebo účinek IDH inhibitoru vorasidenibu u IDH mutovaných gliomů. Také v případě léčby mozkových metastáz pozorujeme individualizaci jak pa-

liativní radioterapie, tak systémové léčby a dříve tušený nihilismus spojený s diagnózou mozkových metastáz tak již není na místě. Posílení zájmu mladých lékařů o obor neuroonkologie může být podporováno nejen Týdnem mozku, ale také každoročním neuroonkologickým sympoziem, které se koná v rámci Brněnských onkologických dnů (tzv. GlioMeeting) a v rámci PragueONCO. V příštím roce ve dnech 16.–19. 10. 2025 pak bude Česká republika poprvé hostit výroční konferenci Evropské neuroonkologické společnosti (EANO 2025, Prague) ve spolupráci s Neuroonkologickou sekcí České onkologické společnosti. Příležitost k posílení internacionalizace také poskytne mezinárodní kolokvium Current challenges in neurooncology: meet the Young Neuro-Oncologist experts, které se bude letos konat koncem června v Brně.

Je tedy možné důvodně očekávat, že i v neuroonkologii pravděpodobně budeme v brzké době svědky nových diagnosticko-terapeutických postupů s úspěchem pro naše pacienty. Buďte také u toho.

*doc. MUDr. Tomáš Kazda, Ph.D.
Masarykův onkologický ústav, Brno*

Obsah | Contents

Editorial

Neuroonkologie jako perspektivní oblast medicíny	83
---	-----------

PŘEHLEDY | REVIEWS

Význam aberantní metylace DNA pro diagnostiku a terapii nádorových onemocnění	88
--	-----------

Significance of aberrant DNA methylation for cancer diagnostics and therapy

Urban T., Pokorná P., Slabý O.

Prostate cancer invasion is promoted by the miR-96-5p-induced NDRG1 deficiency through NF-κB regulation	95
--	-----------

Invaze karcinomu prostaty je podporována nedostatkem NDRG1 vyvolaným miR-96-5p prostřednictvím regulace NF-κB

Soror A. A., Eshagh R., Fahim M. R., Jamshidian A., Monfared G. H.

Potential application of body fluids autofluorescence in the non-invasive diagnosis of endometrial cancer	102
--	------------

Potenciálne využitie autofluorescencie telových tekutín pri neinvazívnej diagnostike endometriálneho karcinómu

Švecová M., Fiedlerová K., Mareková M., Dubayová K.

PŮVODNÍ PRÁCE | ORIGINAL ARTICLES

Feasibility of implementation of the early tumor shrinkage as a potential predictive marker to daily clinical practice in patients with RAS wild type metastatic colorectal cancer, treated with cetuximab – a non-interventional observational study	110
--	------------

Možnosti zavedení časné nádorové regrese jako potenciálního prediktivního markeru do každodenní klinické praxe u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinómem RAS divokého typu léčených cetuximabem – neintervencií observační studie

Fínek J., Vočka M., Bauer J., Kubala E., Zycháčková K., Šedivá M., Gharibayr M., Kocáková I., Čmuchařová E., Vaňková M.

Faktory ovplyvňujúce prežívanie pacientov a vývoj GvHD po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek od HLA-identických súrodencov – skúsenosť jedného centra	118
--	------------

Factors influencing overall survival and GvHD development after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – single centre experience

Homolová M., Bojtárová E., Kováčová M., Klučková K., Suchánková M., Kušíková M., Mistrík M., Shawkatová I.

Tailoring postoperative management through sentinel lymph node biopsy in low- and intermediate-risk endometrial cancer – the SENTRY clinical trial	126
---	------------

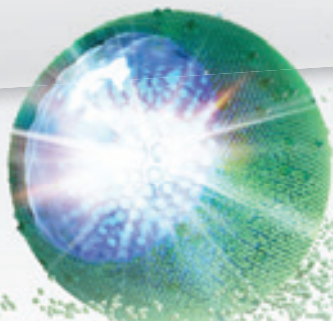
Přizpůsobení pooperační léčby pomocí biopsie sentinelové lymfatické uzliny u karcinomu endometria s nízkým a středním rizikem – klinická studie SENTRY

Sorokin P., Novozhilov M., Utkin D., Abduragimova Z., Dudina I., Nikiforchin A., Kulikova S.

STANDARD 2. LINIE LÉČBY METASTATICKÉHO KARCINOMU PANKREATU¹



onivyde[®]
pegylated liposomal irinotecan



UNIKÁTNÍ PEG-LIPOZOMÁLNÍ FORMA - SILNĚJŠÍ INHIBICE NÁDOROVÉHO RŮSTU²⁻⁵

DOPORUČENO VŠEMI STĚŽEJNÍMI GUIDELINES⁶⁻¹³

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

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

Zkrácená informace o přípravku ONIVYDE pegylated liposomal[®]: SLOŽENÍ: ONIVYDE pegylated liposomal 4,3 mg/ml koncentrát pro infuzní disperzi: Jedna 10ml injekční lahvička koncentrátu obsahuje irinotecanum 43 mg (jako irinotecanum sucrosylatum v pegylované lipozomální formě). **INDIKACE:** Léčba metastazujícího adenokarcinomu pankreatu, v kombinaci s fl uoruracilem (5-FU) a leukovorinem (LV), u dospělých pacientů, u nichž došlo k progresi po terapii založené na gemcitabinu. **DÁVKOVÁNÍ A ZPŮSOB PODÁNÍ:** Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal smí pacientům předepisovat a podávat pouze lékaři a zdravotníci pracovníci se zkušenostmi s protinádorovými terapiemi. Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal není ekvivalentem nelipozomálních forem irinotekanu a nesmí být s nimi zaměňován. Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal, leukovorin a fluoruracil se mají podávat postupně. Doporučená dávka a režim přípravku ONIVYDE pegylated liposomal je 70 mg/m² intravenózně po dobu 90 minut, následně LV 400 mg/m² intravenózně po dobu 30 minut a poté 5FU 2400 mg/m² intravenózně po dobu 46 hodin, s podáváním každé 2 týdny. Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal se nemá podávat jako monoterapie. Sníženou počáteční dávku přípravku ONIVYDE pegylated liposomal 50 mg/m² je třeba zvážit u pacientů, u nichž je známo, že jsou homozygoty alely UGT1A1 *28. V následných cyklech je třeba zvážit zvýšení dávky přípravku ONIVYDE pegylated liposomal na 70 mg/m², pokud je tolerována. **PREMEDIKACE:** Doporučuje se standardními dávkami dexmethasonu (nebo ekvivalentním kortikosteroidem) společně s antagonistou 5-HT3 (nebo jiným antiemetikem) alespoň 30 minut před infuzí přípravku ONIVYDE pegylated liposomal. Úpravy dávek se doporučují ke zvládnutí toxicit 3. a 4. stupně souvisejících s přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. **Porucha funkce jater:** přípravek se nemá používat u pacientů s hodnotami bilirubinu > 2,0 mg/dl nebo AST a ALT > 2,5 násobek horní meze normálu (ULN) nebo > 5 násobek ULN, pokud jsou v játrech přítomny metastázy. **Porucha funkce ledvin:** U pacientů s mírnou až středně závažnou poruchou funkce ledvin není nutná úprava dávky. Přípravek se nedoporučuje u pacientů se závažnou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu < 30 ml/min). **KONTRAINDIKACE:** Anamnéza závažné hypersenzitivity na irinotecan nebo na kteroukoliv pomocnou látku. Kojení. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** **Obecná:** Přípravek ONIVYDE pegylated liposomal není ekvivalentem jiných nelipozomálních forem irinotekanu a nesmí být s nimi zaměňován. **Myelosuprese/neutropenie:** Doporučuje se sledovat kompletní krevní obraz. Febrilní neutropenie je třeba okamžitě léčit širokospektrými intravenózními antibiotiky v nemocnici. Léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal je třeba pozastavit, pokud se vyskytne febrilní neutropenie nebo klesne absolutní počet neutrofilů pod 1500/mm³. Pacienti se závažným selháním kostní dřeně nemají být léčeni přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. Předchozí ozařování oblasti břišní v anamnéze zvyšuje riziko závažné neutropenie a febrilní neutropenie po léčbě přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. U pacientů s ozařování oblasti břišní v anamnéze se doporučuje pečlivé sledování krevního obrazu a je třeba zvážit použití myeloidních růstových faktorů. U pacientů, kterým je přípravek ONIVYDE pegylated liposomal podáván souběžně s ozařováním, je třeba postupovat s opatrností. U pacientů s nedostatečnou glukuronidací bilirubinu při léčbě přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal existovat zvýšené riziko myelosuprese. U asijských pacientů existuje zvýšené riziko závažné a febrilní neutropenie po léčbě přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. U osob, které jsou 7/7 homozygoty alely *28 genu UGT1A1 *28, existuje zvýšené riziko neutropenie. **Imunosupresivní účinky a vakcíny:** Je nutné vyvarovat se vakcinaci živými vakcínami. Mrtvé či inaktivované vakcíny se mohou podávat; odpověď na ně však může být snižena. **Interakce se silnými induktory CYP3A4, silnými inhibitory CYP3A4 nebo silnými inhibitory UGT1A1:** lze podávat se silnými induktory enzymu CYP3A4 pouze pokud neexistují žádné terapeutické alternativy. Je třeba zvážit substituční terapii neindukující enzymy, a to nejméně 2 týdny před zahájením léčby přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. se nesmí podávat se silnými inhibitory enzymu CYP3A4. Podávání je třeba ukončit nejméně 1 týden před zahájením léčby přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal. Lze podávat se silnými inhibitory UGT1A1 pouze pokud neexistují žádné terapeutické alternativy. **Průjem:** Průjem se může objevit časně (nástup během ≤ 24 hodin po zahájení léčby přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal) a pokračuje v antibiotické podpořené léčbě. Léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal je třeba odložit do doby, než průjem dosáhne ≤ 1. stupně (0-2 stolice/den více než v době před léčbou). Nesmí se podávat pacientům se střevní obstrukcí a chronickým zátlivým onemocněním střev, dokud neodezní. **Cholinerní reakce:** Průjem s časným nástupem mohou provázet cholinerní příznaky, jako jsou rinorea, zvýšená salivace, zrudnutí, diaréza, bradykardie, mizná a hyperperistaltika. V případě cholinerních příznaků je třeba podat atropin. **Akutní reakce na infuzi a související reakce:** V případě závažných hypersenzitivních reakcí, včetně akutní reakce na infuzi, anafylaktické/anafylaktoidní reakce a angioedému **, je třeba léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal ukončit. **Předchozí Whippleova operace:** Je třeba sledovat známky infekce. **Cévní onemocnění:** ONIVYDE pegylated liposomal je spojován s tromboembolickými příhodami, jako je plicní embolie, žilní trombóza a arteriální tromboembolismus. Pro odhalení pacientů s vícečetnými rizikovými faktory kromě základního novotvaru má být odebrána důkladná anamnéza. Pacienti mají být informováni o známkách a symptomech tromboembolie a mají okamžitě kontaktovat lékaře nebo zdravotní sestru, pokud se u nich takové známky nebo symptomy objeví. **Plicní toxicita:** U pacientů léčených nelipozomálním irinotecanem se vyskytly příhody podobné intersticiálnímu plicnímu onemocnění (ILD). Mezi rizikové faktory patří preexistující plicní onemocnění, podávání pneumotoxických léčivých přípravků, kolonie stimulujících faktorů nebo předchozí radiační terapie. U těchto pacientů je třeba pečlivě sledovat respirační příznaky před léčbou přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal i během ní. Objeví-li se nová nebo progresivní dyspnoe, kašel a horečka, je třeba léčbu přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal okamžitě přerušit až do vyhodnocení diagnózy. U pacientů s potvrzenou diagnózou ILD je třeba léčbu přípravkem ukončit. **Porucha funkce jater:** Pacienti s hyperbilirubinemií měli vyšší koncentrace celkové SN3B, a proto je u nich zvýšené riziko neutropenie. U pacientů s celkovým bilirubinem 1,0-2,0 mg/dl je třeba pravidelně sledovat krevní obraz. U pacientů s poruchou funkce jater (bilirubin > 2 násobek horní hranice normálního rozmezí [upper limit of normal, ULN]; transaminázy > 5 násobek ULN) je třeba postupovat opatrně. **Předávkování:** Předávkování přípravkem ONIVYDE pegylated liposomal může způsobit závažné nežádoucí účinky. **Porucha funkce ledvin:** Použití přípravku ONIVYDE pegylated liposomal u pacientů s významnou poruchou funkce ledvin nebylo stanoveno. **Pacienti s podváhou:** u pacientů s body mass indexem < 18,5 kg/m² je třeba postupovat opatrně. **Pomocné látky:** obsahuje 33,1 mg sodíku v lahvičce, což odpovídá 1,65 % doporučeného maximálního denního příjmu sodíku (potravou podle WHO pro dospělého, který činí 2 g sodíku). **INTERAKCE:** Souběžné podávání s induktory CYP3A4 (antikonvulziva (fenytoin, fenobarbital nebo karbamazepin), rifampin, rifabutin a třezalka tečkovaná) může snížit a souběžné podávání s inhibitory CYP3A4 (např. grapefruitovou šťávou, klaritromycinem, indinavirem, regorafenibem, regorafenibem, itraconazolem, lopinavirem, nefazodonem, nefli navirem, ritonavirem, sachinavirem, telaprevirem, vorikonazolem) a inhibitory UGT1A1 (např. atazanavirem, gemfi brozilem, indinavirem, regorafenibem) může zvýšit systémovou expozici přípravku ONIVYDE pegylated liposomal. Souběžné podávání s cytostatickými látkami (včetně fl ucytosinu) může zhoršit nežádoucí účinky přípravku ONIVYDE pegylated liposomal **. **FERTILITA:** Před zahájením podávání přípravku ONIVYDE pegylated liposomal zvažte možnost poučít pacienty o zachování vajíčkových buněk **. **TĚHOTENSTVÍ:** Nedoporučuje se. **KOJENÍ:** kontraindikováno. **ANTIKONCEPCE:** Muži i ženy musí používat účinnou antikoncepci v průběhu léčby a ještě 7 měsíců po ukončení léčby u žen a 4 měsíců u mužů. **ÚČINKY NA SCHOPNOST ŘÍDIT A OBSLUHOVAT STROJE:** Dbát zvýšené pozornosti. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** **Velmi časté:** neutropenie, leukopenie, anémie, trombocytopenie, hypokalemie, hypomagnezémie, dehydratace, snížená chuť k jídlu, závrať, průjem, zvracení, nauzea, bolest břicha, stomatitida, alopecie, pyrexie, periferní otok, zánět sliznice, únava, astenie, snížení hmotnosti. **Časté:** septický šok, seps, pneumonie, febrilní neutropenie, gastroenteritida, orální kandidóza, lymfopenie, hypoglykemie, hyponatremie, hypofosfátemie, insomnie, cholinerní syndrom, dysgezie, hypotenze plicní embolie, embolizace, hluboká žilní trombóza, dyspnoe, dysfonie, kolitida, pruritus **, hemoroidy, hypalbuminémie, akutní renální selhání, reakce spojená s infuzí, edém, zvýšený bilirubin, zvýšená ALT, zvýšený AST, zvýšení INR. **Méně časté:** bilární seps, hypersenzitivita, trombóza, hypoxie, ezofagitida, proktitida, kopřivka **, vyrážka **, makulopapulární vyrážka, diskolorace nehtu. **Není známo **: anafylaktická/anafylaktoidní reakce, angioedém, erytém. PŘEDÁVKOVÁNÍ VLASTNOSTI:** Irinotecan (inhibitor topoisomerasy I) zapouzdřený v lipidové dvovrstvé vezikule nebo lipozomu. Irinotecan je derivátem kamptothecinu. Kamptothecin působí jako specifický cke inhibitory enzymu DNA topoisomerasy I. Irinotecan a jeho aktivní metabolit SN-3B vytvářejí reverzibilní vazbu s komplexem topoisomerasy I-DNA a indukují jednořetězové léze DNA, které blokuji replikační vidlici DNA a odpovídají za cytotoxicitu. Irinotecan se metabolizuje prostřednictvím karboxylesterázy na SN-3B. SN-3B je z hlediska inhibice topoisomerasy I purifi kovaně z nádorových buněčných linií člověka a hodlavou přibližně 1000krát silnější než irinotecan. **PODMÍNKY UCHOVÁVÁNÍ:** Uchovávejte v chladničce (2-8 °C). Chraňte před mrazem a světlem. **BALENÍ:** 1 injekční lahvička obsahující 10 ml koncentrátu. **Datum poslední revize textu:** 08/2022. **Registrační číslo:** EU/1/16/1130/001. **Držitel registračního rozhodnutí:** Les Laboratoires Servier 50, rue Carnot, 92284 Suresnes cedex Francie. Před předepsáním přípravku si přečtěte Souhrn údajů o přípravku. Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění viz **Seznam cen a úhrad léčivých přípravků:** <http://www.sukl.cz/sukl/seznam-levic-a-pzlu-hrazeny-ze-zdrav-pojisteni>. Přípravek je k dispozici v lékárnách. Další informace lze vyžádat na adrese Servier s.r.o., Na Florenci 2116/15, 110 00 Praha 1, tel.: (+420) 222 118 111.

* Pro úplnou informaci si prosím přečtěte celý Souhrn údajů o přípravku

** Všímejte si prosím změn v informaci o léčivém přípravku ONIVYDE pegylated liposomal

SERVIER
moved by you

KAZUISTIKY | CASE REPORTS

- Tebentafusp v léčbě metastatického uveálního melanomu – první pacientka léčená v České republice** 134
Tebentafusp in the treatment of metastatic uveal melanoma –
the first patient treated in the Czech Republic
Klabusay M., Bábková B.

- Carcinoid syndrome with right-sided valve involvement – a case report and review of the literature** 139
Postižení pravostranných srdečních chlopní u pacientky s karcinoidovým syndromem – kazuistika a přehled literatury
Šimková I., Aiglová R., Koubek F., Přeček J., Látal J., Buriánková E., Quinn L., Henzlová L.,
Táborský M., Švébišová H., Tučková L., Melichar B.

AKTUALITY Z ODBORNÉHO TISKU | REPORTS FROM THE LITERATURE 146

AKTUALITA ZE STUDIE | STUDY REPORT

- Význam zotavení lymfocytů pro prognózu pacientů s chemoradioterapií karcinomu jícnu** 150
Michnová K.

RŮZNÉ | VARIOUS

- Monoklonální gamapatie klinického významu a další nemoci (editoři: Z. Adam, L. Pour, Ľ. Harvanová, D. Zeman)** 152
Pavlíček P.



OPDIVO[®]
(nivolumab)

VELKÉ PLUS PRO ONKOLOGICKÉ PACIENTY

in monoterapii nebo jako kombinovaná léčba



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 i kombinaci s ipilimumabem u pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých a dospívajících ve věku od 12 let. **Adjuvantní léčba melanomu:** monoterapie k adjuvantní léčbě dospělých a dospívajících ve věku od 12 let s melanomem stadia IIB nebo IIC nebo s melanomem s postižením lymfatických uzlin nebo metastázami po kompletní resekci. **Nemalobuněčný karcinom plic (NSCLC):** monoterapie lokálně pokročilého nebo metastazujícího NSCLC po předchozí chemoterapii u dospělých; v kombinaci s ipilimumabem a 2 cykly chemoterapie na bázi platiny v první linii u dospělých bez EGFR nebo ALK. **Neoadjuvantní léčba NSCLC:** v kombinaci s chemoterapií na bázi platiny k neoadjuvantní léčbě dospělých s resekovatelným NSCLC s vysokým rizikem recidivy, jejichž nádory mají expresi PD L1 $\geq 1\%$. **Maligní mezoteliom pleury (MPM):** v kombinaci s ipilimumabem k léčbě neresekovatelného MPM u nepředléčených dospělých. **Renální karcinom (RCC):** monoterapie pokročilého RCC po předchozí terapii u dospělých; v kombinaci s ipilimumabem terapie pokročilého RCC v první linii u dospělých se středním nebo vysokým rizikem; v kombinaci s kabozantinibem terapie pokročilého RCC v první linii 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 rekurentního nebo metastazujícího SCCHN progresujícího při nebo po léčbě platinovými deriváty u dospělých. **Kolorektální karcinom s fenotypem dMMR/MSI-H (dMMR/MSI-H CRC):** v kombinaci s ipilimumabem terapie dMMR/MSI-H CRC po kombinované chemoterapii na bázi fluoropyrimidinu u dospělých. **Urotelální karcinom (UC):** monoterapie lokálně pokročilého neresekovatelného nebo metastazujícího UC u dospělých po selhání léčby platinovými deriváty. **Adjuvantní léčba urotelálního karcinomu:** monoterapie k adjuvantní léčbě dospělých s urotelálním karcinomem postihujícím svalovinu (MIUC) s expresí PD-L1 na nádorových buňkách $\geq 1\%$. **Skvamózní karcinom jícnu (ESCC):** monoterapie neresekovatelného pokročilého, rekurentního nebo metastazujícího ESCC u dospělých po předchozí kombinované chemoterapii na bázi fluoropyrimidinu a platiny, v kombinaci s ipilimumabem nebo chemoterapií na bázi fluoropyrimidinu a platiny k léčbě v první linii u dospělých s neresekovatelným pokročilým, rekurentním nebo metastazujícím ESCC s expresí PD-L1 na nádorových buňkách $\geq 1\%$. **Adjuvantní léčba karcinomu jícnu nebo gastroezofageální junctce (EC nebo GEJ):** monoterapie k adjuvantní léčbě dospělých s EC nebo GEJ po předchozí neoadjuvantní chemoradioterapii. **Adenokarcinom žaludku, gastroezofageální junctce (GE) nebo jícnu:** jejichž nádory exprimují PD L1 s kombinovaným pozitivním skóre (CPS) ≥ 5 . **Dávkování:** Monoterapie: buď 240 mg i.v. infuzí (30 min) každé 2 týdny (všechny indikace), nebo 480 mg i.v. infuzí (60 min) každé 4 týdny (pouze indikace melanom, renální karcinom a MIUC), u adjuvantní léčby melanomu 480 mg i.v. infuzí (30 min) každé 4 týdny, u adjuvantní léčby EC nebo GEJ 240 mg i.v. infuzí (30 min) každé 2 týdny, nebo 480 mg i.v. infuzí (30 min) každé 4 týdny po dobu prvních 16 týdnů a následně 480 mg i.v. infuzí (30 min) každé 4 týdny. **Zvláštnosti dávkování u dospívajících viz SmPC. Kombinace s ipilimumabem: Melanom:** 1 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) s ipilimumabem 3 mg/kg i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab i.v. infuzí 240 mg (30 min) každé 2 týdny, nebo 480 mg (60 min) každé 4 týdny, první dávka za 3 týdny (240 mg), resp. 6 týdnů (480 mg), a pak dále každé 2 týdny, resp. 4 týdny. **Zvláštnosti dávkování u dospívajících viz SmPC. MPM:** 360 mg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny s ipilimumabem 1 mg/kg i.v. infuzí (30 min) každých 6 týdnů. **RCC:** 3 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) s ipilimumabem 1 mg/kg i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab i.v. infuzí 240 mg (30 min) každé 2 týdny, nebo 480 mg (60 min) každé 4 týdny, první dávka za 3 týdny (240 mg), resp. 6 týdnů (480 mg), a pak dále každé 2 týdny, resp. 4 týdny. **dMMR/MSI-H CRC:** 3 mg/kg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) s ipilimumabem 1 mg/kg i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny u prvních 4 dávek, dále nivolumab i.v. infuzí 240 mg (30 min) každé 2 týdny. **ESCC:** 3 mg/kg nivolumabu každé 2 týdny, resp. 360 mg nivolumabu každé 3 týdny i.v. infuzí (30 min) s ipilimumabem 1 mg/kg i.v. infuzí (30 min) každých 6 týdnů. **Kombinace s kabozantinibem: RCC:** 240 mg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) každé 2 týdny, nebo 480 mg nivolumabu i.v. infuzí (60 min) každé 4 týdny s kabozantinibem 40 mg perorálně každý den. **Kombinace s ipilimumabem a chemoterapií: NSCLC:** 360 mg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny s ipilimumabem 1 mg/kg i.v. infuzí (30 min) každých 6 týdnů a 2 cykly chemoterapie na bázi platiny každé 3 týdny. **Kombinace s chemoterapií: Neoadjuvantní léčba NSCLC:** 360 mg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny s chemoterapií na bázi platiny ve 3 cyklech. **ESCC:** 240 mg každé 2 týdny nebo 480 mg každé 4 týdny i.v. infuzí (30 min) s chemoterapií na bázi fluoropyrimidinu a platiny. **Adenokarcinom žaludku, GE) nebo jícnu:** 360 mg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) každé 3 týdny s chemoterapií na bázi fluoropyrimidinu a platiny nebo 240 mg nivolumabu i.v. infuzí (30 min) každé 2 týdny s chemoterapií na bázi fluoropyrimidinu a platiny. Léčba vždy pokračuje, dokud je pozorován klinický přínos nebo dokud ji pacient snáší, u adjuvantní léčby po dobu max. 12 měsíců a u léčby NSCLC v kombinaci, MPM v kombinaci, adenokarcinomu žaludku, GE) nebo jícnu v kombinaci a RCC v kombinaci s kabozantinibem po dobu max. 24 měsíců. Léčba kabozantinibem pokračuje do progresu nebo nepřijatelné toxicity. Další podrobnosti dávkování viz SmPC. **Způsob podání:** Pouze jako i.v. infuze. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Zvláštní upozornění:** Nivolumab je spojen s imunitní podmíněnými nežádoucími účinky. Pacienti mají být průběžně sledováni (min. do 5 měsíců po poslední dávce). Podle závažnosti NÚ se nivolumab vysadí a podají se kortikosteroidy. Po zlepšení se musí dávka kortikosteroidů snižovat postupně po dobu min. 1 měsíce. V případě závažných, opakujících se nebo jakýchkoli život ohrožujících imunitně podmíněných NÚ musí být nivolumab trvale vysazen. U pacientů s výchozím ECOG ≥ 2 , s aktivními mozgovými metastázami, autoimunitním onemocněním, symptomatickým intersticiálním plicním procesem a u pacientů, kteří již užívali systémová imunosupresiva, je třeba přípravek používat jen s opatrností. **Interakce:** Nivolumab je humánní monoklonální protilátka a nepředpokládá se, že inhibice nebo indukce enzymů cytochromu P450 (CYP) nebo jiných enzymů metabolizujících léky současně podávanými přípravky bude mít dopad na jeho farmakokinetiku. Vzhledem k potenciální interferenci systémových kortikosteroidů nebo jiných imunosupresiv s farmakodynamikou nivolumabu je třeba se jejich podávání na počátku, před zahájením léčby, vyhnout. Lze je nicméně použít k léčbě imunitně podmíněných nežádoucích účinků. **Těhotenství a kojení:** Nivolumab se nedoporučuje během těhotenství a fertilitním ženám, které nepoužívají účinnou antikoncepci, pokud klinický přínos nepřevyšuje možné riziko. Není známo, zda se nivolumab vylučuje do mateřského mléka. **Nežádoucí účinky: Velmi časté:** infekce horních cest dýchacích, lymfopenie, anémie, leukopenie, neutropenie, trombocytopenie, snížená chuť k jídlu, hyperglykemie, bolest hlavy, dyspnoe, kašel, průjem, zvracení, nauzea, bolest břicha, zácpa, vyrážka, svědění, únava, horečka, zvýšený AST, ALT, alkalické fosfatázy, kreatininu, lipázy, amylázy, a dále také hyponatémie, hypalbuminémie, hyperkalcémie, hypokalcémie, hypomagnezémie, hypokalémie a hyperkalcémie. **Více podrobností k NÚ, zvláště v kombinaci s dalšími léčivými přípravky, viz SmPC. Předávkování:** Pacienti musí být pečlivě monitorováni s ohledem na příznaky nežádoucích účinků a zahájena vhodná symptomatická léčba. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C - 8 °C) v původním obalu, aby byl přípravek chráněn před světlem. Chraňte před mrazem. **Balení:** 4 ml nebo 10 ml koncentrátu v 10ml injekční lahvičce s uzávěrem a tmavě modrým, resp. sedým odtrhovacím víčkem; 12 ml nebo 24 ml koncentrátu ve 25ml injekční lahvičce s uzávěrem a modrým, resp. červeným odtrhovacím víčkem. **Velikost balení:** 1 injekční lahvička. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Bristol-Myers Squibb Pharma EEEG, Dublin, Irsko. **Registrační číslo:** EU/1/15/1014/001-004. **Datum první registrace:** 19. 06. 2015. **Datum poslední revize textu:** únor 2024.

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z veřejného zdravotního pojištění v těchto indikacích: pokročilý maligní melanom v monoterapii, v kombinaci s ipilimumabem a v adjuvanci, pokročilý renální karcinom v monoterapii i kombinaci s ipilimumabem, nemalobuněčný karcinom plic v monoterapii i v kombinaci s ipilimumabem a chemoterapií, klasický Hodgkinův lymfom, skvamózní karcinom hlavy a krku, maligní mezoteliom pleury v kombinaci s ipilimumabem, kolorektální karcinom v kombinaci s ipilimumabem, karcinom jícnu nebo GE) v adjuvanci, urotelální karcinom postihující svalovinu v adjuvanci, pokročilý skvamózní karcinom hlavy a krku v kombinaci s ipilimumabem nebo chemoterapií a adenokarcinom žaludku, GE) nebo jícnu v kombinaci s chemoterapií. Před předepsáním se seznatme s úplnou informací o přípravku. 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.bms.com/cz.

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

Význam aberantní metylace DNA pro diagnostiku a terapii nádorových onemocnění

Significance of aberrant DNA methylation for cancer diagnostics and therapy

Urban T.^{1,2}, Pokorná P.^{1,2}, Slabý O.¹⁻³

¹ Biologický ústav, LF MU Brno

² Středoevropský technologický institut, MU Brno

³ Ústav patologie, LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: Epigenetika je vědní obor zabývající se změnami v genové expresi, které nejsou způsobeny alterací pořadí nukleotidů v řetězci DNA. Společně se sekvenčními změnami je tzv. epigenetické reprogramování jedním ze získaných znaků nádorové buňky, které řídí kancerogenezi. V rámci epigenetické regulace genové exprese se uplatňuje několik různorodých mechanismů, z nichž nejvíce zkoumaný je proces metylace DNA. Za fyziologických podmínek zajišťuje metylace DNA řízení tkáňově specifického umlčení exprese vybraných genů a napomáhá udržovat stabilitu genomu. V procesu maligní transformace dochází ke globální hypometylaci napříč genomem a lokus specifické hypermetylaci, zejména promotorů tumor supresorových genů. Během několika posledních desítek let se ukázalo, že aberantní metylace DNA může sloužit jako biomarker nádorových onemocnění a také jako terapeutický cíl, což podnítilo probíhající snahy o vylepšení stávajících diagnostických a terapeutických možností v onkologii. **Cíl:** Hlavním cílem této přehledové práce je představit biomarkery asociované s nádorem a specifické testy vyvinuté pro diagnostiku nádorových onemocnění, které jsou založeny na stanovení úrovně metylace DNA. Zahrnuty jsou jak rutinně používané testy, tak nově vyvinuté komerčně dostupné testy s certifikací pro *in vitro* diagnostiku. Dále jsou popsány terapeutické implikace, které aberantní metylace DNA přináší, přičemž jsou zmíněna léčiva schválená i léčiva procházející klinickým hodnocením.

Klíčová slova

metylace DNA – epigenetika – precizní medicína

Summary

Background: Epigenetics is a scientific field that covers changes in gene expression that are not caused by the alteration of the nucleotide sequence in the DNA strand. Together with sequential changes, epigenetic reprogramming is a recognized cancer hallmark driving carcinogenesis. The underlying mechanisms of epigenetically-driven gene expression changes are diverse. However, one of the most extensively studied mechanisms is a change in DNA methylation. Under physiological conditions, DNA methylation ensures tissue-specific gene silencing and helps to maintain genome stability. With malignant transformation, genomic DNA undergoes global hypomethylation as well as locus-specific hypermethylation in promoters of tumor suppressor genes. In the last few decades, specific aberrant DNA methylation changes have emerged as both cancer-associated biomarkers and therapeutic targets and prompted ongoing efforts to enhance both diagnostic and therapeutic means in oncology. **Purpose:** The main purpose of this review is to introduce both established and emerging DNA methylation-based biomarkers for cancer diagnostics with a focus on biomarkers that are either routinely used or have been developed as commercial tests with certification for their use within *in vitro* diagnostics. Furthermore, therapeutic options for targeting aberrant DNA methylation are described, including both approved compounds and newly developed agents undergoing clinical investigation.

Key words

DNA methylation – epigenetics – precision medicine

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

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

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

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



prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.
Biologický ústav, LF MU
Kamenice 5
625 00 Brno
e-mail: oslaby@med.muni.cz

Obdrženo/Submitted: 1. 12. 2023

Přijato/Accepted: 13. 2. 2024

doi: 10.48095/ccko202488

Úvod

Nádorová onemocnění jsou velmi heterogenní a komplexní skupinou chorob, které se vyznačují souborem několika společných získaných charakteristik narušujících fyziologické fungování procesů, jako je buněčná proliferace či apoptóza, a poskytujících vlastnosti zcela nové, např. schopnost metastazovat [1]. V současné době je již známo, že získání těchto charakteristik je dáno nejen změnami nádorového genomu, které zahrnují široké spektrum alterací zasahující samotnou sekvenci, počet kopií či strukturní rearanže genetické informace, ale také rozsáhlou paletou tzv. epigenetických změn. Epigenetické změny lze souhrnně označit jako způsob regulace genové exprese, během kterého nedochází ke změnám v sekvenci DNA. Zahrnují modifikace DNA/RNA a histonů či působení nekódujících RNA [2].

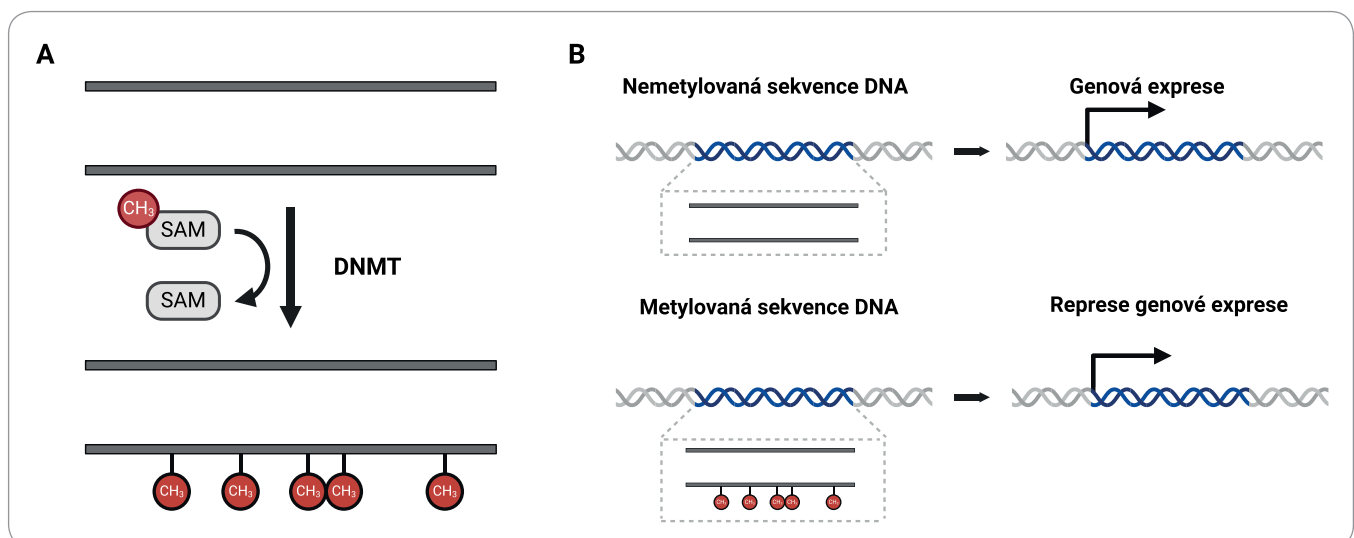
Mezi nejextenzivněji studované epigenetické změny bezesporu patří studium metylace DNA, jejíž podstatou je kovalentní vazba metylové skupiny na dusíkatou bázi cytosin. Tato modifikace se hojně uplatňuje v oblastech bohatých na CpG dinukleotidy, které se nachází zejména v promotorových oblastech protein kódujících genů, a má zásadní úlohu v řadě procesů souvisejících s vývojem organismu a v udržování stability genomu. Ve vztahu ke genové expresi má potom připojení metylové skupiny

represivní účinek (obr. 1) [3]. Při rozvoji nádorového onemocnění dochází v genomu nádorové buňky ke globální hypometylaci spojené s aktivací onkogenů a retrotranspozonů a s chromozomovou nestabilitou a k hypermetylaci CpG oblastí v promotorech tumor supresorových genů [4].

Metodické přístupy ke studiu metylace DNA

V rámci studia metylace DNA lze k odlišení metylovaných a nemetylovaných bazí využít tři základní přístupy, a to štěpení metylačně senzitivními restriktivními endonukleázami, využití protilátek vázících se na metylovaný cytosin či bisulfitovou konverzi [5]. Velmi recentně se pak objevuje metoda enzymatické konverze [6]. Tyto přístupy jsou následně kombinovány s různými molekulárně-biologickými metodami, jako je polymerázová řetězová reakce (polymerase chain reaction – PCR), vysokorozlišovací analýza křivek tání (high resolution melting – HRM), sekvenování či DNA čipy (tzv. microarrays). Většina diagnostických aplikací popsaných v následující podkapitole využívá právě metodu bisulfitové konverze, což je proces, při kterém je působením hydrogensířičitanu sodného deaminován cytosin na uracil. U metylovaných cytosinů k této konverzi nedochází. Ke studiu konkrétních jednotlivých úseků DNA lze vyu-

žít PCR s metylačně specifickými primery a následnou vizualizací produktu pomocí gelové elektroforézy [7] či metylačně specifickou HRM analýzu, při které se stanovuje odlišnost teploty tání PCR produktů mezi metylovanou a nemetylovanou DNA [8]. Výhodou těchto metod je zejména rychlost a poměrně nízké finanční náklady. Rozsáhlou skupinu metod představují metody sekvenování. Platformy sekvenování nové generace jsou schopny paralelně analyzovat velké množství DNA fragmentů. Rozsah studované genetické informace může být od několika vybraných úseků vytyčených různými metodami cíleného obohacení až po celý genom analyzovaný prostřednictvím celogenomového bisulfitového sekvenování. V posledních letech se do popředí studia metylace DNA dostává také metoda sekvenování třetí generace. Jejím výhodou je skutečnost, že dokáže detekovat modifikace DNA bez nutnosti provedení bisulfitové (či jiné) konverze a amplifikace cílové oblasti, molekula DNA je tak analyzována ve svém nativním stavu. Dostupné technologie využívají k detekci přítomnosti modifikace např. změnu elektrické vodivosti při průchodu nanopórem (platforma Oxford Nanopore) [9] či změnu kinetiky DNA polymerázy při začleňování fluorescenčně značených nukleotidů (tzv. metoda single-molecule real-time (SMRT) využívaná plat-



Obr. 1. Schematické znázornění procesu metylace DNA prostřednictvím DNA metyltransferáz (A) a dopadu metylace DNA na genovou expresi (B).

DNMT – DNA metyltransferáza, SAM – S-adenosylmethionin

Tab. 1. Přehled komerčních testů využívajících stanovení úrovně metylace DNA.

Název testu	Onemocnění	Použití	Cílové geny	Reference
Epi proLung®	karcinom plic	neinvazivní diagnostika	<i>SHOX2, PTGER4</i>	[15]
Epi proColon®	kolorektální karcinom	neinvazivní diagnostika	<i>SEPT9</i>	[16]
Cologuard®	kolorektální karcinom	neinvazivní diagnostika	<i>NDRG4, BMP3</i>	[17]
Galleri®	50 typů nádorových onemocnění	neinvazivní diagnostika	> 100 000 specifických lokusů napříč genomem	[21]
Bladder EpiCheck®	svalovinu neinvadující karcinom močového měchýře	neinvazivní diagnostika	15 specifických lokusů napříč genomem	[22]
ZNF582 DNA Detection Kit	karcinom děložního čípku	neinvazivní diagnostika	<i>ZNF582</i>	[23]
PAX1 DNA detection kit	karcinom děložního čípku	neinvazivní diagnostika	<i>PAX1</i>	[24]
GynTect®	karcinom děložního čípku	neinvazivní diagnostika	<i>ASTN1, DLX1, ITGA4, RXFP3, SOX17, ZNF671</i>	[25]
EPICUP®	nádory neznámého origa	tkáňová diagnostika	450 000 specifických lokusů napříč genomem	[26]
therascreen® MGMT Pyro® Kit	glioblastom	prediktivní testování	<i>MGMT</i>	[33]
therascreen® PITX2 RGQ PCR Kit	karcinom prsu	prediktivní testování	<i>PITX2</i>	[38]

formou PacBio) [10]. Vysokokapacitní metylační profilování lze provést také s pomocí platform založených na principu microarrays, které využívají hybridizace cílové sekvence k imobilizované komplementární oligonukleotidu a následnou detekci fluorescenčního signálu [11].

Aberantní metylace DNA jako biomarker nádorových onemocnění

Potenciální využití metylace DNA jako diagnostického, prognostického či prediktivního biomarkeru již bylo zkoumáno a publikováno u různých nádorových onemocnění. Řada z těchto objevů však zůstává předmětem výzkumu a zatím si nenašla cestu do rutinní diagnostické praxe.

V kontextu diagnostiky onemocnění je potenciál aberantní metylace DNA studován především ve smyslu časné neinvazivní diagnostiky nebo k odlišení jednotlivých skupin nádorových onemocnění. Pro účely časné neinvazivní diagnostiky se jako výchozí materiál používají tělní tekutiny, nejčastěji plazma či sérum, ve kterých je klíčovou cílovou molekulou tzv. cirkulující DNA. DNA se v tělních tekutinách nachází v důsledku toho, že buňka procházející buněčnou smrtí uvolňuje fragmenty genomové DNA do cirkulace. Jedná-li se o DNA fragmenty pocházející z nádorové buňky, hovoříme o tzv. cirkulující nádorové DNA [12]. Vzhledem k tomu, že je aberantní metylace specifických oblastí časnou událostí při rozvoji nádorového onemocnění, má pro časnou diagnostiku obrovský potenciál [4]. Tuto skutečnost potvrzuje celá řada publikovaných studií u různých typů malignit, přičemž největší důraz je kladen zejména na diagnózy s vysokou incidencí v populaci zahrnující karcinom plic, kolorekta, prsu, prostaty, ale i mnoho dalších. U některých z těchto diagnóz jsou již k dispozici komerční testy s různou úrovní schválení regulačními orgány (tab. 1).

Jedna z prvních diagnóz, kde byla navržena detekce metylačního statusu tumor supresorových genů (v tomto případě genů *APC* a *CDKN2A*) jako neinvazivní diagnostický biomarker, byl karcinom plic [13,14]. Ze všech genů, které byly pro účely diagnostiky karcinomu plic studovány, dosáhlo nejlepších analytických parametrů stanovení metylace genů *SHOX2* a *PTGER4*, které je součástí komerčního testu s certifikací pro zdravotnické prostředky *in vitro* (CE-IVD) zvaného Epi proLung® [15].

U pacientů s kolorektálním karcinomem byl v průběhu uplynulých let zkoumán metylační status desítek cílových genů. Některé z testů jsou k dispozici v podobě komerčních testů schválených Americkou lékovou agenturou (Food and Drug Administration – FDA), konkrétně test zaměřený na detekci metylace genu *SEPT9* ze vzorku krve (dostupný pod komerčním názvem Epi proColon®) [16] či kombinovaný test sestávající ze stanovení metylace *NDRG4* a *BMP3* spolu se stanovením hemoglobinu a přítomnosti mutace genu *KRAS* ve stolici pacientů (dostupný pod komerčním názvem Co-

tumor supresorových genů (v tomto případě genů *APC* a *CDKN2A*) jako neinvazivní diagnostický biomarker, byl karcinom plic [13,14]. Ze všech genů, které byly pro účely diagnostiky karcinomu plic studovány, dosáhlo nejlepších analytických parametrů stanovení metylace genů *SHOX2* a *PTGER4*, které je součástí komerčního testu s certifikací pro zdravotnické prostředky *in vitro* (CE-IVD) zvaného Epi proLung® [15].

U pacientů s kolorektálním karcinomem byl v průběhu uplynulých let zkoumán metylační status desítek cílových genů. Některé z testů jsou k dispozici v podobě komerčních testů schválených Americkou lékovou agenturou (Food and Drug Administration – FDA), konkrétně test zaměřený na detekci metylace genu *SEPT9* ze vzorku krve (dostupný pod komerčním názvem Epi proColon®) [16] či kombinovaný test sestávající ze stanovení metylace *NDRG4* a *BMP3* spolu se stanovením hemoglobinu a přítomnosti mutace genu *KRAS* ve stolici pacientů (dostupný pod komerčním názvem Co-

loguard®) [17]. Kromě těchto dvou nejsou žádné jiné testy využívající stanovení metylace DNA FDA schváleny [18]. Ve snaze zvýšit senzitivitu stávajících biomarkerů časné diagnostiky kolorektálního karcinomu se objevují také kombinované testy zaměřené až na čtyři cílové geny [19], dosud však nebyly prospektivně validované na rozsáhlejších kohortách pacientů.

Kromě vývoje testů zaměřených specificky na detekci jednotlivých nádorových onemocnění byl v posledních letech rapidně akcelerován vývoj tzv. Multi-Cancer Early Detection (MCED) testů sloužících k neinvazivní detekci časného asymptomatického stadia nádorového onemocnění. Díky své schopnosti zachytit přítomnost více typů nádorových onemocnění v jediném testu tak utváří zcela nové paradigma, které s sebou nese příslib snížení celkové mortality spojené s nádorovými onemocněními [20]. Jednou z alterací, které jsou v rámci MCED testů detekovány, je právě metylace DNA. Stanovení metylace DNA je podstatou jednoho z nejznámějších a nejrobustnějších MCED testů nazvaného Galleri®. Kromě záchytu pozitivního signálu svědčícího o přítomnosti nádorového onemocnění dle dosavadních výsledků tento test také dokázal s 88,7% přesností předpovědět, o jaký z 50 typů nádorových onemocnění, které je schopen rozlišit, se jedná. V klinické studii zahrnující 4 077 účastníků byla u tohoto testu demonstrována 99,5% specifická a 51,5% senzitivita [21].

Neinvazivní detekce přítomnosti onemocnění lze využít nejen pro záchyt primárního onemocnění, ale také pro monitorování rekurence po ukončení léčby. Příkladem onemocnění, u kterého je dlouhodobě kladen důraz na identifikaci k tomuto účelu sloužících neinvazivních biomarkerů, je karcinom močového měchýře. Vzhledem k vysokému riziku rekurence po ukončení léčby pacienti se svalovinu neinvadujícím karcinomem močového měchýře opakovaně podstupují cystoskopii, která představuje zátěž jak pro pacienta, tak pro zdravotnický systém. Jako alternativa k rutinní kombinaci cystoskopie a cytologie bylo navrženo stanovení úrovně metylace 15 genů (dostupných v podobě

komerční certifikované diagnostické soupravy Bladder EpiCheck®) ze vzorku moči. Výstupem tohoto kombinovaného testu je skóre s hodnotou 0–100, přičemž hodnoty > 60 značí přítomnost nádorového onemocnění [22].

Z dalších testů vyvinutých pro účely diagnostiky lze zmínit hned několik CE-IVD certifikovaných diagnostických souprav zaměřených na pacientky s karcinomem děložního čípku, kde však výchozím materiálem nejsou tělní tekutiny, ale buňky odebrané stěrem z děložního čípku při pravidelném screeningovém vyšetření. Jednotlivé testy se zaměřují na stanovení metylace genu *ZNF582* [23], *PAX1* [24] či kombinaci genů *ASTN1*, *DLX1*, *ITGA4*, *RXFP3*, *SOX17* a *ZNF671* [25].

Pro účely odlišení jednotlivých skupin nádorových onemocnění metodou metylačního profilování jsou výchozím biologickým materiálem vzorky nádorové tkáně. Tento přístup se opírá o skutečnost, že nádorový metylom je kombinací znaků odrážejících jak buněčný původ, tak charakteristické změny asociované s nádorem. Prvním příkladem takového aplikace byl klasifikátor umožňující identifikaci primární lokalizace u nádorů neznámého origa, který autoři nazvali EPI-CUP [26]. K natrénování klasifikátoru bylo použito 2 790 vzorků nádorové tkáně známého origa, které reprezentovaly 38 onkologických diagnóz, u nichž bylo provedeno metylační profilování na microarray platformě Infinium Human Methylation 450K BeadChip Array. Následná validace na kohortě 7 691 vzorků (vč. 534 metastáz) umožnila klasifikaci s 99,6% specifitou a 97,7% senzitivitou. U 188 (87 %) z 216 pacientů spadajících do kategorie tumoru neznámého origa byla úspěšně predikována primární lokalizace tumoru.

Využití vysokokapacitního metylačního profilování na platformě microarrays ke klasifikaci jednotlivých skupin nádorových onemocnění bylo dále demonstrováno u nádorů CNS [27] a sarkomů [28]. Obě tyto skupiny jsou biologicky a klinicky velmi heterogenní, což činí stanovení vybraných skupin diagnóz pouze na základě histopatologického zhodnocení obtížné a zároveň to poukazuje na existenci více podtypů v rámci jednotlivých diagnostických kategorií.

Pro tvorbu prvotní verze klasifikátoru CNS byla použita rozsáhlá kohorta několika tisíc vzorků odpovídajících 76 histopatologicky definovaným jednotkám. Všechny vzorky byly následně analyzovány metodou neřízeného shlukování, která vedla ke stanovení 82 charakteristických metylačních skupin nádorů CNS a 9 skupin kontrolní nenádorové tkáně. Pro samotnou tvorbu klasifikátoru byl použit tzv. random forrest algoritmus a jeho prospektivní validace byla učiněna na kohortě 1 155 nádorů CNS. S vysokou spolehlivostí bylo 88 % vzorků přiřazeno do klasifikátorem vytyčené metylační skupiny a u 76 % stanovená metylační skupina korelovala s histopatologickou diagnózou. U zbývajících 12 % byla provedena dodatečná molekulární vyšetření, jejichž výsledek vedl k reklasifikaci původní histopatologické diagnózy směrem k navržené metylační skupině [27]. Obdobným způsobem byl ustanoven také sarkomový klasifikátor, který byl oproti klasifikátoru nádorů CNS publikován o 3 roky později. Ten při prospektivní validaci s vysokou spolehlivostí přiřadil 75 % vzorků, přičemž 61 % z celkového počtu vzorků opět korelovalo s histopatologickou diagnózou. Téměř polovina vzorků, u kterých vyvstala diskrépance mezi výsledkem klasifikátoru a histopatologickým zhodnocením, byla na základě doplňkových molekulárních analýz překlasifikována na diagnózu odpovídající metylační skupině [28].

Poznatky získané s využitím metylačního profilování se již odrazily v nejnovější páté edici WHO klasifikace nádorů CNS z roku 2021. V tomto vydání je oproti verzi z roku 2016 kladen větší důraz na využití molekulárně-biologických metod jako doplňku k rutinním histologickým a imunohistochemickým přístupům a jsou představeny nové skupiny diagnóz a podskupiny diagnóz stávajících, přičemž přesné určení řady z nich vychází právě ze stanovení metylačního profilu [29].

Metylační klasifikátor nádorů CNS a sarkomů zůstává otevřeným systémem, který podléhá dalšímu vývoji a je neustále vylepšován díky přibývajícím množství analyzovaných vzorků. Kromě tohoto vylepšení však souběžně dochází k vývoji usilujícímu o přenesení tohoto

přístupu na odlišné platformy, a to zejména platformu sekvenování třetí generace Oxford Nanopore. Čas do dodání výsledků se u standardně využívané platformy Infinium pohybuje v řádu několika dní až týdnů, což je ovlivněno nutností nashromáždit potřebné množství pacientů (zpravidla osm) pro zaplnění arraye a také časovou náročností analytické části procesu [30]. V reakci na tyto limitace byl ustanoven metylační klasifikátor pro platformu Oxford Nanopore nazvaný nanoDx, u kterého činil medián času od obdržení biologického materiálu do dodání výsledku při prospektivní validaci 21 hodin [31]. Vylepšeným recentně publikovaným přístupem je využití klasifikátoru založeného na neuronových sítích s názvem Sturgeon, který byl autory navržen jako nástroj pro intraoperativní diagnostiku informující neurochirurga o tom, zda charakter tumoru vyžaduje provedení radikální resekce, či zda se jedná o diagnózu, u které nemá rozdíl mezi radikální a subtotální resekci na prognózu vliv. V rámci této práce byl nástroj použit u 25 prospektivních pacientů, u kterých byl výsledek stanoven za < 90 minut. U 18 z 25 pacientů byla stanovena správná diagnóza s dostatečnou mírou spolehlivosti [32].

V kategorii biomarkerů prediktivních a prognostických je velmi významným biomarkerem a zároveň jedním z nejznámějších příkladů využití metylačního profilování v klinické praxi stanovení metylačního statusu promotoru genu *MGMT* ve vzorku nádorové tkáně u pacientů s glioblastomem [33]. Metylace promotoru je přítomna u 40–50 % pacientů a je spojována s delším přežitím [34]. Zároveň je spojován s predikcí léčebné odpovědi u pacientů léčených temozolomidem (TMZ) [35,36]. TMZ patří do skupiny alkylačních chemoterapeutik a jeho působení navozuje poškození DNA, které vede k aktivaci apoptózy, není-li opraveno buněčnými reparačními mechanismy. Jedním z těchto reparačních mechanismů je také působení enzymu *MGMT*. Je však nutné zmínit, že jistou limitací stanovení metylace promotoru *MGMT* je velká variabilita ve volbě metodického přístupu a vymezení přesné cut-off hodnoty pro metylovaný promotor [37]. Obdobným způsobem

byla hypermetylace tumor supresorových genů spojena s chemosenzitivitou také v případě dalších onkologických diagnóz. U pacientek s karcinomem prsu s postižením uzlin je např. nízká úroveň metylace genu *PITX2* (dostupná v podobě certifikovaného komerčního testu *therascreen® PITX2 RGQ PCR Kit*) spojená s benefitem adjuvantní léčby antracyklinovými chemoterapeutiky [38].

Využití v terapii nádorových onemocnění

Na rozdíl od jiných typů alterací, jako jsou bodové mutace, změny počtu kopií či fúzní geny, představuje aberantní metylace DNA modifikaci reverzibilní, což z ní činí potenciální cíl protinádorové terapie. V současné době jsou k dispozici léčiva schválená evropskou lékovou agenturou EMA i americkou FDA a také několik desítek léčiv nacházejících se v preklinické či časné klinické fázi testování.

Adice metylové skupiny je katalyzována enzymy označovanými jako DNA metyltransferázy (*DNMT1*, *DNMT3A*, *DNMT3B*), přičemž většina dostupných léčiv cílí na modulaci jejich aktivity. Na základě mechanismu působení je lze rozdělit na dvě skupiny, a to na analogy nukleosidů a non-nukleosidová agens, která zahrnují zejména inhibitory přímo interagující s DNA metyltransferázami.

Analogy nukleosidů jsou deriváty odvozené nejčastěji od deoxycytidinu, které se inkorporují do struktury DNA či RNA. Inkorporace do struktury DNA vede k vytvoření kovalentní ireverzibilní vazby a postupné depleci DNA metyltransferáz. Dochází-li k inkorporaci do struktury RNA, nastává inhibice proteosyntézy. Mezi nejznámější analogy nukleosidů patří azacytidin a decitabin, které jsou schváleny pro léčbu pacientů s diagnózou myelodysplastického syndromu či akutní myeloidní leukemie s kontraindikací k provedení transplantace kostní dřeně [39]. Oba léky mají velmi podobnou chemickou strukturu, odlišnost spočívá v tom, že azacytidin je ribonukleosid a decitabin je deoxyribonukleosid. Decitabin se tak na rozdíl od azacytidinu neváže na RNA. Prvotně byly používány ve vysokých dávkách jako cytostatika, podání nižší dávky však navozuje pokles

úrovně metylace u původně hypermetylovaných oblastí v genomu, zpravidla kódujících tumor supresorové geny [40]. Častý problém u obou léků představuje rozvoj rezistence, který je pozorován až u poloviny pacientů [41]. Recentní studie poukázala na to, že podstata rezistence tkví v adaptivní odpovědi sítě enzymů zapojených do metabolismu pyrimidinu [42].

Kromě podávání výše zmíněných léků v monoterapii jsou v klinických hodnoceních testovány jejich kombinace s dalšími léčivy, a to jak s tradičními cytostatiky, tak s cílenými inhibitory [43]. Jedním z hlavních důvodů pro testování lékových kombinací s cytostatiky je skutečnost, že navození sekundární rezistence vůči vybraným cytostatikům je spjato se změnami úrovně metylace specifických oblastí nádorového genomu, zejména pak hypermetylací promotoru tumor supresorových genů [44]. Nasazení nukleosidových analogů s cílem inhibovat aktivitu metyltransferáz tak umožňuje hypermetylacii předcházet. Z dalších příkladů o snahu modulace léčebné odpovědi prostřednictvím nukleosidových analogů lze zmínit souběžné podávání s PD-1 inhibitory [45].

Většina dalších léčiv spadajících do skupiny nukleosidových analogů se nachází v raných fázích klinických hodnocení. Jedním z příkladů těchto analogů je guadecitabin. Jedná se o dinukleotid tvořený decitabinem spojeným fosfodiesterovou vazbou s deoxyguanosinovým analogem, což zaručuje delší poločas rozpadu v organismu [46]. Ve studii fáze III zaměřené na pacienty s akutní myeloidní leukemií nevedlo jeho podávání v porovnání se standardními léčebnými postupy ke zlepšení celkového přežití [47], lék je však dále testován v odlišných indikacích. Z dalších analogů lze zmínit 5-fluoro-2'-deoxycytidin (*FdCyd*) testovaný v kombinaci s tetrahydrouridinem [48] ve studii fáze II, kde však nebylo dosaženo vytyčených cílů stran přežití bez progresu a léčebné odpovědi, či 5-aza-4'-thio-2'-deoxycytidin (*Aza-TdC*), který je testován ve fázi I zaměřené na pacienty s pokročilými solidními nádory [49].

Pro inhibitory přímo interagující s metyltransferázami byla demonstrována

celá řada mechanismů účinku, které zahrnují vazbu do aktivního místa enzymu, alosterické působení či působení tzv. antisense oligonukleotidů. Inhibitory vážící se do aktivního místa enzymu přímo zabráňují jeho interakci se substrátem. Tato skupina zahrnuje jak syntetické sloučeniny, jako je molekula RG108 či antihypertenzivum hydralazin [50], tak přírodní sloučeniny jako epigallocatechin-3-gallát obsažený v listech zeleného čaje [51]. Alosterické inhibitory po navázání mění prostorovou konformaci proteinu, a tím znemožňují jeho další aktivitu. Jako příklady lze zmínit pyrazolon a pyrizadin. Tyto dvě sloučeniny byly identifikovány na základě screeningu knihoven chemických sloučenin a demonstrovaly selektivitu pro metyltransferázu DNMT3A. Díky této skutečnosti představují kandidátní léčiva pro další vývoj v této oblasti [52]. Agens fungující na principu antisense oligonukleotidů, mezi které patří sloučenina MG98, interferují s translací mRNA genů kódujících DNA metyltransferázy, a zabráňují tak jejich proteosyntéze [53].

Závěr

Studium aberantní metylace DNA, stejně tak jako ostatních typů epigenetických změn, vedlo ke zvýšení komplexnosti, s jakou na problematiku vzniku a rozvoje nádorových onemocnění nahlížíme, a přineslo zcela nové možnosti pro jejich diagnostiku a terapii. Co se týče role aberantní metylace DNA jakožto biomarkeru, tak velké množství publikovaných prací demonstruje, že její stanovení může nést značné implikace pro diagnostiku primárního onemocnění, detekci jeho rekurence, odhad prognózy či predikci léčebného efektu. V rámci této přehledové práce bylo představeno několik příkladů testů využívajících stanovení úrovně metylace vybraných genů, a to zejména těch, které disponují certifikací pro využití v laboratorní diagnostice. Počet publikovaných kandidátních biomarkerů toto množství mnohonásobně převyšuje, avšak pro málokteré z nich je vyvinut laboratorní test, jenž by byl následně validován na rozsáhlejší prospektivní kohortě. Dalším důležitým aspektem je poté implementace vyvinutých testů do rutinní klinické praxe. V tomto

ohledu se testy založené na stanovení metylace nejvíce uplatňují v oblasti diagnostiky nádorů CNS, zejména se to týká stanovení metylace promotoru *MGMT*, které je součástí metodického portfolia mnoha laboratoří molekulární patologie, a recentně pak také profilování s pomocí microarray platformy Infinium od společnosti Illumina používané ke klasifikaci nádorů CNS, jehož dostupnost se díky diagnostickým kritériím představeným v poslední edici příslušné WHO klasifikace napříč laboratořemi zvyšuje. Nejnovější metodické přístupy, jako je sekvenování třetí generace, pak díky svojí rychlosti poukazují na přenositelnost tohoto inovativního konceptu do peroperativní diagnostiky, kde může zásadně pomoci při rozhodování o nutnosti radikality resekce, jejíž větší rozsah s sebou často nese rizika neurologického poškození.

Role aberantní metylace DNA jako biomarkeru je bezesporu na vzestupu, pro její využití jakožto léčebného cíle však nedochází v posledních letech k výraznému pokroku a slibné výsledky preklinických studií jsou pouze minimálně reflektovány ve výsledcích navazujících klinických hodnocení. Od schválení nukleosidových analogů azacytidinu a decitabinu hojně využívaných zejména v hematologii nebyly žádné další sloučeniny do klinické praxe zavedeny. Obě léčiva se navíc potýkají s vysokým podílem pacientů, u kterých se vyvine sekundární rezistence, a mimo hematologické malignity je jejich efektivita u solidních tumorů minimální. Je však k dispozici narůstající evidence o jejich možném synergistickém efektu s dalšími protinádorovými léčivy, přičemž některé kombinace jsou již předmětem probíhajících klinických hodnocení.

Dedikace

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NV19-03-00562 a projektu Národní ústav pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

Literatura

- Hanahan D. Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discov* 2022; 12(1): 31–46. doi: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
- Shen H, Laird PW. Interplay between the cancer genome and epigenome. *Cell* 2013; 153(1): 38–55. doi: 10.1016/j.cell.2013.03.008.

- Lu Y, Chan Y-T, Tan H-Y et al. Epigenetic regulation in human cancer: the potential role of epi-drug in cancer therapy. *Mol Cancer* 2020; 19(1): 79. doi: 10.1186/s12943-020-01197-3.
- Das PM, Singal R. DNA methylation and cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22(22): 4632–4642. doi: 10.1200/JCO.2004.07.151.
- Martisoava A, Holcakova J, Izadi N et al. DNA methylation in solid tumors: functions and methods of detection. *Int J Mol Sci* 2021; 22(8): 4247. doi: 10.3390/ijms22084247.
- Vaisvila R, Ponnaluri VKC, Sun Z et al. Enzymatic methyl sequencing detects DNA methylation at single-base resolution from picograms of DNA. *Genome Res* 2021; 31(7): 1280–1289. doi: 10.1101/gr.266551.120.
- Herman JG, Graff JR, Myöhänen S et al. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93(18): 9821–9826. doi: 10.1073/pnas.93.18.9821.
- Wojdacz TK, Dobrovic A. Methylation-sensitive high resolution melting (MS-HRM): a new approach for sensitive and high-throughput assessment of methylation. *Nucleic Acids Res* 2007; 35(6): e41. doi: 10.1093/nar/gkm013.
- Schatz MC. Nanopore sequencing meets epigenetics. *Nat Methods* 2017; 14(4): 347–348. doi: 10.1038/nmeth.4240.
- Clark TA, Spittle KE, Turner SW et al. Direct detection and sequencing of damaged DNA bases. *Genome Integr* 2011; 2: 10. doi: 10.1186/2041-9414-2-10.
- Chen D-P, Lin Y-C, Fann CSJ. Methods for identifying differentially methylated regions for sequence- and array-based data. *Brief Funct Genomics* 2016; 15(6): 485–490. doi: 10.1093/bfpg/ewl018.
- Schwarzenbach H, Hoon DSB, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2011; 11(6): 426–437. doi: 10.1038/nrc3066.
- Usadel H, Brabender J, Danenberg KD et al. Quantitative adenomatous polyposis coli promoter methylation analysis in tumor tissue, serum, and plasma DNA of patients with lung cancer. *Cancer Res* 2002; 62(2): 371–375.
- Bearzatto A, Conte D, Frattini M et al. p16^{INK4A} hypermethylation detected by fluorescent methylation-specific PCR in plasmas from non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2002; 8(12): 3782–3787.
- Weiss G, Schlegel A, Kottwitz D et al. Validation of the SHOX2/PTGER4 DNA methylation marker panel for plasma-based discrimination between patients with malignant and nonmalignant lung disease. *J Thorac Oncol* 2017; 12(1): 77–84. doi: 10.1016/j.jtho.2016.08.123.
- Lin KW. mSEPT9 (Epi proColon) blood test for colorectal cancer screening. *Am Fam Physician* 2019; 100(1): 10–11.
- Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH et al. Multi-target stool DNA testing for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med* 2014; 370(14): 1287–1297. doi: 10.1056/NEJMoa1311194.
- FDA. List of cleared or approved companion diagnostic devices (in vitro and imaging tools). [online]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/medical-devices/in-vitro-diagnostics/list-cleared-or-approved-companion-diagnostic-devices-in-vitro-and-imaging-tools>.
- Barták BK, Kalmár A, Péterfia B et al. Colorectal adenoma and cancer detection based on altered methylation pattern of SFRP1, SFRP2, SDC2, and PRIMA1 in plasma samples. *Epigenetics* 2017; 12(9): 751–763. doi: 10.1080/15592294.2017.1356957.
- Clarke CA, Hubbell E, Ofman JJ. Multi-cancer early detection: a new paradigm for reducing cancer-specific and all-cause mortality. *Cancer Cell* 2021; 39(4): 447–448. doi: 10.1016/j.ccell.2021.02.004.
- Klein EA, Richards D, Cohn A et al. Clinical validation of a targeted methylation-based multi-cancer early detection test using an independent validation set. *Ann Oncol* 2021; 32(9): 1167–1177. doi: 10.1016/jannonc.2021.05.806.

22. Witjes JA, Morote J, Cornel EB et al. Performance of the bladder EpiCheck™ methylation test for patients under surveillance for non-muscle-invasive bladder cancer: results of a multicenter, prospective, blinded clinical trial. *Eur Urol Oncol* 2018; 1(4): 307–313. doi: 10.1016/j.euo.2018.06.011.
23. Lin H, Chen T-C, Chang T-C et al. Methylated ZNF582 gene as a marker for triage of women with Pap smear reporting low-grade squamous intraepithelial lesions – a Taiwanese Gynecologic Oncology Group (TGOG) study. *Gynecol Oncol* 2014; 135(1): 64–68. doi: 10.1016/j.jgyn.2014.08.012.
24. Kan Y-Y, Liou Y-L, Wang H-J et al. PAX1 methylation as a potential biomarker for cervical cancer screening. *Int J Gynecol Cancer* 2014; 24(5): 928–934. doi: 10.1097/IGC.0000000000001155.
25. Schmitz M, Eichelkraut K, Schmidt D et al. Performance of a DNA methylation marker panel using liquid-based cervical scrapes to detect cervical cancer and its precancerous stages. *BMC Cancer* 2018; 18(1): 1197. doi: 10.1186/s12885-018-5125-8.
26. Moran S, Martínez-Cardús A, Sayols S et al. Epigenetic profiling to classify cancer of unknown primary: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2016; 17(10): 1386–1395. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30297-2.
27. Capper D, Jones DTW, Sill M et al. DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. *Nature* 2018; 555(7697): 469–474. doi: 10.1038/nature26000.
28. Koelsche C, Schimpf D, Stichel D et al. Sarcoma classification by DNA methylation profiling. *Nat Commun* 2021; 12(1): 498. doi: 10.1038/s41467-020-20603-4.
29. Louis DN, Perry A, Wesseling P et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Neuro Oncol* 2021; 23(8): 1231–1251. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
30. Jaunmuktane Z, Capper D, Jones DTW et al. Methylation array profiling of adult brain tumours: diagnostic outcomes in a large, single centre. *Acta Neuropathol Commun* 2019; 7(1): 24. doi: 10.1186/s40478-019-0668-8.
31. Kuschel LP, Hench J, Frank S et al. Robust methylation-based classification of brain tumours using nanopore sequencing. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2023; 49(1): e12856. doi: 10.1111/nan.12856.
32. Vermeulen C, Pagès-Gallego M, Kester L et al. Ultra-fast deep-learned CNS tumour classification during surgery. *Nature* 2023; 622(7984): 842–849. doi: 10.1038/s41586-023-06615-2.
33. Quillien V, Lavenu A, Ducray F et al. Clinical validation of the CE-IVD marked Therascreen MGMT kit in a cohort of glioblastoma patients. *Cancer Biomark* 2017; 20(4): 435–441. doi: 10.3233/CBM-170191.
34. 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.
35. Wick W, Platten M, Meisner C et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(7): 707–715. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70164-X.
36. Malmström A, Grønberg BH, Marosi C et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(9): 916–926. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70265-6.
37. Mansouri A, Hachem LD, Mansouri S et al. MGMT promoter methylation status testing to guide therapy for glioblastoma: refining the approach based on emerging evidence and current challenges. *Neuro Oncol* 2019; 21(2): 167–178. doi: 10.1093/neuonc/nyy132.
38. Schmitt M, Wilhelm OG, Noske A et al. Clinical validation of PITX2 DNA methylation to predict outcome in high-risk breast cancer patients treated with anthracycline-based chemotherapy. *Breast Care (Basel)* 2018; 13(6): 425–433. doi: 10.1159/000493016.
39. Scott LJ. Azacitidine: a review in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukaemia. *Drugs* 2016; 76(8): 889–900. doi: 10.1007/s40265-016-0585-0.
40. Jones PA, Taylor SM. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. *Cell* 1980; 20(1): 85–93. doi: 10.1016/0092-8674(80)90237-8.
41. Garcia JS, Jain N, Godley LA. An update on the safety and efficacy of decitabine in the treatment of myelodysplastic syndromes. *Onco Targets Ther* 2010; 3: 1–13. doi: 10.2147/ott.s7222.
42. Gu X, Tohme R, Tomlinson B et al. Decitabine- and 5-azacytidine resistance emerges from adaptive responses of the pyrimidine metabolism network. *Leukemia* 2021; 35(4): 1023–1036. doi: 10.1038/s41375-020-1003-x.
43. Stomper J, Rotondo JC, Greve G et al. Hypomethylating agents (HMA) for the treatment of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes: mechanisms of resistance and novel HMA-based therapies. *Leukemia* 2021; 35(7): 1873–1889. doi: 10.1038/s41375-021-01218-0.
44. Romero-Garcia S, Prado-Garcia H, Carlos-Reyes A. Role of DNA methylation in the resistance to therapy in solid tumors. *Front Oncol* 2020; 10: 1152. doi: 10.3389/fonc.2020.01152.
45. Dai M, Liu M, Yang H et al. New insights into epigenetic regulation of resistance to PD-1/PD-L1 blockade cancer immunotherapy: mechanisms and therapeutic opportunities. *Exp Hematol Oncol* 2022; 11(1): 101. doi: 10.1186/s40164-022-00356-0.
46. Daher-Reyes GS, Merchan BM, Yee KWL. Guadecitabine (SGL-110): an investigational drug for the treatment of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Expert Opin Investig Drugs* 2019; 28(10): 835–849. doi: 10.1080/13543784.2019.1667331.
47. Roboz GJ, Sanz G, Griffiths EA et al. Results from a global randomized phase 3 study of guadecitabine (G) vs treatment choice (TC) in 302 patients with relapsed or refractory (r/r) acute myeloid leukemia after intensive chemotherapy (ASTRAL-2 study). *Blood* 2021; 138(Suppl 1): 2344. doi: 10.1182/blood-2021-147769.
48. O'Sullivan Coyne G, Wang L, Zlott J et al. Intravenous 5-fluoro-2'-deoxycytidine administered with tetrahydro-ridine increases the proportion of p16-expressing circulating tumor cells in patients with advanced solid tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2020; 85(5): 979–993. doi: 10.1007/s00280-020-04073-5.
49. Nguyen J, O'Sullivan Coyne G, Takebe N et al. Phase I trial of 5-aza-4'-thio-2'-deoxycytidine (Aza-TdC) in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2021; 39(Suppl 15): 3088. doi: 10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.3088.
50. Arce C, Segura-Pacheco B, Perez-Cardenas E et al. Hydralazine target: from blood vessels to the epigenome. *J Transl Med* 2006; 4: 10. doi: 10.1186/1479-5876-4-10.
51. Fang MZ, Wang Y, Ai N et al. Tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits DNA methyltransferase and reactivates methylation-silenced genes in cancer cell lines. *Cancer Res* 2003; 63(22): 7563–7570.
52. Huang S, Stillson NJ, Sandoval JE et al. A novel class of selective non-nucleoside inhibitors of human DNA methyltransferase 3A. *Bioorg Med Chem Lett* 2021; 40: 127908. doi: 10.1016/j.bmcl.2021.127908.
53. Davis AJ, Gelmon KA, Siu LL et al. Phase I and pharmacologic study of the human DNA methyltransferase antisense oligodeoxynucleotide MG98 given as a 21-day continuous infusion every 4 weeks. *Invest New Drugs* 2003; 21(1): 85–97. doi: 10.1023/a:1022976528441.

Prostate cancer invasion is promoted by the miR-96-5p-induced NDRG1 deficiency through NF- κ B regulation

Invaze karcinomu prostaty je podporována nedostatkem NDRG1 vyvolaným miR-96-5p prostřednictvím regulace NF- κ B

Soror A. A.¹, Eshagh R.¹, Fahim M. R.¹, Jamshidian A.^{2,3}, Monfared G. H.^{1,3}

¹ Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, East Tehran Branch (Ghiamdasth), Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Tehran Medical Genetics Laboratory, Tehran, Iran

³ Molecular Genetic and Reproductive Biology Department, Kowsar Poly-clinic, Tehran, Iran

Summary

Background: The N-myc downstream-regulated gene 1 (*NDRG1*) has been discovered as a significant gene in the progression of cancers. However, the regulatory mechanism of *NDRG1* remained obscure in prostate cancer (PCa). **Methods:** The *miR-96-5p* and *NDRG1* expression levels were evaluated in PCa cell lines, and prostate tissues, and validated in public databases by real-time polymerase chain reaction, western blot analysis, and immunohistochemistry. The function of *miR-96-5p* and *NDRG1* were investigated by scratch assay and transwell assays *in vitro*, and mouse xenograft assay *in vivo*. The candidate pathway regulated by *NDRG1* was conducted by the next-generation gene sequencing technique. Immunofluorescence and luciferase assays were used to detect the relation between *miR-96-5p*, *NDRG1*, and NF- κ B pathway. **Results:** Overexpressing *NDRG1* suppresses the migration, invasion, and epithelial-mesenchymal transition (EMT) *in vitro*, and inhibits metastasis *in vivo*. Moreover, *miR-96-5p* contributes to *NDRG1* deficiency and promotes PCa cell migration and invasion. Furthermore, *NDRG1* loss activates the NF- κ B pathway, which stimulates p65 and *IKBa* phosphorylation and induces EMT in PCa. **Conclusions:** *MiR-96-5p* promotes the migration and invasion of PCa by targeting *NDRG1* and regulating the NF- κ B pathway.

Key words

prostate cancer – NDRG1 – miR-96-5p – NF- κ B – EMT

Souhrn

Východiska: N-myc downstream-regulovaný gen 1 (*NDRG1*) má významnou funkci při progresi nádorů. U karcinomu prostaty (prostate cancer – PCa) však regulační mechanismus *NDRG1* zůstává nejasný. **Materiál a metody:** Hladiny exprese *miR-96-5p* a *NDRG1* byly hodnoceny v buněčných liniích PCa a v tkáních prostaty a validovány ve veřejných databázích pomocí polymerázové řetězové reakce v reálném čase, analýzy western blot a imunohistochemie. Funkce *miR-96-5p* a *NDRG1* byla zkoumána pomocí testů hojení ran a transwell testů *in vitro* a testu myšího xenoinplantátu *in vivo*. Dráha regulovaná pomocí *NDRG1* byla testována technikou sekvenování nové generace. K detekci vztahu mezi *miR-96-5p*, *NDRG1* a NF- κ B dráhou byl použit imunofluorescenční test a test s luciferázou. **Výsledky:** Nadměrná exprese *NDRG1* potlačuje migraci, invazi a epiteliálně-mezenchymální přechod (EMT) *in vitro* a inhibuje metastázy *in vivo*. Navíc *miR-96-5p* přispívá k deficitu *NDRG1* a podporuje migraci a invazi buněk PCa. Kromě toho ztráta *NDRG1* aktivuje dráhu NF- κ B, která stimuluje fosforylaci p65 a *IKBa* a indukuje EMT v PCa. **Závěr:** *MiR-96-5p* podporuje migraci a invazi PCa tím, že cílí na *NDRG1* a reguluje dráhu NF- κ B.

Klíčová slova

karcinom prostaty – NDRG1 – miR-96-5p – NF- κ B – EMT

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

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

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

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



Hengameh Ghaffari Monfared
Department of Biology
Faculty of Biological Sciences
East Tehran Branch (Ghiamdasth)
Islamic Azad University
P.O. Box: 33955/16
Tehran, Iran
e-mail: dafli_p@yahoo.com



Aida Jamshidian
Molecular Genetic and Reproductive
Biology Department
Kowsar poly-clinic, P.O. box:
58681403,
Tehran, Iran
e-mail: dafli_p@yahoo.com

Submitted/Obdrženo: 27. 9. 2023
Accepted/Přijato: 28. 11. 2023

doi: 10.48095/ccko202495

Introduction

Prostate cancer (PCa) was the second most common malignant tumor in males. Based on the Globocan 2020 estimates of cancer, there were 1,414,259 new cases of PCa worldwide. Moreover, there were also 375,304 patients who died of PCa [1]. Most of the patients were in an advanced stage at the time of the first diagnosis, with lymph nodes or distant metastasis, especially in eastern Asian countries [2]. Although several treatments have been applied recently, the prognosis of PCa remains not well. Therefore, it is necessary to look for reliable biomarkers that play a crucial role in tumor growth and metastasis to distinguish early-stage tumors.

N-myc downstream-regulated gene-1 (*NDRG1*) is located on chromosome 8q24.3, which contains 16 exons and 15 introns. It is an important member of the *NDRG* family [3,4]. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) is known as a crucial phenotypic conversion. In the process of EMT, cells can change from an epithelial state to a mesenchymal state in a highly plastic and dynamic way, modify the adhesion molecules expressed by cells and make them have migration and invasive behavior [5,6]. Some previous studies have demonstrated that *NDRG1* potentially inhibited cancer cell migration, invasion, and EMT by affecting the indispensable molecules involved in metastasis [7,8]. Similar studies suggested that *NDRG1* could bind to β -catenin and E-cadherin directly, indicating that these proteins formed a complex. Under the stimulation of WNT3a, ectopic overexpression of *NDRG1* maintained β -catenin on the plasma membrane of colon and PCa cells, which blocked the activation of the Wnt pathway [9,10]. In addition, Xi et al. have recently found an effective way to inhibit TNF- α and LYRIC-induced EMT through *NDRG1* [11]. *NDRG1* also modulated EMT by regulating the level of related protein expression. Elevating E-cadherin and inhibiting vimentin, N-cadherin, slug, and snail-1 have been established by Lee et al. in oral squamous cancer cells [12]. It has also been suggested that *NDRG1* potentially attenuates EMT by inhibiting the expression of *Smad2* and suppressing the latter-related protein

in nasopharyngeal cancer [13]. Though several molecular pathways illustrating the function of *NDRG1* have been partially elucidated, the underlying mechanism responsible for *NDRG1* and EMT in PCa is still needed further exploration.

MicroRNAs (miRNA) are small endogenous non-coding RNA that binds to a specific sequence of target gene 3' untranslated region (3'UTR) and affects the post-transcriptional regulation of the target gene, which might result in mRNA degradation or translation inhibition [14]. The dysregulation of miRNA in cancer is widely confirmed, and several types of research have shown that the level of miRNA expression was related to tumor metastasis [15,16]. *MiR-96* is a member of the *miR-183* cluster and has been demonstrated to act as an oncogene or tumor suppressor in tumors [17–21]. Furthermore, recent literature has identified that *miR-96* also modulated EMT by regulating the level of related protein expression. Notably, He et al. showed that *miR-96* regulated the protein of the EMT-related gene *FOXQ1*, which could be modulated by TGF- β 1 in bladder cancer [22]. A study by Wang et al. implicated that *miR-96-5p* promoted proliferation and EMT by directly regulating *FOXF2* expression in oral squamous cell carcinoma [23]. Moreover, the circPTPRA and RASSF8 suppressed EMT and metastasis of non-small cell lung carcinomas also by competitive sponging *miR-96-5p* [24]. *MiR-96-5p* was markedly upregulated in PCa compared to normal tissue and it acted as an oncogene in some previous studies [25–28]. However, the mechanisms of *miR-96-5p* as a tumor promoter in PCa have not been fully elucidated. The NF- κ B pathway has been studied for many years and its significant role in immunity, inflammation and other physiological processes has been fully confirmed. Previous studies showed that EMT was potentially administrated by several signaling pathways, such as TGF- β , Wnt, and ErbB [29,30]. While accumulating studies have indicated that the NF- κ B signaling pathway also played a crucial role in inducing and maintaining EMT in a variety of tumors [31–34]. Furthermore, some evidence has illustrated that activation

of the NF- κ B pathway was also related to the metastasis of PCa [16,35].

Materials and Methods

Study design

This research aimed at evaluating the prostate cancer migration and invasion by miR-96-5p-induced *NDRG1* deficiency through regulation of the NF- κ B signaling pathway, with a randomized clinical trial (registered at Iranian Registry of Clinical Trials, N22021073034422), which was conducted in the Molecular Genetic and Reproductive Biology Department, Kowsar poly-clinic, Tehran, Iran. The study was approved by the Ethics Committee of Kowsar polyclinic Research Institute and all participants signed informed written consent prior to the experiment whose prostate tissues were taken.

Clinical samples and cell lines

Twenty paired PCa and adjacent normal prostate tissue were collected during surgery at the Molecular Genetic and Reproductive Biology Department, Kowsar polyclinic, Tehran, Iran. RWPE-1, LNCaP, C4-2, PC3, and DU145 cell lines were obtained from American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA). RWPE-1 cells were grown in keratinocyte-SFM (Invitrogen, USA). LNCaP, C4-2, PC3, and DU145 were cultured in RPMI1640 medium containing 10% fetal bovine serum (FBS) and penicillin-streptomycin (100 U/mL) (Solarbio, Beijing, China). All cell lines were incubated under a humidified atmosphere at 37 °C with 5% CO₂. This study has complied with the ARRIVE guidelines and was carried out in accordance with the U.K. Animals Act, 1986, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, as well as respecting the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978). Twelve replicates per each condition of the experiment were evaluated.

Western blot

After cleaning with cold PBS twice, the tissues or cells were collected, and then extracted the whole cell lysate with RIPA buffer (Solarbio, Beijing, China) concentration was measured by a de-

tection kit (Solarbio, Beijing, China) according to the manufacturer's guidance. The same amount of protein in each sample was placed in 10% gel by SDS-PAGE and then transferred to the nitrocellulose membrane. To block the membrane, 5% non-fat milk or 5% BSA (Solarbio, Beijing, China) was utilized, then incubated with primary antibodies anti-NDRG1, diluted 1 : 10 000, Ki-67, diluted 1 : 1 000, Abcam; p65, p-p65, IκBα, p-IκBα, diluted 1 : 1 000, Cell Signaling Technology; E-cadherin, N-cadherin diluted 1 : 1 000, GAPDH, diluted 1 : 2 000, vimentin, diluted 1 : 10 000 Proteintech). After incubation with the corresponding secondary peroxidase-conjugated antibody, the protein bands were displayed with chemiluminescence dissolvent (Solarbio, Beijing, China).

Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) analysis

Total RNA was extracted by utilizing TRIzol reagent (Invitrogen, USA) following the manufacturer's guidance. Then 5 μg total RNA was transcribed to cDNA according to the protocol supplied with the HiFiScript cDNA Synthesis Kit (Cwbio, Taizhou, China). The mRNA expression was measured by SYBR Green qPCR master mix. The expression levels of all mRNA were normalized to GAPDH or U6. GAPDH is constitutively expressed in almost all tissues in high amounts. For this reason, GAPDH has been chosen as a control for protein normalization. All assays were conducted three times independently. The primers for qRT-PCR were listed as followed:

- *NDRG1* forward:
5'-GTCCTTATCAACGTGAACCTT-3'
- *NDRG1* reverse:
5'-GCATTGGTCGCTCAATCTCCA-3'
- *GAPDH* forward:
5'-GCTCTCTGCTCCTCTGTTC-3'
- *GAPDH* reverse:
5'-ACGACCAAATCCGTTGACTC-3'
- *miR-96-5p* forward:
5'-CCTCGATTTGGCACTAGCAC-3'
- *miR-96-5p* reverse:
5'-TATGGTTGTTCTGCTCTGTCTC-3'
- *U6* forward:
5'-CGCTTCGGCAGCATATAC-3'
- *U6* reverse:
5'-TTCACGAATTGCGTGCATC-3'

Immunofluorescence

Each group of cells was seeded on 24-well plates using glass coverslips (Beijing Solarbio, China), fixed with 4% paraformaldehyde, and infiltrated with 0.5% Triton X-100. Then, 5% BSA was used to block cells for 1 hour and incubated with the primary antibody. *NDRG1*, (diluted 1 : 200, Abcam), p-P65 (diluted 1 : 1 600, CST) at 4°C overnight, followed by incubation with FITC-labeled or TRITC-labeled secondary antibody (diluted 1 : 200, Proteintech, China) for 2 hours. Finally, the cells were stained with DAPI, and the images were detected under a confocal microscope (FV500; Olympus).

Immunohistochemical analysis

Tissue microarray was purchased from Alenabio, Xi'an (PR803d). The six tissues with lymph node metastasis were also collected from the Molecular Genetic and Reproductive Biology Department, Kowsar poly-clinic, Tehran, Iran. Standard immunohistochemistry (IHC) protocols were applied with specific antibodies following previously reported [36].

Luciferase reporter assay

The luciferase reporter assay was conducted with the Dual-Luciferase Reporter Assay kit (Promega, USA) pmirGLO; pmirGLO-WT and pmirGLO-MUT for *NDRG1*-3'UTR were cotransfected into 293T cell lines, together with *miR-96-5p* or *miR-183-5p* mimics, by using Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen, USA). After transfection in 48 hours, Renilla luciferase activity acts as a standard of the relative luciferase activity. Three independent assays were performed.

Cell transfection

The cells were transfected with the control, siRNA, miRNA mimics/inhibitors were purchased from GenePharma (Shanghai, China) using Lipofectamine™ 2000 (Thermo Fisher, USA) following the manufacturer's guidance. siRNAs for *NDRG1* were defined as siNDRG1#1 and siNDRG1#2, siNDRG1#3, respectively. All siRNA are listed as followed: si1: *NDRG1*-homo-688, si2:*NDRG1*-homo-835, and si3: *NDRG1*-homo-956. To overexpress *NDRG1*, full-length *NDRG1*

was cloned into a modified LV18 lentiviral vector (GenePharma, Shanghai, China), while an empty vector served as a control and was screened with puromycin. Luciferase express LV11 lentiviral vector (GenePharma, Shanghai, China) was transfected and screened with neomycin scratch assay. LNCaP, C4-2, PC3, and DU145 cells were added into 6-well plates with a density of 6×10^5 cells per well. When the cells are fully attached, the 2-mm scratch will divide the well into three equal parts. Next, the cells were cultured in a serum-free medium for 48 hours. The cells were detected and photographed at 0, 24 and 48 hours, respectively. The scratch healing rate was calculated by ImageJ software.

Migration and invasion assays

Cell migration and invasion abilities were identified by transwell chambers which consist of an 8-mm membrane filter covered with or without Matrigel (BD Biosciences). The cells were cultured with serum-free medium for 24 hours before use. The cells ($1-2 \times 10^5$) in serum-free medium were seeded to the upper chambers. Lower chambers were supplied with a medium containing 10% FBS. After incubation for 24–48 hours, the cells at the bottom of the chamber were fixed with 4% paraformaldehyde, infiltrated with 0.5% Triton X-100, stained with DAPI, and counted by a fluorescence microscope.

Animal experiment

Animal experiments have been approved by the Ethics Committee of the medical supervisory team, Molecular Genetic and Reproductive Biology Department, Kowsar poly-clinic, Tehran, Iran. This study has complied with the ARRIVE guidelines and was carried out in accordance with the U.K. Animals Act, 1986, EU Directive 2010/63/EU for animal experiments, as well as respecting the National Institutes of Health guide for the care and use of Laboratory animals (NIH Publications No. 8023, revised 1978). BALB/c nude male mice (5–6 weeks old) were raised in a room under sterile conditions. The DU145 cells with high expression of *NDRG1* were di-

rectly subcutaneously injected to establish the model of subcutaneous xenograft (N = 5 mice/group, 3.0×10^6 cells / 100 μ L). The cells were added to Matrigel (BD Biosciences) with a culture medium (1:1 diluted). D-luciferin/D-PBS at a concentration of 15 mg/mL was given through intraperitoneal injections with 10 μ L/g for imaging after 6 weeks of feeding and then all primary tumors were carried out. The two mice with suspected metastatic foci were kept feeding for 8 weeks. Primary tumors and suspected metastatic foci were excised, embedded, and fixed. Hematoxylin & eosin staining and immunohistochemistry analyses were conducted.

Statistical analysis

SPSS v.21.0 software (USA) and GraphPad Prism Software 7.0 (USA) were used for data assessment. Mean \pm SD was used to show experimental results. Student's t-test or one-way ANOVA was used to reveal the differences between the groups. P-values < 0.05 were considered statistically significant.

Results

NDRG1 expression is decreased in PCa and affected the prognosis of patients. To investigate the clinical significance of *NDRG1* in PCa, the mRNA sequencing dataset of PCa from the Oncomine database [37] was evaluated. The dataset showed that *NDRG1* expression was decreased in PCa compared with the normal tissues and showed a declined trend with Gleason score increase (Fig. 1A, B). The expression of *NDRG1* was also downregulated in mRNA and protein levels in PCa cells (DU145, LNCaP, C4-2, PC3) compared with normal prostate epithelial cells (RWPE-1) (Fig. 1C, D). Most of the proteins are located in the cytoplasm (Fig. 1E). Our study further measured the expression levels of *NDRG1* in 20 paired PCa patients and an 80-point tissue chip combined with six metastatic specimens. The *NDRG1* expression level in PCa was also decreased. There was a tendency for a gradual decrease of *NDRG1* level in normal tissue, benign prostatic hyperplasia tissue, localized PCa, and metastatic PCa tissue judged by immunohistochemistry (Fig. 1F–H). Furthermore, the patients

with a high level of *NDRG1* had higher overall survival than the low according to the dates from GSE16560 (N = 281) [38].

NDRG1 suppresses EMT, migration, and invasion in PCa cells

To determine the function of *NDRG1* in human PCa cells, we transfected lentivirus to overexpress *NDRG1* in two cell lines (LNCaP, DU145) with relatively low expression of *NDRG1* (Fig. 2A) and siRNA to silenced *NDRG1* in relatively high expression of *NDRG1* cell lines (C4-2, PC3). To achieve a better-silenced effect, we selected three siRNA to identify in two cell lines (Fig. 3A). The C42 and PC3 were knocked out with siRNA1 and siRNA2, respectively. Relative to control cells, *NDRG1*-overexpressing cells significantly inhibited migration and *NDRG1* knockdown cells significantly promoted migration in the scratch assay (Fig 2. C, D, 3C, D). Transwell assays were also performed and the result indicated a consistent trend in migration. The overexpression group showed a strong ability to inhibit invasion and the knocking-down group showed a high ability to promote invasion, especially in the PC3 cell line (Fig. 2E, F, 3E, F). Furthermore, western blot analysis implicated that upregulating *NDRG1* increased the expression of E-cadherin and decreased vimentin and N-cadherin in LNCaP and DU145 cells (Fig. 2B). Conversely, silencing *NDRG1* had an opposite effect on these EMT markers (Fig. 3B). These results demonstrate that *NDRG1* suppresses migration, invasion, and EMT in PCa cells *in vitro*. *Mir-96-5p* expression is increased in PCa and promotes EMT in PCa cells. The *mir-96-5p* expression was analyzed by miRNA sequencing dataset of PCa from The Cancer Genome Atlas (TCGA) [39]. The data suggested that *mir-96-5p* was significantly upregulated in PCa compared with adjacent normal tissues (Fig. 4A). We further investigated the expression levels of *mir-96-5p* in different cell lines. Compared with the RWPE1 cell line, the expression of *mir-96-5p* was significantly increased (Fig. 4B). In the tumor tissues, we found the same trend (Fig. 4C). Then, transfection of PC3 cells was performed with mimic and inhibitor of *mir-96-5p*.

The wound-healing assays revealed that overexpression or knocking down of *mir-96-5p* can promote or inhibit migration, respectively (Fig. 4D). Transwell assays further confirmed that *mir-96-5p* could promote migration and invasion of PCa (Fig. 4E). *NDRG1* is directly targeted by *mir-96-5p*, and *NDRG1* is important for miR-96-5p-mediated EMT. Our previous study found that *mir-182-5p* could target the expression of *NDRG1* [40]. Further exploration of the possible mechanism that contributed to *NDRG1* downregulation in PCa, we used bioinformatics databases TargetScanHuman 7.2 to predict potential miRNA targets in *NDRG1* mRNA [41]. Interestingly, we found *mir-96-5p* and *mir-183-5p* may both have the opportunity to combine with *NDRG1* mRNA 3'-UTR binding sites. Moreover, *mir-183~96~182* as a cluster had been considered to play a significant role in tumor cell survival, proliferation, and migration. Further sequence analysis indicated the presence of only one putative binding site for *mir-96-5p* and *mir-183-5p* in the *NDRG1* 3'-UTR. Luciferase assay was carried out to detect the changes of *mir-96-5p* (Fig. 5B) and *mir-183-5p* transiently transfected with WT *NDRG1* 3'-UTR and mutated *NDRG1* 3'-UTR in 293T cells. As shown in Fig. 2, luciferase activity was remarkably repressed only in WT *NDRG1* 3'-UTR. While there was no significant change in fluorescence value when mutated *NDRG1* 3'-UTR co-transfected with *mir-96-5p* in 293T cells. Further verification of the regulatory relationship, western blot was conducted in different treatment groups in PC3 cells. Fig. 5C showed that *mir-96-5p* inhibitor could upregulate *NDRG1* expression while *mir-96-5p* mimics downregulate *NDRG1* expression. Moreover, Spearman's correlation analysis of the TCGA database demonstrated that *mir-96-5p* mRNA level was negatively correlated with *NDRG1* mRNA level in PCa tissues ($r = -0.192$, $P < 0.001$; Fig. 5D) by using the star base database. Clinical samples also demonstrated that the expression of mRNA levels was negatively correlated with each other ($r^2 = 0.397$, $P < 0.01$; Fig. 5E). There were significant differences in the ability of migration and invasion between the

control group and the group transfected with *miR-96-5p* inhibitor or *siNDRG1* in PC3 cells (Fig. 5F, G). Western blot indicating protein changes also illustrated that *NDRG1* was crucial to *miR-96-5p* mediated EMT (Fig. 5F, G).

Downregulating *NDRG1* activates the NF- κ B signaling pathway promoting EMT in PCa cells

To further assess the mechanism of *NDRG1* promoting the metastasis of PCa, the next generation sequence was used to compare overexpressed *NDRG1* cells in DU145 with normal cells (Fig. 6A). By comparing the GO enrichment analysis of downstream pathway changes, we found that the PI3K-AKT pathway has been significantly modified (Fig. 6B). It has been confirmed that NF- κ B could be activated as a downstream pathway of pAKT in many pieces of research. So, we further explored the relationship between *NDRG1* and NF- κ B pathway. We analyzed the subcellular localization of phosphorylated p65 (p-p65) in PC3 and C4-2 cells using immunofluorescence. Knocking down the expression of *NDRG1* could increase the number of p-p65 and promote its nuclear translocation (Fig. 6C). Western blot also demonstrated that downregulating *NDRG1* increased the expression of p-p65 and phosphorylated I κ B α (p-I κ B α) in C4-2 and PC3 cells (Fig. 6D). To further verify whether *NDRG1* can mediate EMT through the NF- κ B pathway, we added pyrrolidinedithiocarbamate ammonium (PDTC) with 1.0 ng/mL, an inhibitor of NF- κ B pathway. When PDTC was added in PC3 cells, the content of p-p65 and p-I κ B α was induced as well as the expression of vimentin and N-cadherin. However, there was an increased level of p-p65 and p-I κ B α when downregulating *NDRG1*. Moreover, inhibition of NF- κ B signaling by PDTC impaired the stimulatory effect of *NDRG1* down-expression on EMT in PCa cells (Fig. 6E, F). The above data indicate that downregulating *NDRG1* activates the NF- κ B signaling pathway promoting EMT in PCa cells.

Elevating *NDRG1* inhibits PCa metastasis *in vivo*

To determine the function of *NDRG1* on the metastasis of PCa *in vivo*, we used

lentivirus to overexpress *NDRG1* in luciferase-labeled vector DU145 cells and established the xenograft model by directly subcutaneous injection of tumor cells into nude mice. As shown in Fig. 7A, compared with the control group, the metastatic ability of the overexpression group was lower. After feeding for 6 weeks, there were two mice in the control group had distant metastases, while no suspicious lesions were found in the treatment group under the imaging system. We also discovered that the tumor volume and weight were significant differences between the two groups. Up-regulating *NDRG1* inhibited tumor proliferation at the same time (Fig. 7B–D). Hematoxylin & eosin staining showed the tumor *in situ* and one typical distant metastasis lesion near the spine. The red arrow indicated the metastatic tumor area (Fig. 7E). Furthermore, the immunohistochemistry of tumor tissue and western blot demonstrated that up-regulating *NDRG1* dramatically reduced the level of Ki-67 and vimentin, while increasing E-cadherin (Fig. 7F, G). Consequently, these findings demonstrate that elevating *NDRG1* inhibits PCa proliferation and metastasis *in vivo*.

Discussion

The main findings of our study display novel insights that *miR-96-5p* induced *NDRG1* deficiency and activated NF- κ B signal pathway, which further promoted the EMT of PCa. Here, we observed that *NDRG1* expression was decreased in PCa tissues, and high expression of *miR-96-5p* correlated with PCa cell migration and invasion. Our results further indicated that *miR-96-5p* via directly targeting *NDRG1* promoted EMT in PCa cells, leading to the development of PCa metastasis. Therefore, our study uncovered novel insights that *miR-96-5p* promotes EMT through *NDRG1* and NF- κ B signal pathways, elucidating the tumor suppressor gene of *NDRG1* and the oncogenic function of *miR-96-5p* in PCa. The role of *NDRG1* in inhibiting the progression of metastasis has been described in different cancer research [42–44]. Other studies also partly elucidated the mechanism of decreased levels of *NDRG1* in PCa and its possible ways of regulating

expression [36,40]. In fact, available evidence has indicated that *NDRG1* might act as a tumor suppressor in several PCa cell lines through different molecular mechanisms [9,11]. However, the mechanism of *NDRG1* regulating migration and invasion is still partly unknown. In our study, we illustrated that inhibiting the activation of the NF- κ B pathway could change the EMT markers induced by *NDRG1* depletion, and *miR-96-5p* inhibitors overexpression also reversed the effect of *NDRG1* downregulation to the EMT markers. We also demonstrated that overexpression of *NDRG1* inhibited the proliferation and metastasis of PCa *in vivo*. Higher *miR-96-5p* expression was also accompanied by lower *NDRG1* expression in PCa tissues, which further illustrates the negative relation between the two molecules in PCa progression. More importantly, these demonstrate that *miR-96-5p* regulates *NDRG1* expression and *NDRG1* regulates EMT by modulating NF- κ B activation, in part, state that *NDRG1* suppressive function in cell migration, invasion, and EMT mediate by *miR-96-5p* and NF- κ B. *Mir-183* cluster is a significant gene located on the short arm of chromosome 7 (7q32.2). Three mature miRNAs (*miR-96*, *-182*, and *-183*) were generated from a single polycistronic transcript. The expression of the *miR-183* cluster has been documented in several cancers. Most studies assumed that the *miR-183* cluster has shown an oncogenic function in cancers, while some have suggested inhibition of these effects [43]. Other studies have illustrated that *miR-182-5p* induced *NDRG1* deficiency and promoted proliferation and metastasis in PCa cells [40]. In this study, we further explored the effect of *miR-96-5p* and *miR-183-5p* on *NDRG1*. Luciferase activity was remarkably repressed only in *miR-96-5p*. Several previous studies have suggested that *miR-96-5p* was upregulated in different kinds of tumors and a high level of *miR-96-5p* promoted cancer cell migration and invasion via different mechanisms and also predicted poor survival. Siu et al. illustrated that *miR-96-5p* could target the tumor suppressor ETV6, down-regulated EMT markers' expression in PCa [27]. Moreover, TGF- β could regulate

the expression of *miR-96* through Smad-dependent transcription. *MiR-96* also promoted bone metastasis in PCa [26]. Notably, a study by Long et al. showed that *miR-96* controlled the AR signaling pathway and promoted PCa progression by adjusting the RAR γ network [42,43]. In our study, these findings reveal that *miR-96-5p* is elevated in PCa and promoted EMT by regulating *NDRG1* expression to control NF- κ B pathway activity. A large number of studies have illustrated that the NF- κ B signal was significantly activated in several kinds of human tumors, which are closely associated with tumor progression and metastasis [31,42]. In glioma cancer, the activation of the NF- κ B signal played a significant role in promoting cell migration and invasion [42,44]. In colorectal cancer, *DCLK1* promoted EMT via the PI3K/Akt/NF- κ B pathway [32]. In addition, a study by Mei et al. has demonstrated that the level of *miR-145-5p* was induced by inhibiting the Sp1/NF- κ B pathway, which limited the migration and invasion of esophageal squamous cancer cells [33]. Accumulating evidence has illustrated that NF- κ B signaling played a crucial role in promoting the invasion and metastasis of PCa [16]. Shang et al. showed that lncRNA-PCAT1 induced CRPC progression by positively regulating AKT/NF- κ B signaling [32]. Notably, Zhang et al. discovered that migration and invasion enhancer 1 was an NF- κ B induced gene, which enhanced the proliferation and invasion of human PCa cells [23]. In the present study, we revealed that *miR-96-5p* activates the NF- κ B pathway by directly targeting *NDRG1*, which promotes EMT in PCa cells. Moreover, we also demonstrated that NF- κ B signaling activity plays a significant role in the invasion and migration of PCa cells.

Conclusions

In summary, we demonstrate that *NDRG1* loss is correlated with cell metastasis and poor prognosis of PCa patients. During the development of PCa, the abnormally high expression of *miR-96-5p* can promote this biological process, inhibit the expression of *NDRG1*, activate the NF- κ B pathway, and promote cell

EMT. Based on our findings, we propose a new molecular mechanism in which *miR-96-5p* promotes EMT by regulating *NDRG1* expression to control NF- κ B pathway activation in PCa. These findings provide a new understanding of the progression of PCa and further guide clinical practices.

Acknowledgments

This study was conducted at the Molecular Genetic and Reproductive Biology Department, Kowsar poly-clinic, Tehran, Iran, thus appreciating the spiritual support of this center is admitted.

Authors' contributions

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

Availability of data and materials

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

Consent for publication

By submitting this document, the authors declare their consent for the final accepted version of the manuscript to be considered for publication.

Declaration of interest

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71(3): 209–249. doi: 10.3322/caac.21660.
- Zhang K, Bangma CH, Roobol MJ. Prostate cancer screening in Europe and Asia. *Asian J Urol* 2017; 4(2): 86–95. doi: 10.1016/j.ajur.2016.08.010.
- Fang BA, Kovacevic Z, Park KC et al. Molecular functions of the iron-regulated metastasis suppressor, *NDRG1*, and its potential as a molecular target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1845(1): 1–19. doi: 10.1016/j.bbcan.2013.11.002.
- Qu X, Zhai Y, Wei H et al. Characterization and expression of three novel differentiation-related genes belong to the human *NDRG* gene family. *Mol Cell Biochem* 2002; 229(1–2): 35–44. doi: 10.1023/a:1017934810825.
- Nieto MA, Huang RY, Jackson RA et al. EMT: 2016. *Cell* 2016; 166(1): 21–45. doi: 10.1016/j.cell.2016.06.028.
- Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 1999; 139(5): 871–890. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.007.
- Liu W, Yue F, Zheng M et al. The proto-oncogene *c-Src* and its downstream signaling pathways are inhibited by the metastasis suppressor, *NDRG1*. *Oncotarget* 2015; 6(11): 8851–8874. doi: 10.18632/oncotarget.3316.
- Wangpu X, Lu J, Xi R et al. Targeting the metastasis suppressor, N-myc downstream regulated gene-1, with novel di-2-pyridylketone thiosemicarbazones: suppression of tumor cell migration and cell-collagen adhesion by inhibiting focal adhesion kinase/paxillin signaling. *Mol Pharmacol* 2016; 89(5): 521–540. doi: 10.1124/mol.115.103044.

- Jin R, Liu W, Menezes S et al. The metastasis suppressor *NDRG1* modulates the phosphorylation and nuclear translocation of beta-catenin through mechanisms involving *FRAT1* and *PAK4*. *J Cell Sci* 2014; 127(14): 3116–3130. doi: 10.1242/jcs.147835.
- Tu LC, Yan X, Hood L et al. Proteomics analysis of the interactome of N-myc downstream-regulated gene 1 and its interactions with the androgen response program in prostate cancer cells. *Mol Cell Proteomics* 2007; 6(4): 575–588. doi: 10.1074/mcp.M600249-MCP200.
- Xi R, Pun IH, Menezes SV et al. Novel thiosemicarbazones inhibit lysine-rich carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) coisolated (LYRIC) and the LYRIC-induced epithelial-mesenchymal transition via upregulation of N-myc downstream-regulated gene 1 (*NDRG1*). *Mol Pharmacol* 2017; 91(5): 499–517. doi: 10.1124/mol.116.107870.
- Lee JC, Chung LC, YJ Chen et al. N-myc downstream-regulated gene 1 downregulates cell proliferation, invasiveness, and tumorigenesis in human oral squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2014; 355(2): 242–252. doi: 10.1016/j.canlet.2014.08.035.
- Hu ZY, Xie WB, Yang F et al. *NDRG1* attenuates epithelial-mesenchymal transition of nasopharyngeal cancer cells via blocking Smad2 signaling. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1852(9): 1876–1886. doi: 10.1016/j.bbdis.2015.06.009.
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136(2): 215–233. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.002.
- Li J, Ye D, Shen P et al. Mir-20a-5p induced WTX deficiency promotes gastric cancer progressions through regulating PI3K/AKT signaling pathway. *J Exp Clin Cancer Res* 2020; 39(1): 212. doi: 10.1186/s13046-020-01718-4.
- Ren D, Yang Q, Dai Y et al. Oncogenic miR-210-3p promotes prostate cancer cell EMT and bone metastasis via NF-kappaB signaling pathway. *Mol Cancer* 2017; 16(1): 117. doi: 10.1186/s12943-017-0688-6.
- Anderson O, Guttilla Reed IK. Regulation of cell growth and migration by miR-96 and miR-183 in a breast cancer model of epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 2020; 15(5): e0233187. doi: 10.1371/journal.pone.0233187.
- Huang X, Lv W, Zhang JH et al. MiR96 functions as a tumor suppressor gene by targeting *NUAK1* in pancreatic cancer. *Int J Mol Med* 2014; 34(6): 1599–1605. doi: 10.3892/ijmm.2014.1940.
- Liu ZM, Wu ZY, Li WH et al. MiR-96-5p promotes the proliferation, invasion, and metastasis of papillary thyroid carcinoma through down-regulating *CCDC67*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23(8): 3421–3430. doi: 10.26355/eurrev_201904_17706.
- Ress AL, Stiegelbauer V, Winter E et al. MiR-96-5p influences cellular growth and is associated with poor survival in colorectal cancer patients. *Mol Carcinog* 2015; 54(11): 1442–1450. doi: 10.1002/mc.22218.
- Yao Q, Pei Y, Zhang X et al. MicroRNA-96 acts as a tumor suppressor gene in human osteosarcoma via target regulation of *EZRIN*. *Life Sci* 2018; 203: 1–11. doi: 10.1016/j.lfs.2018.04.012.
- He C, Zhang Q, Gu R et al. MiR-96 regulates migration and invasion of bladder cancer through epithelial-mesenchymal transition in response to transforming growth factor-beta1. *J Cell Biochem* 2018; 119(9): 7807–7817. doi: 10.1002/jcb.27172.
- Wang H, Ma N, Li W et al. MicroRNA-96-5p promotes proliferation, invasion and EMT of oral carcinoma cells by directly targeting *FOXF2*. *Biol Open* 2020; 9(3): bio049478. doi: 10.1242/bio.049478.
- Wei S, Zheng Y, Jiang Y et al. The circRNA circPT-PRA suppresses epithelial-mesenchymal transition and metastasis of NSCLC cells by sponging miR-96-5p. *EBioMedicine* 2019; 44: 182–193. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.05.032.

25. Pudova EA, Krasnov GS, Nyushko KM et al. MiRNAs expression signature potentially associated with lymphatic dissemination in locally advanced prostate cancer. *BMC Med Genomics* 2020; 13 (Suppl 8): 129. doi: 10.1186/s12920-020-00788-e9.
26. Siu MK, Tsai YC, Chang YS et al. Transforming growth factor-beta promotes prostate bone metastasis through induction of microRNA-96 and activation of the mTOR pathway. *Oncogene* 2015; 34(36): 4767–4776. doi: 10.1038/ncr.2014.414.
27. Tsai YC, Chen WY, Siu MK et al. Epidermal growth factor receptor signaling promotes metastatic prostate cancer through microRNA-96-mediated downregulation of the tumor suppressor ETV6. *Cancer Lett* 2017; 384: 1–8. doi: 10.1016/j.canlet.2016.10.014.
28. Voss G, Hafliadottir BS, Jaremo H et al. Regulation of cell-cell adhesion in prostate cancer cells by microRNA-96 through upregulation of E-Cadherin and EpCAM. *Carcinogenesis* 2020; 41(7): 865–874. doi: 10.1093/carcin/bgz191.
29. Miettinen PJ, Ebner R, Lopez AR et al. TGF-beta induced transdifferentiation of mammary epithelial cells to mesenchymal cells: involvement of type I receptors. *J Cell Biol* 1994; 127(6 Pt 2): 2021–2036. doi: 10.1083/jcb.127.6.2021.
30. Wang M, Ren D, Guo W et al. N-cadherin promotes epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell-like traits via ErbB signaling in prostate cancer cells. *Int J Oncol* 2016; 48(2): 595–606. doi: 10.3892/ijo.2015.3270.
31. Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF-kappaB signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 86. doi: 10.1186/1476-4598-12-86.
32. Liu W, Wang S, Sun Q et al. DCLK1 promotes epithelial-mesenchymal transition via the PI3K/Akt/NF-kappaB pathway in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2018; 142(10): 2068–2079. doi: 10.1002/ijc.31232.
33. Mei LL, Wang WJ, Qiu YT et al. MiR-145-5p suppresses tumor cell migration, invasion, and epithelial to mesenchymal transition by regulating the Sp1/NF-kappaB signaling pathway in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Mol Sci* 2017; 18(9): 1833. doi: 10.3390/ijms18091833.
34. Wang J, Tian L, Khan MN et al. Ginsenoside Rg3 sensitizes hypoxic lung cancer cells to cisplatin via the blocking of NF-kappaB mediated epithelial-mesenchymal transition and stemness. *Cancer Lett* 2018; 415: 73–85. doi: 10.1016/j.canlet.2017.11.037.
35. Zhang J, Kuang Y, Wang Y et al. Notch-4 silencing inhibits prostate cancer growth and EMT via the NF-kappaB pathway. *Apoptosis* 2017; 22(6): 877–884. doi: 10.1007/s10495-017-1368-0.
36. Li Y, Pan P, Qiao P et al. Downregulation of N-myc downstream-regulated gene1 caused by the methylation of CpG islands of NDRG1 promoter promotes proliferation and invasion of prostate cancer cells. *Int J Oncol* 2015; 47(3): 1001–1008. doi: 10.3892/ijo.2015.3086.
37. OncoPrint Solution for Next-Generation Sequencing. [online]. Available from: <https://www.oncoPrint.com/>
38. Find more NCBI PubMed articles. [online]. Available from: https://www.genomenon.com/mastermind-lp-gads-ncbi-search/?gad_source=1&gclid=Cj0KCQjwq86wBhDiARIsAJhuphnPBfH4VPcdKhN3WeYSBB_e3Qv0QTZ-VqzyBROks11I4SHktBX9ZqAaAicbEALw_wcB.
39. NIH National Cancer Institute. [online]. Available from: <https://www.cancer.gov/>
40. Liu R, Li J, Teng Z et al. Overexpressed microRNA-182 promotes proliferation and invasion in prostate cancer PC-3 cells by down-regulating N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1). *PLoS One* 2013; 8(7): e68982. doi: 10.1371/journal.pone.0068982.
41. <http://www.targetscan.org>.
42. Bandyopadhyay S, Pai SK, Hirota S et al. Role of the putative tumor metastasis suppressor gene Drg-1 in breast cancer progression. *Oncogene* 2004; 23(33): 5675–5681. doi: 10.1038/sj.onc.1207734.
43. Matsugaki T, Zenmyo M, Hiraoka K et al. N-myc downstream-regulated gene 1/Cap43 expression promotes cell differentiation of human osteosarcoma cells. *Oncol Rep* 2010; 24(3): 721–725. doi: 10.3892/or_00000913.
44. Mi L, Zhu F, Yang X et al. The metastatic suppressor NDRG1 inhibits EMT, migration and invasion through interaction and promotion of caveolin-1 ubiquitylation in human colorectal cancer cells. *Oncogene* 2017; 36(30): 4323–4335. doi: 10.1038/ncr.2017.74.

For figures, see the online version of the article at www.linkos.cz.

Potential application of body fluids autofluorescence in the non-invasive diagnosis of endometrial cancer

Potenciálne využitie autofluorescencie telových tekutín pri neinvazívnej diagnostike endometriálneho karcinómu

Švecová M., Fiedlerová K., Mareková M., Dubayová K.

Department of Medical and Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Pavol Jozef Šafárik University in Košice, Slovakia

Summary

Background: Endometrial carcinoma (EC) is the most common cancer of the female reproductive tract in developed countries. The prognosis and 5-year survival rates are closely tied to the stage diagnosis. Current routine diagnostic methods of EC are either lacking specificity or are uncomfortable, invasive and painful for the patient. As of now, the gold diagnostic standard is endometrial biopsy. Early and non-invasive diagnosis of EC requires the identification of new biomarkers of disease and a screening test applicable to routine laboratory diagnostics. The application of untargeted metabolomics combined with artificial intelligence and biostatistics tools has the potential to qualitatively and quantitatively represent the metabolome, but its introduction into routine diagnostics is currently unrealistic due to the financial, time and interpretation challenges. Fluorescence spectral analysis of body fluids utilizes autofluorescence of certain metabolites to define the composition of the metabolome under physiological conditions. **Purpose:** This review highlights the potential of fluorescence spectroscopy in the early detection of EC. Data obtained by three-dimensional fluorescence spectroscopy define the quantitative and qualitative composition of the complex fluorescent metabolome and are useful for identifying biochemical metabolic changes associated with endometrial carcinogenesis. Autofluorescence of biological fluids has the prospect of providing new molecular markers of EC. By integrating machine learning and artificial intelligence algorithms in the data analysis of the fluorescent metabolome, this technique has great potential to be implemented in routine laboratory diagnostics.

Key words

endometrial cancer – diagnosis – metabolomics – fluorescence

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

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

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

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



Assoc. Prof. Katarína Dubayová, PhD
Department of Medical and Clinical
Biochemistry
Faculty of Medicine
Pavol Jozef Šafárik University
in Košice
Trieda SNP 1
040 11 Košice
Slovakia
e-mail: katarina.dubayova@upjs.sk

Submitted/Obdržané: 20. 11. 2023

Accepted/Prijaté: 14. 2. 2024

doi: 10.48095/ccko2024102

Súhrn

Východiská: Endometriálny karcinóm (EC) je najčastejšou rakovinou ženského reprodukčného traktu vo vyspelých krajinách. Prognóza a päťročná miera prežitia úzko súvisia so štádiom pri diagnostikovaní. Súčasné rutinné diagnostické metódy EC sú buď málo špecifické alebo pre pacientku nepríjemné, invazívne a bolestivé. Aktuálne je zlatým diagnostickým štandardom endometriálna biopsia. Včasná a neinvazívna diagnostika EC vyžaduje identifikáciu nových markerov ochorenia a skrínigový test aplikovateľný do rutínnej laboratórnej diagnostiky. Aplikácia necielenej metabolomiky v kombinácii s nástrojmi umelej inteligencie a bioštatistiky má potenciál kvalitatívne a kvantitatívne prezentovať metabolóm, ale jej zavedenie do rutínnej diagnostiky je z dôvodu finančnej, časovej aj interpretačnej náročnosti v súčasnosti nereálne. Fluorescenčná spektrálna analýza telových tekutín využíva autofluorescenciu určitých metabolitov na definovanie zloženia metabolómu za fyziologických podmienok. **Cieľ:** Tento prehľadový článok poukazuje na potenciál fluorescenčnej spektroskopie pri včasnej detekcii EC. Dáta získané trojrozmernou fluorescenčnou spektroskopiou definujú kvantitatívne aj kvalitatívne zloženie komplexného fluorescenčného metabolómu a sú vhodné na identifikáciu biochemických metabolických zmien spojených s karcinogéznou endometria. Autofluorescencia biologických tekutín má perspektívu poskytnúť nové molekulové markery EC. Integráciou algoritmov strojového učenia a umelej inteligencie pri dátovej analýze fluorescenčného metabolómu má táto technika veľký potenciál byť implementovaná do rutínnej laboratórnej diagnostiky.

Kľúčové slová

endometriálny karcinóm – diagnostika – metabolomika – fluorescencia

Introduction

The most common malignancy of the female genital organs, endometrial cancer (EC), is a heterogeneous group of tumors whose biological behavior depends on a variety of factors (age, type, grade and stage of the disease), as well as several genetic and epigenetic alterations. Annually, more than 300,000 new cases are identified, accounting for around 8.2% of all female cancer cases worldwide [1]. The incidence of EC is increasing rapidly, the highest in North America and Western Europe, which is due to population aging, higher prevalence of obesity and metabolic syndromes [2]. More than 90% of EC cases occur in women older than 50 years, with a median age of 63 years. Only about 4% of patients are younger than 40 years.

When diagnosed at an early stage, EC is generally well treatable and has an excellent 5-year survival rate. However, a delayed diagnosis leads to progression of the tumor worsening the overall survival of the patient. Although relapse occurs in roughly 15% of cases, there is a lack of effective risk classification and limited progress in treating recurrent or metastatic disease [3]. This underscores the need to enhance the early-stage identification and stratification of patients with this form of cancer.

The dominant part of the cases is caught in the early stage of the disease according to The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) classification. The prognosis for these patients is promising, e.g. with

FIGO stages I or II, 75–90% of women survive 5 years. In advanced stages or recurrent tumors, the clinical course is very poor, and the overall survival is short – approximately 68% and 17 % in stages III and IV, respectively [4].

Obesity is a major risk factor for EC and is estimated to be responsible for 40% of all endometrial cancer cases [5]. Other risk factors include age, diabetes, hypertension, polycystic ovary syndrome, use of estrogen-only hormone replacement therapy, and tamoxifen [6]. Females may also have a familial predisposition to EC, especially those who carry a pathogenic variant in one of the genes required for DNA repair (Lynch syndrome) or in PTEN (Cowden syndrome) [7].

Early cancer diagnosis is crucial for successful and effective medical intervention. Nonetheless, many diagnostic procedures are often invasive, uncomfortable and unpleasant for the patient, which significantly limits the willingness of patients to undergo them as a preventive measure. Women with suspected EC undergo a variety of diagnostic tests, including transvaginal ultrasound scan (TVS), outpatient hysteroscopy (OPH), and endometrial biopsy (EB). The diagnostic value of these tests for EC is limited by their low specificity (TVS), invasiveness and high level of discomfort for patients (OPH, EB) [8].

The gold diagnostic standard is endometrial biopsy (EB) (Fig. 1). However, its disadvantages include severe pain in women who have not given birth yet and a high risk of failure during sample

collection. Guided biopsy hysteroscopy, on the other hand, has better diagnostic sensitivity but is expensive and has a high outpatient failure rate. More than 30% of women experience severe pain or a vasovagal episode during the procedure. Additionally, there exists a theoretical risk of cancer cell dissemination into the peritoneum, with rare but life-threatening complications like uterine perforation [9].

An ideal diagnostic approach for EC detection should be simple, noninvasive, and could reliably detect all ECs at an early stage of disease with few false-positive or false-negative results. This approach should also be used in the screening of high-risk asymptomatic women with Lynch syndrome who have a high lifetime risk of developing EC [10]. Currently there are not any dependable and accurate methods that can be introduced as screening tests for this cancer among the general population.

Metabolomics in tumor detection

Metabolomics is a holistic approach in understanding biochemical processes in the biological system. It is a rapidly developing discipline that uses analytical techniques in conjunction with sophisticated statistical methods to comprehensively characterize the metabolome. The metabolome represents the total composition of metabolites present in an organism under physiological and pathophysiological conditions. Metabolites are not only substrates of metabolic reactions but also represent signaling

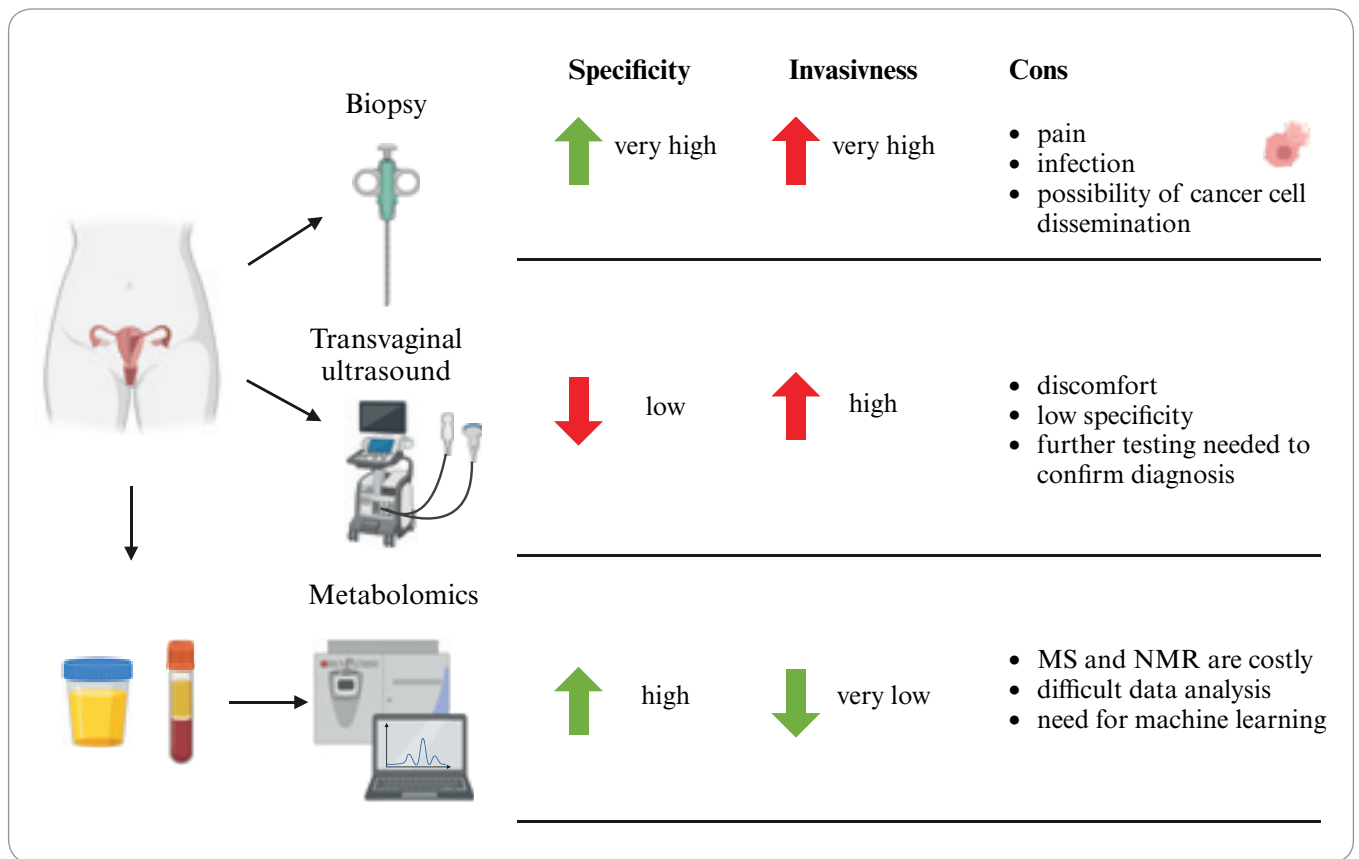


Fig. 1. Comparison of current diagnostic methods. (Created with Biorender).
MS – mass spectrometry, NMR – nuclear magnetic resonance

molecules controlling a wide range of cellular processes. All biological systems are defined by the genome, transcriptome, proteome and metabolome. However, only the metabolome characterizes the overall phenotype of an organism.

The metabolism of tumor cells differs from that of healthy cells. Metabolic reprogramming is a key feature of cancer. Oncometabolites provide cancer cells with energy and necessary substances used in biosynthesis, proliferation, invasion and metastasis, which can cause resistance to drug therapies. Cancer-related metabolites are by-products of cellular processes that result from neoplastic transformation and cell proliferation as well as the body's immunological (inflammatory) response to malignancy [11]. Such metabolites are quantitatively different from those resulting from non-malignant cellular processes and therefore have the potential to serve as biomarkers for cancer detection. The human metabolome is inher-

ently dynamic and evolves in tandem with the progressive nature of malignancy. Therefore, studying the metabolome has the potential to identify biomarkers of a given carcinogenic process.

Most metabolomic studies conducted today are focused on tissues, organs, organoids or their extracts. This approach is valuable because it allows for a detailed exploration of the under normal conditions and detect any alterations or disruptions that may be linked to diseases or disorders. Unfortunately, organ and tissue extractions are highly invasive, so unless it involves a muscle or selective tissue biopsy, it is generally limited to studying animal models. On the other hand, biofluids can be obtained relatively noninvasively, which makes them ideal for studying living specimens, including humans. Biofluids serve as near-ideal proxies for organs or tissues as their constituents closely reflect the metabolic activity of the organ from which they are derived or the or-

gans which they bathe. Because blood bathes all organs and tissues, it serves as a reasonably good metabolic proxy for the entire organism [12].

The human metabolome is a diverse group of relatively low molecular weight compounds that result from both endogenous and exogenous processes. The main goal in metabolomics is to generate a reliable clinical metabolomic profile for the maximum number of metabolites in a biological sample. However, target metabolites differ in several chemical and physical properties such as hydrophobicity, acidity, charge, pKa and particle size, moreover metabolites can be present in very different concentrations. Simultaneous identification of all metabolites in a single assay is extremely challenging.

Currently the dominant method in metabolomics analysis involves the combination of mass spectrometry (MS) with chromatographic separation to effectively isolate and identify metabolites

Tab. 1. Representative fluorophores identified in various cancers.

Identified fluorophore	Type of cancer	Biological material	Source
NAD(P)H	ovarian cancer	blood, urine	[18]
	prostate cancer	tissue	[19]
	breast cancer	tissue, blood	[20]
FAD	different etiology	urine	[21]
porphyrins	different etiology	urine	[21]
pteridines	ovarian cancer	urine	[22]
collagen	cervical cancer	tissue	[23]
tryptophan	malignant melanoma	urine	[24]
	kidney cancer	blood, urine	[25]
tyrosine	colorectal carcinoma	blood	[15]

FAD – flavin adenine dinucleotide, NAD(P)H – nicotinamide adenine phosphate

within biological samples [13]. This approach provides high-resolution data for metabolite detection, allowing researchers to discern a wide array of molecules. MS is undoubtedly a powerful tool in metabolomics, offering exceptional sensitivity and the ability to detect a diverse range of metabolites. Yet, it is important to note that nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy also plays a significant role in this field. NMR provides complementary information, offering advantages in terms of non-destructive analysis, reproducibility, and the capacity to identify and quantify metabolites without the need for extensive sample preparation. Hence, the choice between MS and NMR often depends on the specific goals of a metabolomics study and the nature of the samples being analyzed. However, the complexity of the data generated by both necessitates the use of specialized statistical and bioinformatics tools for effective data analysis, interpretation, and integration [14].

Fluorescence spectroscopy as a promising metabolomics tool

Significant diagnostic potential is provided by sophisticated fluorescence spectroscopy techniques, which are applicable to the analysis of both biological fluids and tissues. These techniques are particularly advantageous in the field of metabolomics, and their ef-

ficacy is enhanced by the innate fluorescence of certain biologically significant molecules, which are considered endogenous fluorophores.

To identify or characterize minimally altered biological material, three-dimensional recordings of various scanned fluorescence spectra (excitation-emission matrices – EEM, and synchronous fluorescence matrices – SFM), which describe the mixture as a whole, can be utilized (mixtures of fluorophores) [15]. The coordinates of the fluorescence centers, their intensity of fluorescence as well as the minor characteristics given by the contours create a unique image ‘fingerprint’. This graphic depiction is exceedingly precise because it is the result of the distinct internal composition of metabolites and their mutual interactions. It represents fluorescent metabolome. Every change in the composition of the biological material disturbs the very fine balance of internal relationships, which results in a change in the fingerprint. The measured variation in the fingerprint automatically reflects the variation in the biological material’s composition. If such fingerprints are related to specific physiological (pathological) changes, they provide enough information for diagnostic assessment [16].

Native fluorescent metabolites

Autofluorescence refers to the inherent property of certain molecules within

biological materials to emit fluorescent light when excited by a light source. These molecules, known as endogenous fluorophores, include various compounds such as vitamins, coenzymes, structural proteins, and other metabolites that are naturally present in tissues, body fluids, or cells (Tab. 1). This intrinsic fluorescence property is characteristic of conjugated polycyclic and aromatic compounds, including vitamins like folic acid, essential coenzymes such as NAD(P)H and FAD, structural proteins like collagen and elastin, lipids, advanced glycation end products, porphyrins, aromatic amino acids, and their derivatives [17].

When exposed to an appropriate excitation wavelength, these endogenous fluorophores emit fluorescent signals that can be captured and analyzed. This intrinsic property of molecules allows for the development of diagnostic techniques that rely on analyzing the altered fluorescence signals in blood, urine, or tissues, which can provide valuable insights into cancer development and facilitate early detection and risk assessment (Tab. 1).

The key advantage of utilizing fluorescence lies in its sensitivity and ease of application, making it another choice for metabolic profiling. With remarkable sensitivity, fluorescence techniques can detect and quantify low concentrations of specific metabolites, a feature that is invaluable in discerning subtle changes within biological systems. Furthermore, the straightforward testing procedures associated with fluorescence assays and equipment enhance their accessibility to researchers and clinicians, facilitating a range of applications from basic scientific research to clinical diagnostics. Moreover, the natural fluorescence of biochemically significant molecules positions fluorescence techniques as a cost-effective option for rapid screening or diagnosis of various diseases. Changes in the concentration, ratios, or the presence of atypical fluorophores can be linked to disease-related processes within the body. For instance, carcinogenesis can profoundly influence metabolite concentrations, thereby affecting how tissues and body fluids scat-

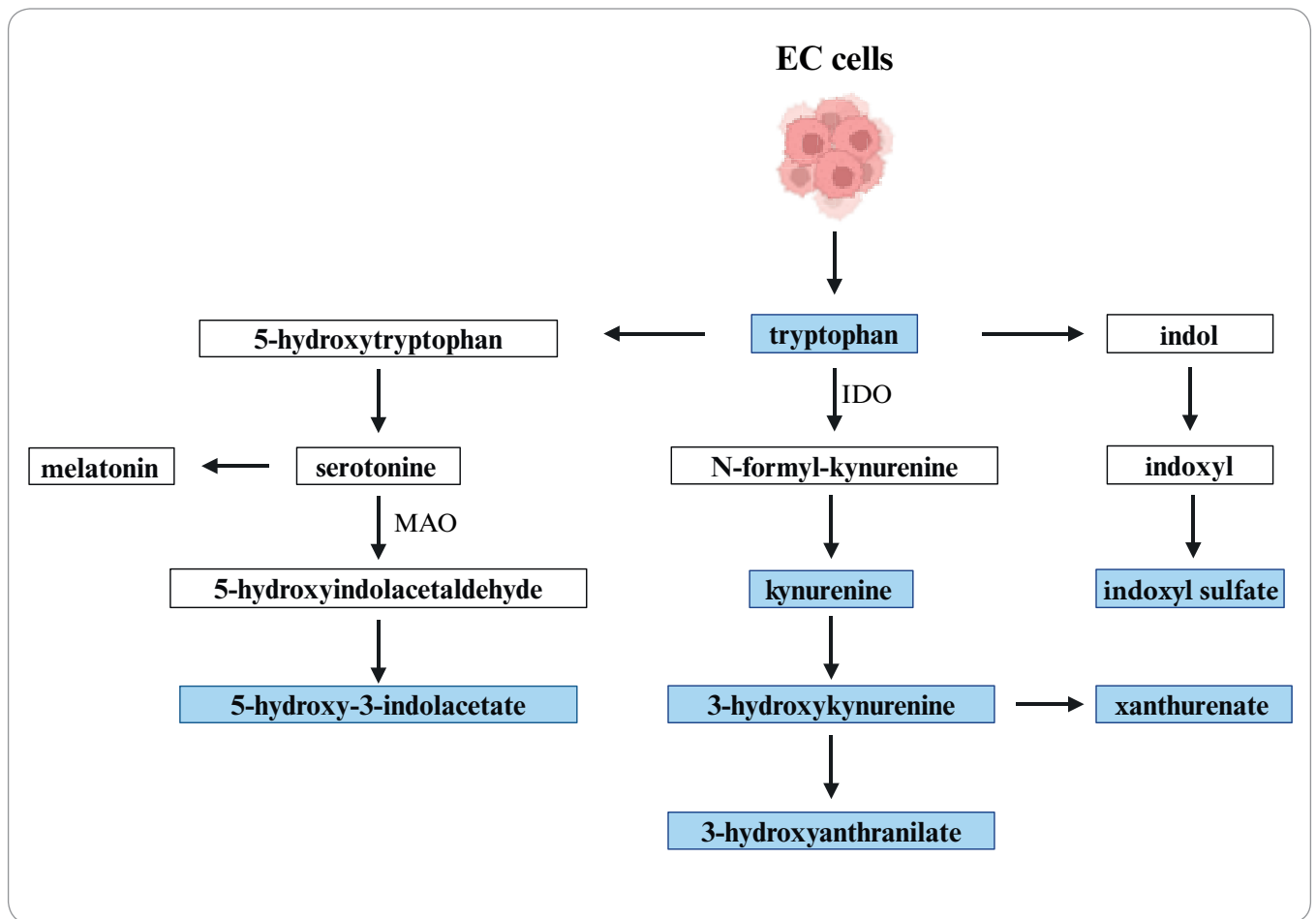


Fig. 2. Fluorescent metabolites of tryptophan. Tryptophan metabolic pathways produce fluorescent metabolites detectable in body fluids. Fluorescent intermediates are highlighted in blue. (Created with Biorender).
 EC – endometrial cancer, IDO – indolamine 2,3-dioxygenase, MAO – monoamine oxidase

ter and absorb light. Therefore, fluorescence techniques are well-suited for metabolic profiling due to their exceptional sensitivity and the intrinsic fluorescence of biologically important molecules and non-destructive analysis. Fluorescence is a desirable option because of these characteristics for deciphering metabolic complexities and for diagnostic uses of selected diseases [26].

Tryptophan metabolism is a source of native fluorophores

Tryptophan, an essential amino acid, plays a significant role in the autofluorescence diagnostics of various cancers, including EC. In the realm of metabolomics, tryptophan and its metabolites have garnered attention for their potential as biomarkers due to their ability to influence the intrinsic fluorescence of biological materials. Alterations

in tryptophan metabolism have been linked to numerous pathological conditions, and their detection through autofluorescence can offer valuable insights. Specifically, the concentration of degradation products of tryptophan in blood has been investigated in relation to conditions like breast cancer. The relationship between tryptophan metabolites and steroid hormones in breast cancer has shown promise [27]. While the diagnostic potential of tryptophan and its metabolites is still under exploration in EC, these compounds could provide valuable fluorescence signals for early detection, risk assessment, and diagnostic stratification, enhancing the non-invasive nature of EC diagnosis.

Tryptophan (Trp) is metabolized by three different metabolic pathways: kynurenine, serotonin and indole (Fig. 2). The intermediate products of these met-

abolic pathways are several fluorescent compounds that are excreted in the urine and blood. The primary pathway of tryptophan catabolism in the liver is its degradation via the kynurenine pathway (KP). It is estimated that up to 95% of dietary Trp is metabolized via KP, 90% of which is catabolized in the liver, with minor extrahepatic KP having a significant role in immune activation. Dysregulation of the kynurenine pathway is thought to be a mechanism of tumor immune escape via enzymatic activity of indolamine 2,3-dioxygenase (IDO) production. Immunometabolic dysregulation mediated by the IDO1 enzyme is thought to protect EC cells from T cell-induced cytotoxicity, thereby actively creating an immunosuppressive environment. It depletes the tissue microenvironment of the essential amino acid Trp by converting it into the immuno-

suppressive metabolite Kyn. Altered IDO enzyme activity is found in a wide range of human malignancies, e.g., including endometrial carcinoma [28].

Tryptophan is a precursor of serotonin (5-hydroxytryptamine – 5-HT), which is involved in the physiological regulation of several behavioral and neuroendocrine functions. The serotonin pathway is also localized in the lining of the gastrointestinal tract and is involved in 90% of serotonin production in the body. Serotonin is also accepted as a substrate of IDO1, mostly during prolonged IDO1 enzyme activity [28]. By mitochondrial monoamine oxidase, serotonin is metabolized to 5-hydroxyindole-3-acetic acid, which is excreted in the urine. According to recent findings, the serotonergic pathway is also involved in tumor angiogenesis. Several studies have demonstrated the role of serotonin and 5-HT receptor subtypes in cell proliferation, angiogenesis, invasion, migration and metastasis. Genetic models of several cancers, such as ovarian, breast, kidney, and pancreatic cancer cells, have shown that serotonin levels in tumors play a key role in tumor growth [29].

Microbial degradation of tryptophan produces a myriad of active indole derivatives via a pathway known as the indole pyruvate metabolic pathway. The microbiome is a key component of the tumor microenvironment and influences cancer initiation, promotion, and response to therapy; therefore, it is clear that tryptophan metabolism via microbial transformation to indole compounds is altered in carcinogenesis.

Autofluorescence of body fluids

One of the most common biological materials used for clinical examinations in human medicine is blood. However, it requires minimal invasive sampling. It contains many substances, such as proteins, whose composition is changed in various diseases. Masilamani et al. first demonstrated the relationship between porphyrins and cell proliferation in an animal model, and a year later, they extended the same study to human blood [18]. The work focused on the possibility of diagnostics of different cancer

types by measuring porphyrins autofluorescence in serum, and it confirmed alterations in cancer patients, but different malignancies could not be distinguished from each other. The EEM application was used for screening and real-time diagnosis of cervical precancers with 75–90% specificity and high sensitivity [30]. In the field of gastroenterology, EEM can be used to diagnose colon cancer [31].

In the realm of oncological diagnostics, urine analysis has gained substantial attention due to its potential to uncover early-stage malignancies. Urine contains a plethora of biomolecules, including metabolites, proteins, and cellular components, whose fluorescence properties can be perturbed by neoplastic processes. Due to the close proximity of the urethra to the vagina, naturally released tumor metabolites have the potential to contaminate the urine. Urine is an ideal non-invasive specimen for biomarker detection due to the possibility of repeated collection and patient comfort during collection. A wide variety of substances can be found in urine that may serve as potential biomarkers of EC. These substances include many endogenous metabolites as well as tumor DNA, peptides/proteins, malignant cells, and secreted organelles such as extracellular vesicles. Investigating each of these targets to identify biomarkers requires the use of specialized techniques such as cytology, spectroscopy, genomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics [32]. To date, several studies have been published showing the potential of urinary biomarkers in the diagnosis of EC [33,34].

Proteins and peptides excreted in urine are less complex and more stable compared to plasma proteins, providing an advantage in identifying novel biomarkers. EC cells can be identified in urine, especially in women with symptoms of bleeding, for example by microscopic evaluation of urine (cytology) or using single-cell sequencing technology [35]. On the other hand, tumor DNA may be excreted by the kidneys or may result from the breakdown of malignant cells contaminating the urine. Characterization of tumor DNA, including assess-

ment of DNA concentrations, presence of mutations, and methylation status in urine, has great potential to provide relevant biomarkers and requires further research [32].

Autofluorescence of corpus uteri

Researchers were able to identify altered levels of aromatic amino acids in tissue (eutopic endometrium) [36], serum [37], follicular fluid [38], urine [39] and endometrial fluid [40] of human subjects with endometriosis. Autofluorescence has been investigated for intraoperative guidance during gynecological cancer surgeries. Studies, such as the one by Ramanujam et al., have demonstrated the use of autofluorescence to differentiate tumor margins from healthy tissue in real-time, aiding in achieving complete tumor resection [41].

The metabolome is a dynamic system and is susceptible to environmental and genetic changes thus, hormonal variations throughout the menstrual cycle phases could have implications on the levels of amino acids. Dutta et al. state that the catabolic state induced in response to injury in endometriosis leads to increased breakdown of endogenous protein and release of free amino acids in circulation [36]. This statement agrees with their study, where they found an inverse relationship of amino acid levels between tissue and serum. The many similarities of endometrial cells to neoplastic cells, such as high proliferation, angiogenesis, anti-apoptosis, and cell invasion have been extensively recognized in the literature [42,43]. All these characteristics require a high catabolic state from which amino acids could be serving as an important supply since they can be interconverted to the TCA cycle intermediates and support energy requirements for fast-growing endometrial cells.

The potential application of autofluorescence analysis in diagnosing EC through blood or urine samples holds promise but requires further research and validation (Fig. 3). Although autofluorescence has proven its efficacy in diagnosing various cancer types using different body fluids, applying this method to EC diagnosis poses unique challenges.

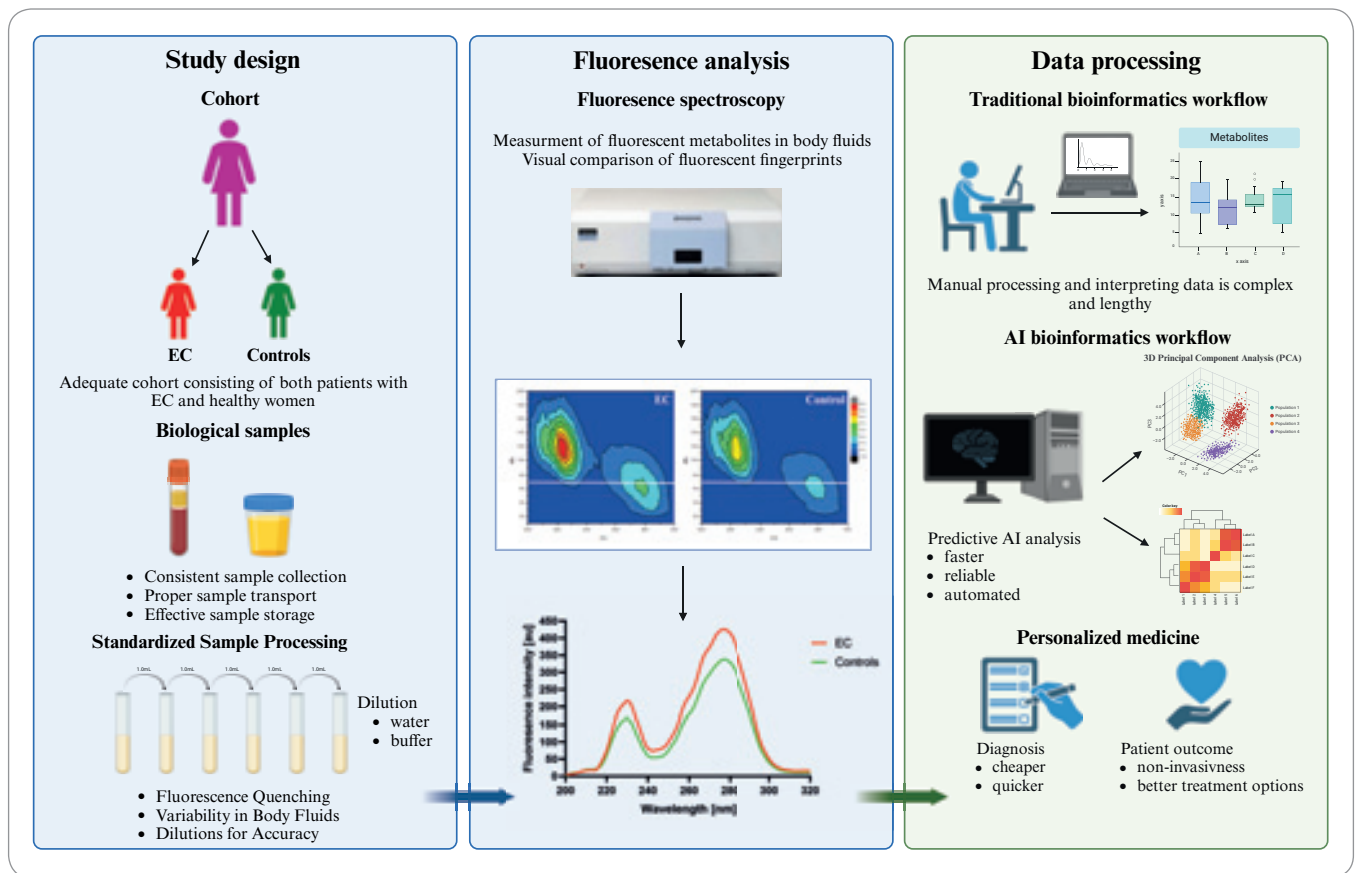


Fig. 3. Prospective workflow for fluorescence metabolite research in EC. The figure displays a visual comparison of the current fluorescent metabolomics (in blue frames) and outlines its perspective implementation in diagnostics through mathematical processing of fluorescence data, aided by artificial intelligence and machine learning (in the green frame). (Created with Biorender). AI – artificial intelligence, EC – endometrial cancer

This malignancy, originating in the uterine lining, typically involves diagnostic techniques such as biopsies, imaging, and histopathology. Endometrial tissue consists of multiple cell types and undergoes dynamic changes throughout the menstrual cycle. This complexity could affect the reliability and specificity of autofluorescence signals.

Comparing traditional and fluorescent metabolomics

Traditional metabolomics methods, such as MS and NMR, have long dominated metabolic research due to their ability to provide data on thousands of metabolites. However, despite their prevalence in research settings, these methods come with significant drawbacks that limit their utility in routine diagnostics. Both MS and NMR are often expensive, analytically complex, and pose challenges in data evaluation, making their

integration into routine diagnostic practices impractical. While these techniques excel in research and biomarker discovery, they remain less suited for widespread clinical applications.

When it comes to applying autofluorescence to EC diagnosis, the complexity of the disease and the use of blood or urine samples present significant challenges. The composition of body fluids, invaluable for non-invasive analysis, is influenced by various factors, including diet, hydration, and individual variations in metabolites. These variations can introduce hurdles in establishing standardized protocols for autofluorescence analysis, as the baseline levels of endogenous fluorophores may differ among individuals. Nevertheless, despite these challenges, the non-invasive nature of body fluid analysis through autofluorescence offers a promising avenue for improving EC diagnosis.

In contrast, 3D fluorescence spectroscopy, though historically underutilized in diagnostics, offers a promising alternative. It boasts advantages such as ease of use, simultaneous detection of multiple metabolites, non-destructive sample analysis, and monitoring of different metabolic changes. Overcoming the historical dominance of MS and NMR in metabolomics, recent advancements in artificial intelligence (AI) and machine learning present a solution to the challenges faced by 3D fluorescence spectroscopy. AI can assist in data analysis, metabolite identification, and standardization, making this technique a more attractive option for diagnostic applications. Its non-destructive nature and the ability to monitor metabolic changes have the potential to complement traditional metabolomic approaches, ultimately contributing to more comprehensive and effective diagnostic tools.

Conclusion

In conclusion, autofluorescence emerges as a promising diagnostic approach for endometrial cancer, offering insights through the examination of body fluids such as blood and urine, as well as direct analysis of tumor tissues. This non-invasive technique capitalizes on the intrinsic fluorescence properties of endogenous molecules, enabling the detection of subtle molecular changes associated with cancer development. By examining these altered autofluorescence patterns, we gain valuable insights into the metabolic alterations and biomarker profiles linked to this malignancy. In essence, autofluorescence diagnostics provide a promising avenue for improving the identification and understanding of endometrial cancer, underscoring its potential to transform the landscape of cancer diagnosis and patient care.

Contributors and supporting agencies

This study was supported by the following Scientific Grant Agency of the Ministry of Education, Science, Research and Sport of the Slovak Republic: 1/0435/23.

References

- Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68(6): 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
- Coll-de la Rubia E, Martinez-Garcia E, Dittmar G et al. Prognostic biomarkers in endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Med* 2020; 9(6): 1900. doi: 10.3390/jcm9061900.
- Rütten H, Verhoef C, van Weelden WJ et al. Recurrent endometrial cancer: local and systemic treatment options. *Cancers* 2021; 13(24): 6275. doi: 10.3390/cancers13246275.
- Talhok A, McConechy MK, Leung S et al. Confirmation of ProMisE: a simple, genomics-based clinical classifier for endometrial cancer. *Cancer* 2017; 123(5): 802–813. doi: 10.1002/cncr.30496.
- Tichý M, Ptáčková H, Plančíková D et al. BMI and odds of endometrial adenocarcinoma in Czech women – a case control study. *Klin Onkol* 2019; 32(4): 281–287. doi: 10.14735/amko2019281.
- Njoku K, Chiasserini D, Whetton AD et al. Proteomic biomarkers for the detection of endometrial cancer. *Cancers* 2019; 11(10): 1572. doi: 10.3390/cancers11101572.
- Ryan NJ, Glaire MA, Blake D et al. The proportion of endometrial cancers associated with Lynch syndrome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Genet Med* 2019; 21(10): 2167–2180. doi: 10.1038/s41436-019-0536-8.
- Mahdy H, Casey MJ, Crotzer D. Endometrial cancer. [online]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525981/>.
- Jones ER, O'Flynn H, Njoku K et al. Detecting endometrial cancer. *Obstet Gynaecol* 2021; 23(2): 103–112. doi: 10.1111/tog.12722.
- Tamura K, Kaneda M, Futagawa M et al. Genetic and genomic basis of the mismatch repair system involved in Lynch syndrome. *Int J Clin Oncol* 2019; 24(9): 999–1011. doi: 10.1007/s10147-019-01494-y.
- Wishart DS. Metabolomics for investigating physiological and pathophysiological processes. *Physiol Rev* 2019; 99(4): 1819–1875. doi: 10.1152/physrev.00035.2018.
- Bhalla M, Mittal R, Kumar M et al. Metabolomics: a tool to envisage biomarkers in clinical interpretation of cancer. *Curr Drug Res Rev* 2023. doi: 10.2174/258997751666230912120412.
- Zahran F, Rashed R, Omran M et al. Study on urinary candidate metabolome for the early detection of breast cancer. *Indian J Clin Biochem* 2021; 36(3): 319–329. doi: 10.1007/s12291-020-00905-6.
- Njoku K, Sutton C, Whetton AD et al. Metabolomic biomarkers for detection, prognosis and identifying recurrence in endometrial cancer. *Metabolites* 2020; 10(8): 314. doi: 10.3390/metabo10080314.
- Lawaetz AJ, Bro R, Kamstrup-Nielsen M et al. Fluorescence spectroscopy as a potential metabolomic tool for early detection of colorectal cancer. *Metabolomics* 2012; 8(S1): 1–11. doi: 10.1007/s11306-011-0310-7.
- Dubayová K, Luckova I, Sabo J et al. A novel way to monitor urine concentration: fluorescent concentration matrices. *J Clin Diagn Res* 2015; 9(1): BC11–14. doi: 10.7860/JCDR/2015/8990.5441.
- Gosnell ME, Anwer AG, Mahub SB et al. Quantitative non-invasive cell characterisation and discrimination based on multispectral autofluorescence features. *Sci Rep* 2016; 6(1): 23453. doi: 10.1038/srep23453.
- Masilamani V, Al-Zhrani K, AlSalhi M et al. Cancer diagnosis by autofluorescence of blood components. *J Lumin* 2004; 109(3–4): 143–154. doi: 10.1016/j.jlumin.2004.02.001.
- Wu B, Gayen SK, Xu M. Fluorescence spectroscopy using excitation and emission matrix for quantification of tissue native fluorophores and cancer diagnosis. *Int Soc Opt Eng* 2014; 8926: 89261M. doi: 10.1117/12.2040985.
- Špaková I, Ferencakova M, Rabajdova M et al. Autofluorescence of breast cancer proteins. *Curr Metabolomics* 2018; 6(1): 2–9. doi: 10.2174/2213235X05666170630144458.
- Masilamani V, Vijmasi T, Al Salhi M et al. Cancer detection by native fluorescence of urine. *J Biomed Opt* 2010; 15(5): 057003. doi: 10.1117/1.3486553.
- Zvarik M, Martinicky D, Hunakova L et al. Fluorescence characteristics of human urine from normal individuals and ovarian cancer patients. *Neoplasma* 2013; 60(5): 533–537. doi: 10.4149/neo_2013_069.
- Drezek R, Sokolov K, Utzinger U et al. Understanding the contributions of NADH and collagen to cervical tissue fluorescence spectra: modeling, measurements, and implications. *J Biomed Opt* 2001; 6(4): 385–396. doi: 10.1117/1.1413209.
- Birková A, Valko-Rokytovská M, Hubková B et al. Strong dependence between tryptophan-related fluorescence of urine and malignant melanoma. *Int J Mol Sci* 2021; 22(4): 1884. doi: 10.3390/ijms22041884.
- Atif M, AlSalhi MS, Devanesan S et al. A study for the detection of kidney cancer using fluorescence emission spectra and synchronous fluorescence excitation spectra of blood and urine. *Photodiagnosis Photodyn Ther* 2018; 23: 40–44. doi: 10.1016/j.pdpdt.2018.05.012.
- Dubayová K, Birková A, Lešo M et al. Visualization of the composition of the urinary fluorescent metabolome. Why is it important to consider initial urine concentration? *Methods Appl Fluoresc* 2023; 11(4): 045004. doi: 10.1088/2050-6120/ace512.
- Bell EM, Mainwaring WJ, Bulbrook RD et al. Relationships between excretion of steroid hormones and tryptophan metabolites in patients with breast cancer. *Am J Clin Nutr* 1971; 24(6): 694–698. doi: 10.1093/ajcn/24.6.694.
- Perez-Castro L, Garcia R, Venkateswaran N et al. Tryptophan and its metabolites in normal physiology and cancer etiology. *FEBS J* 2023; 290(1): 7–27. doi: 10.1111/febs.16245.
- Peters MAM, Meijer C, Fehrmann RSN et al. Serotonin and dopamine receptor expression in solid tumours including rare cancers. *Pathol Oncol Res* 2020; 26(3): 1539–1547. doi: 10.1007/s12253-019-00734-w.
- Chang SK, Dawood MY, Staerkel G et al. Fluorescence spectroscopy for cervical precancer detection: is there variance across the menstrual cycle? *J Biomed Opt* 2002; 7(4): 595–602. doi: 10.1117/1.1509753.
- Li BH, Xie SS. Autofluorescence excitation-emission matrices for diagnosis of colonic cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11(25): 3931–3934. doi: 10.3748/wjg.v11.i25.3931.
- Dinges SS, Hohm A, Vandergrift LA et al. Cancer metabolomic markers in urine: evidence, techniques and recommendations. *Nat Rev Urol* 2019; 16(6): 339–362. doi: 10.1038/s41585-019-0185-3.
- Shao X, Wang K, Liu X et al. Screening and verifying endometrial carcinoma diagnostic biomarkers based on a urine metabolomic profiling study using UPLC-Q-TOF/MS. *Clin Chim Acta* 2016; 463: 200–206. doi: 10.1016/j.cca.2016.10.027.
- Zhao H, Jiang Y, Liu Y et al. Endogenous estrogen metabolites as biomarkers for endometrial cancer via a novel method of liquid chromatography-mass spectrometry with hollow fiber liquid-phase microextraction. *Horm Metab Res* 2015; 47(2): 158–164. doi: 10.1055/s-0034-1371865.
- Liang SB, Fu LW. Application of single-cell technology in cancer research. *Biotechnol Adv* 2017; 35(4): 443–449. doi: 10.1016/j.biotechadv.2017.04.001.
- Dutta M, Singh B, Joshi M et al. Metabolomics reveals perturbations in endometrium and serum of minimal and mild endometriosis. *Sci Rep* 2018; 8(1): 6466. doi: 10.1038/s41598-018-23954-7.
- Vicente-Muñoz S, Morcillo I, Puchades-Carrasco L et al. Pathophysiologic processes have an impact on the plasma metabolomic signature of endometriosis patients. *Fertil Steril* 2016; 106(7): 1733–1741.e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2016.09.014.
- Karaer A, Tuncay G, Mumcu A et al. Metabolomics analysis of follicular fluid in women with ovarian endometriosis undergoing in vitro fertilization. *Syst Biol Reprod Med* 2019; 65(1): 39–47. doi: 10.1080/19396368.2018.1478469. Epub 2018 May 28.
- Vicente-Muñoz S, Morcillo I, Puchades-Carrasco L et al. Nuclear magnetic resonance metabolomic profiling of urine provides a noninvasive alternative to the identification of biomarkers associated with endometriosis. *Fertil Steril* 2015; 104(5): 1202–1209. doi: 10.1016/j.fertnstert.2015.07.1149.
- Domínguez F, Ferrando M, Díaz-Gimeno P et al. Lipidomic profiling of endometrial fluid in women with ovarian endometriosis. *Biol Reprod* 2017; 96(4): 772–779. doi: 10.1093/biolre/iox014.
- Ramanujam N. Fluorescence spectroscopy of neoplastic and non-neoplastic tissues. *Neoplasia* 2000; 2(1–2): 89–117. doi: 10.1038/sj.neo.7900077.
- Anglesio MS, Papadopoulos N, Ayhan A et al. Cancer-associated mutations in endometriosis without cancer. *N Engl J Med* 2017; 376(19): 1835–1848. doi: 10.1056/NEJMoa1614814.
- Varma R, Rollason T, Gupta JK et al. Endometriosis and the neoplastic process. *Reprod Camb Engl* 2004; 127(3): 293–304. doi: 10.1530/rep.1.00020.

Feasibility of implementation of the early tumor shrinkage as a potential predictive marker to daily clinical practice in patients with RAS wild type metastatic colorectal cancer, treated with cetuximab – a non-interventional observational study

Možnosti zavedení časné nádorové regrese jako potenciálního prediktivního markeru do každodenní klinické praxe u pacientů s metastatickým kolorektálním karcinomem RAS divokého typu léčených cetuximabem – neintervenční observační studie

Fínek J.¹, Vočka M.², Bauer J.², Kubala E.³, Zycháčková K.⁴, Šedivá M.⁵, Gharibayar M.⁴, Kocáková I.⁶, Čmuchařová E.⁷, Vaňková M.⁸

¹Department of Oncology and Radiotherapy, Faculty of Medicine in Pilsen, University Hospital in Pilsen, Charles University, Czech Republic

²Department of Oncology, First Faculty of Medicine, Charles University, and General University Hospital in Prague, Czech Republic

³Department of Oncology and Radiotherapy, Faculty of Medicine in Hradec Králové and University Hospital Hradec Králové, Czech Republic

⁴Department of Oncology, Baťa Hospital Zlín, Czech Republic

⁵Institute of Radiation Oncology, Bulovka University Hospital, Czech Republic

⁶Department of Comprehensive Cancer Care, Masaryk Memorial Cancer Institute, and Faculty of Medicine, Masaryk University, Czech Republic

⁷Oncology Department, Masaryk Hospital, Ústí nad Labem, Czech Republic

⁸Oncology Clinic, Hospital AGEL Karviná, Czech Republic

Summary

Background: With the aim to show the feasibility of early tumor shrinkage (ETS) concept implementation into daily clinical practice in the Czech Republic, a non-interventional, multicentric, single arm, prospective study in real world set-up was performed. **Material and methods:** The study objectives were to explore the time interval from the treatment starting date to the date of the first radiographic control (TFRC) and evaluate the proportion of patients who achieved $\geq 20\%$ tumor regression within the first 8 weeks of first-line therapy, in the real-world settings. **Results:** The medians of TFRC in all individual participating centers were > 12 weeks (range 14.0–36.4 weeks). TFRC ≤ 8 weeks was reported for only 3% of patients in the cohort with first-line therapy, and there were only 3 patients (1%) who achieved tumor regression of $\geq 20\%$ by day 60 (8.6 weeks). **Conclusion:** These findings indicate that the basic time parameter of ETS could not realistically be employed in routine oncology care of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) in the Czech Republic, unless there would be a strict request to perform TRFC by week 8 since the initiation of the therapy. In addition, the frequency of objective tumor response to first-line therapy with cetuximab + chemotherapy was evaluated. Based on the relative regression in the sum of diameters of measurable metastatic lesions, unconfirmed partial responses were achieved in 42.4 % and unconfirmed complete response in 8.6% of patients, altogether corresponding to the overall response rate of 51% with first-line therapy. The frequency of responses was higher among patients with left than right sided primary tumors. It seems that the regimen of cetuximab/FOLFOX might be more active in frontline therapy of right sided RAS wild type mCRC than cetuximab/FOLFIRI.

Key words

colorectal cancer – chemotherapy

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

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

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

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



Prof. Jindřich Fínek, MD, PhD, MHA
Department of Oncology and Radiotherapy
University Hospital in Pilsen
Alej Svobody 80
304 60 Plzeň Lochoťin
Czech Republic
e-mail: fínek@fnplzen.cz

Submitted/Obdrženo: 29. 11. 2023

Accepted/Přijato: 14. 2. 2024

doi: 10.48095/ccko2024110

Souhrn

Východiska: S cílem prokázat proveditelnost implementace konceptu časné nádorové regrese (early tumor shrinkage – ETS) do každodenní klinické praxe v ČR byla provedena neintervenci, multicentrická, jednoramenná, prospektivní studie v reálné klinické praxi. **Materiál a metody:** Cílem studie bylo sledovat časový interval od data zahájení léčby do data prvního radiologického hodnocení (the first radiographic control – TFRC) a vyhodnotit podíl pacientů, kteří dosáhli $\geq 20\%$ regrese nádoru během prvních 8 týdnů léčby první linie, a to v reálné klinické praxi. **Výsledky:** Medián TFRC ve všech jednotlivých zúčastněných centrech byl > 12 týdnů (rozmezí 14,0–36,4 týdnů). TFRC ≤ 8 týdnů byla hlášena pouze u 3 % pacientů v kohortě s první linií léčby a pouze 3 pacienti (1 %) dosáhli regrese nádoru $\geq 20\%$ do 60. dne (8,6 týdne). **Závěr:** Tato zjištění naznačují, že základní časový parametr ETS by v rutinní onkologické praxi u pacientů s mCRC v ČR nemohl být reálně využit, pokud by nebyl striktní požadavek na provedení TFRC do 8. týdne od zahájení terapie. Dále byla hodnocena četnost objektivní odpovědi nádoru na první linii léčby cetuximabem + chemoterapií. Na základě relativní regrese součtu průměrů měřitelných metastatických lézí bylo nepotvrzené částečné odpovědi dosaženo u 42,4 % a nepotvrzené úplné odpovědi u 8,6 % pacientů, což dohromady odpovídá celkové četnosti odpovědi 51 % při léčbě první linie. Četnost odpovědi byla vyšší u pacientů s levostrannými než pravostrannými primárními nádory. Zdá se, že režim cetuximab/FOLFOX by mohl být v první linii léčby pravostranného „RAS wild type“ mCRC účinnější než režim cetuximab/FOLFIRI.

Klíčová slova

kolorektální karcinom – chemoterapie

Introduction

The evaluation of efficacy of antitumor therapy in solid tumors has been based on an objective change in tumor size. In daily clinical practice, the observation of a tumor response reassures the patient and the oncologist that the selected therapy is active in the malignant disease.

Different criteria have been developed for the evaluation of the change in the tumor size related to the prescribed therapy, which in general defined four basic categories of response: complete (CR) and partial (PR) responses, and stabilization (SD) and progression (PD) of the disease. For a long time, only CR and PR were recognized as a 'positive' treatment response. Since the eighties of 20th century, the objective response rate (ORR) as a sum of proportions of CR and PR was used as a surrogate endpoint to overall survival in clinical trials.

Nevertheless, with the introduction of biological anticancer therapy, it has become obvious, that ORR does not strictly correlate with either overall or progression-free survival, and even patients achieving only stable disease, as the best therapeutic response, can ultimately benefit from the therapy, with respect to prolonged survival. However, biological therapies are expensive. Therefore, clinicians have struggled to find other predictive markers that could identify subgroups of patients who would profit most from the biological therapies.

The radiographically confirmed early tumor shrinkage (ETS) has been iden-

tified in a series of clinical trials in metastatic colorectal cancer as a valuable marker for prediction of the best objective response and overall survival [1–20]. ETS has been defined as a minimum of $\geq 10\%$ size reduction in the sum of diameters of target lesions achieved by week 6 from the initiation of second-line systemic therapy [5,19], and $\geq 20\%$ size reduction achieved by week 8 from the initiation of first-line therapy [4,8,14,18,20].

Whilst significance of this marker has been confirmed in *post-hoc* analyses of randomized controlled clinical trials, there is almost no experience with the implementation of this strictly defined marker in daily clinical practice [21–24]. With the aim to show the feasibility of the ETS concept implementation in daily clinical practice, we decided to organize a local, real-world study with the acronym RESECT.

Material and methods

Study design and patients

RESECT was a non-interventional, multicentric, single arm, prospective study covering 17 centers with comprehensive oncology care in the Czech Republic. Patients were recruited by investigators during routine visits in the participating oncology centers. Cetuximab naïve patients aged ≥ 18 years, with histologically confirmed adenocarcinoma of the colon or rectum, with a wild type of RAS gene, were eligible for this trial.

Patients with planned cetuximab therapy were registered in the study under

a specific individual numerical code, which was constructed from serial numbers of the center, the responsible physician in the respective center and the patient treated in the respective center. Thus, a unique subject number was assigned to each subject at inclusion and served as the subject's identifier in the study as well in the study database. On the Case Report Forms or other documents submitted to the Sponsor, subjects could be identified by their assigned identification numbers only. Only authorized persons had access to identifiable personal details, if required for data verification.

Patients' therapy as well as clinical and laboratory examinations and their timing were at the discretion of the respective physicians/investigators in the participating centers.

The study protocol together with Informed Consent Form, was submitted to, and finally approved by an Independent Ethics Committee. All patients signed informed consent before initiation of the study therapy.

There were no pre-specified terms for the observation period, except the dates for the first and last patient included in the study and the date of the end of data collection. There was no formal monitoring of the study.

Study objectives

The primary study objective was to explore the between-center and between-patient variability in a time interval from

the treatment start date to the date of the first radiographic control (TFRC), with regard to the predefined time interval of 6–12 weeks for the evaluation of early tumor shrinkage. Evaluations were performed both in the full study population and in the subset of patients with first-line therapy only. Secondary objectives included proportion of patients with tumor regression of $\geq 20\%$ by week 8 since the initiation of the therapy. The depth of response (DpR), as an additional study endpoint, was evaluated, too. It was defined as the maximum relative tumor regression achieved during the treatment, in comparison to the baseline measurable tumor size. For the purpose of this study, it was evaluated as a categorical variable based on the split into relative regression categories of $< 10\%$, $\geq 10\%$, $\geq 20\%$, $\geq 30\%$, $\geq 50\%$ and 100% . In addition to that, objective response rates were evaluated. All these evaluations were planned for the subset of patients with first-line therapy only.

Data sources, measurements and management

The regular clinical/hospital records of eligible patients were the basic source of information with regard to demography, history, baseline status, therapy and its outcomes, follow-ups and related changes in tumor load and health status. For detailed radiography evaluation of the tumor load and its changes, either CT or MRI scans were used.

Diagnostic, treatment and follow-up data of individual patients included in the study were registered through the study electronic Case Report Forms (eCRF). These were filled-in by the respective physician/investigator from each participating center. There was no independent evaluation of the tumor load and its changes. No strict requirements for frequency and/or time intervals of assessments were set-up for this non-interventional study.

The data were entered into a validated electronic database and processed by an independent data managing body. Quality control was performed before the electronic database was locked and released for statistical analysis as documented in the Data Management Re-

port. Database lock occurred once data completeness procedures had been finished.

There was no adverse event reporting in the period from the start of the study in May 2013 up to the implementation of the protocol amendment in May 2015. Since its implementation, each suspected adverse event/reaction occurring during the study, whether serious or not, had to be recorded in the eCRF, including its description, severity, duration (onset and resolution dates), causal relationship (i.e., confirmation that the adverse reaction is suspected to be reasonably related to the study treatment).

Statistics

The analysis of time to TFRC was restricted to patients with a known *KRAS/RAS* status and a follow-up period of at least 6 weeks, who had used the same methods for tumor size measurement at baseline and during the therapy, had no missing baseline tumor measurements and the baseline tumor measurements of lymph nodes were evaluated with other than ultrasound imaging methods.

Regarding TFRC, descriptive statistics including means (standard deviation and 95% confidence interval (CI), medians and interquartile range (IQR) were used for each of the participating centers. The between-center variance of time to TFRC was evaluated for 6 centers with ≥ 20 enrolled patients, using the Kruskal-Wallis tests.

Proportions of patients achieving tumor regression of $\geq 10\%$, $\geq 20\%$, $\geq 30\%$, $\geq 50\%$ and 100% were calculated, without any formal statistical analysis. For patients achieving each respective tumor regression percentage, the time to achieve that percentage regression was also calculated (mean, SD, 95% CI; median, IQR). Correlations between the time to achieve and the size of the respective tumor shrinkage were evaluated using Spearman's correlation.

No survival analyses were planned in this non-interventional, real world study.

Results

The RESECT trial was initiated in April 2013. The last patient entered the study

at the end of November 2017. The study was closed on February 28, 2019. Altogether, 636 patients with metastatic colorectal cancer were enrolled into the study, 435 (68%) indicated for first-line therapy, 174 (28%) for second-line therapy and 27 (4%) for third-line therapy. There were 427 (67.1%) males and 209 (32.9%) females in the full study population.

Left sided tumors represented the majority of cases (81%), while right sided tumors were much less frequent (19%) and were slightly more frequent among women than in men (26% and 16% respectively). The median age of all enrolled patients was 63 years (range 21–83) and was not different between men and women (65 and 64 years, respectively), nor between left-sided and right-sided primary tumors (65 years for both sides).

Given that no survival analyses were planned, we evaluated only time of patients' follow-up during the study. The median of the study follow-up duration in the cohort of 304 patients with first-line therapy was 233 days (range 23–1 527), with only 80 patients (26.3%) being followed for > 1 year, 14 patients (4.6%) for > 2 years and 5 patients (1.6%) for > 3 years.

TFRC evaluation (primary endpoint) The full study population

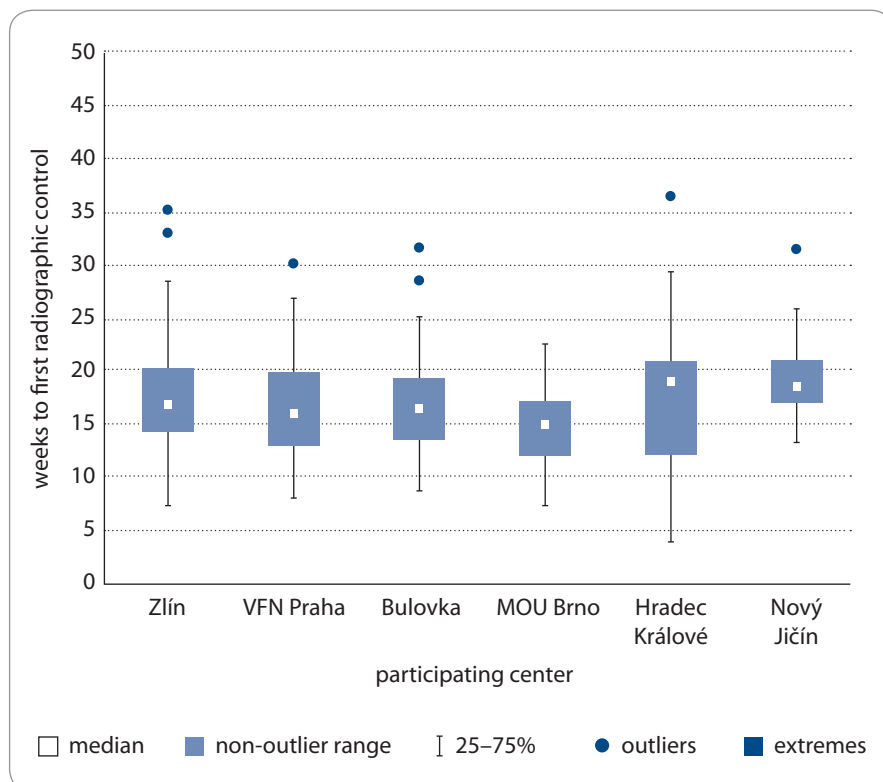
Out of 636 patients in the intention to treat population, TFRC was thought to be non-evaluable for 152 (23.9%) of them. Different methods were used for tumor size measurement at baseline and during therapy ($N = 97$; 15.3%), the baseline tumor size was evaluated only with ultrasound ($N = 25$; 3.9%), missing baseline tumor size measurements ($N = 19$; 3.0%), follow-up period < 6 weeks ($N = 9$; 1.4%), and an unknown *RAS* status ($N = 2$; 0.3%) were further reasons for excluding patients from the analyses. Therefore, 484 patients (304 receiving first-line, 155 receiving second-line and 25 receiving third-line therapy) were eligible for the evaluation of the time to TFRC.

The mean TFRC was 121 days (17.3 weeks), with the median of 107 days (15.3 weeks) and a range of 6–457 days

Tab. 1. Time to the first radiographic control.

Patient	Mean	Median	Range	95% CI	IQR
full study population, N = 484	17.3	15.3	0,9–65.3	NC	NC
first-line therapy subset, N = 304	17.8	16.9	9.3–31.6	17.1–18.6	14.0–20.5

CI – confidence interval, NC – not calculated, IQR – interquartile range


Fig. 1. Time to the first radiographic control according to centers providing ≥ 20 patients.

(Tab 1). A TFRC ≤ 60 days (8.6 weeks) was reported in only 9.8% of patients and a TFRC ≤ 90 days (12.9 weeks) in 19.2% of patients.

First-line therapy subset of patients

There were 304 out of 435 (69.9%) patients in the first-line therapy subset, who were eligible for TFRC evaluation. The mean TFRC was 124.9 days (17.8 weeks) with 95% CI 119.6–130.2 days; median TFRC was 118.5 days (16.9 weeks), interquartile range (IQR) 98–143.5 days (14–20.5 weeks) and the range 65–221 days (9.3–31.6 weeks) (tab. 1). TFRC ≤ 8 weeks was reported for only 9 patients (3%).

The medians of TFRC in all individual participating centers were > 12 weeks

(range 14.0–36.4 weeks). Analyses of inter-center differences in TFRC were performed, comparing TFRCs of six centers, which provided ≥ 20 patients receiving first-line therapy. The median TFRC in any of the six tested centers was substantially > 8 weeks (medians in the range of 15.0–18.9 weeks) and there was a statistically significant difference between the individual centers ($P = 0.0079$; ANOVA Kruskal-Wallis test) (Fig. 1).

Early tumor shrinkage and DpR in the first-line therapy subset

Baseline tumor size

A baseline tumor size was defined as the sum of the longest diameters of all measurable tumor lesions. The results of

these measurements are presented in Tab. 2. There were no statistically significant differences in the baseline tumor size with regard to location of the primary tumor ($P = 0.4505$; ANOVA Kruskal-Wallis test) and between left-sided and right-sided tumors (median 65 mm for both sides; $P = 0.5821$; two-sided ANOVA Wilcoxon two-sample test), as well as between males and females (medians 67 and 65 mm, respectively; $P = 0.7960$; two-sided ANOVA Wilcoxon two-sample test).

Early tumor shrinkage

In the first-line therapy cohort, 181 out of 304 (59.5%) evaluable patients had regression of ≥ 20% confirmed by radiologic imaging at any time (Tab. 3). However, based on the time of TFRC, such regression was confirmed only in 3 patients (1%) by day 60 (8.6 weeks), and in 28 patients (9.2%) for whom this was confirmed by day 90 (12.6 weeks). In view of the extremely low number of patients with data fulfilling the criteria for ETS, the analysis of correlation between ETS and DpR was not performed.

Relative tumor regression (DpR)

DpR achieved during the treatment was evaluated in the cohort of 304 patients with first-line therapy. The results are summarized in Tab. 3. Regression of at least 10% was achieved by 69% of patients. Regression of ≥ 20% (critical value for the ETS) was achieved in 59.5% of patients, regression of ≥ 30% (equivalent to ORR based on RECIST1.1) was achieved in 51% of patients and regression of 100% (equivalent to CR by RECIST1.1) was achieved in 8.6% of patients.

The median time to the first occurrence of regression of ≥ 10% was 124 days (IQR 101–153). As it could be expected, the median time to the first

Tab. 2. Baseline metastatic tumor size.

	Total colorectal N = 304	Ascending colon N = 43	Transverse colon N = 14	Descending colon N = 30	Sigmoid colon N = 117	Rectum N = 100
mean (mm)	139	130	119	83	171	125
95% CI (mm)	101–177	68–192	33–205	43–123	80–253	70–180
median (mm)	65	65	69	63	70	61
IQR (mm)	39–119	40–136	42–118	28–111	42–140	38–105

CI – confidence interval, IQR – interquartile range

Tab. 3. Relative tumor regression in the first-line therapy cohort (N = 304).

Tumor regression	< 10%	≥ 10%	≥ 20%	≥ 30%	≥ 50%	100%
Patients, N	94	210	181	155	106	26
Frequency, %	30.9	69.1	59.5	51.0	34.9	8.6
TTSR, days Median (IQR)	NE	124 (101–153)	125 (101–159)	126 (102–168)	144 (107–214)	200 (143–246)

IQR – interquartile range, NE – not evaluated, TTSR – time to the first occurrence of specific regression of tumor load

occurrence of a specific level of tumor regression increased, while the percentage of patients decreased when a stronger level of regression (≥ 50% and 100%) was to be achieved (Tab. 3, Fig. 2).

Unconfirmed objective tumor responses

Out of 304 patients in the first-line therapy cohort 214 (70%) were males and 90 (30%) were females. Left sided primary tumors represented the majority of all cases in the cohort (81.2%) compared to right sided tumors (18.8%). The treatment regimen of cetuximab + FOLFOX was prescribed to 43% and the regimen of cetuximab + FOLFIRI to 40% of patients in this cohort. The remaining 17% of patients were prescribed either with regimens of cetuximab + irinotecan (2%) or cetuximab + fluoropyrimidines only (15%). Treatment responses were assessed by the prescribing physicians/investigators, and there was neither any formal independent validation nor a formal statistical analysis.

The ORR in the whole evaluable cohort was 52%, with 11.5% of complete responses. These figures are quite similar

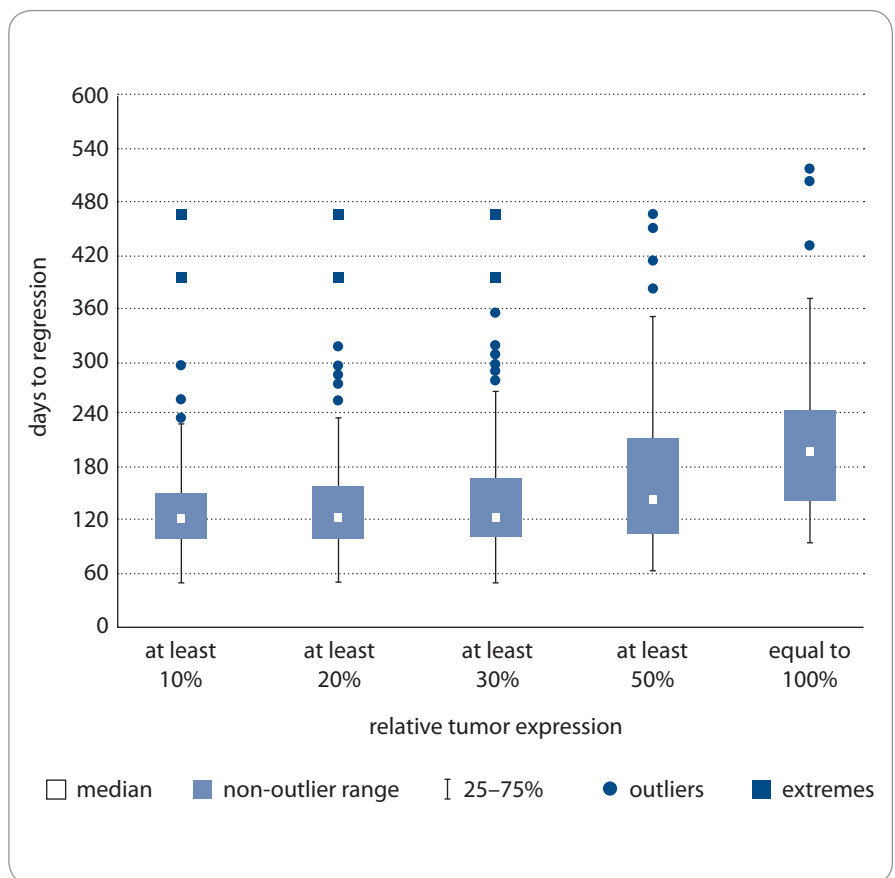


Fig. 2. Time to achieve pre-specified relative regression of the measurable metastatic tumor size.

Tab. 4. Summary of objective tumor responses in the cohort of patients with first-line therapy (investigators' evaluations).

	Total N = 304	Left-sided* N = 247	Right sided* N = 57	Male N = 214	Female N = 90
complete response, %	11.5	13	5.3	10.7	13.3
objective response rate, %	52.0	56.7	31.6	53.7	46.7

* Left sided tumors comprise cancer of descendent and sigmoid colon and rectum; right sided tumors comprise ascendant and transverse colon.

Tab. 5. Objective tumor responses by treatment regimens (investigators' evaluations).

	Total N = 304	E + FOLFOX N = 130	E + FOLFIRI N = 122	E + irinotecan N = 7	E + other* N = 45
complete response, %	11.5	16.2	10.7	0	2.2
objective response rate, %	52.0	62.3	51.6	28.6	24.4

*regimes of cetuximab with 5-FU or capecitabin only, E = cetuximab (Erbixux)

Tab. 6. Objective tumor responses of cetuximab in combination with FOLFOX or FOLFIRI according to the sidedness of the primary tumors (investigators' evaluations).

	Total N = 130	E + FOLFOX		Total N = 122	E + FOLFIRI	
		Left sided N = 106	Right sided N = 24		Left sided N = 102	Right sided N = 20
CR, %	16.2	17.9	8.3	10.7	11.8	5.0
ORR, %	62.3	66.0	45.8	51.6	55.9	30.0

* Left sided tumors comprise cancer of descendent and sigmoid colon, and rectum; right sided tumors comprise ascendant and transverse colon.

CR – complete response, ORR – objective response rate

to the figures estimated on the basis of evaluations of relative tumor regression.

The frequency of responses was higher among patients with left than right sided primary tumors and slightly higher among males than females (Tab. 4). Based on ORR estimates, it seems that regimens of cetuximab/FOLFOX could be more active than regimens of cetuximab/FOLFIRI in the frontline therapy of RAS-wt mCRC. Combinations of cetuximab with irinotecan or fluoropyrimidines alone seem to be clearly less effective as first-line therapies (Tab. 5). Both overall ORR and complete response rate (CR) were more favorable with cetuximab + FOLFOX than with cetuximab + FOLFIRI, both in left and right sided tumors (Tab. 6).

During the study follow-up period, 229 (75.3%) out of 304 patients progressed or died, with 73% of them having left sided tumors and 86.0% of them having right sided tumors. Out of 56 patients who died during the study follow-up period, 44 (17.8%) of them had left sided tumors and 12 (21.1%) of them had right sided tumors. These findings suggest a less favorable prognosis with higher mortality for patients with right sided tumors. Out of 229 patients with progression or death during the study follow-up period, only 60 (26.2%) were followed for > 1 year, and out of 56 patients who died during the study follow-up period, only 7 (12.5%) were followed for > 1 year. Based on these findings,

we can mechanistically assume that in our cohort of 304 patients with first-line therapy, the majority of patients (169/229; 73.8%) had progressed during the first year of the follow-up.

Safety

The safety population in the RESECT study comprised 478 patients, who received at least one dose of cetuximab, 374 being patients with first-line, 93 patients with second-line and 11 with third-line therapy. Altogether there were 276 adverse events (AEs) reported, 221 from first-line, 41 from the second-line and 8 from the third-line patient cohorts. The majority of all AEs was reported as G1/2 (91.6%), while AEs with

G \geq 3 represented 8.4% of all reported AEs, including single cases of G5 AEs (0.2%). The adverse events were reported more frequently in male than female patients (48.5 vs. 33.0%, respectively). The same was observed with respect to cetuximab-related AEs (32.3 vs. 17.8%).

The most frequently reported AE was skin toxicity comprising erythema, exanthema, acneiform rash, dry skin, skin rhagade and paronychia (38.7%; G3/4 3.1%), followed by neurotoxicity, comprising paresthesia and peripheral neuropathy (7.3%; G3 0.4%), diarrhea (6.3%; G3/4 1.2%) and neutropenia (5.4%; G3/4 3.4%, G5 0.2%). Cetuximab-related infusion reactions were reported in seven cases (1.5%), with only one such reaction reported as G3 (0.2%).

Temporary or permanent discontinuations of therapy due to AEs were reported in 20 cases (4.2%), temporary discontinuations in 13 cases (2.7%), permanent discontinuations in 7 cases (1.5%). Cetuximab was discontinued in all reported cases during the study. Dose reductions of chemotherapy due to AEs were reported in 14 cases (2.9%); in 9 cases, the reported AEs were considered cetuximab-related (1.9%). There was no reduction of cetuximab dose. Safety analyses in the RESECT study provided no new safety signals.

Discussion

Given that ETS had appeared as a predictor of higher sensitivity of mCRC to systemic anticancer therapy as well as of better treatment outcomes and prognosis, particularly for first-line therapy, we were interested whether this parameter could be used in routine clinical practice in the Czech Republic. The definition of ETS in the RESECT study was the same as in controlled randomized trials with cetuximab in mCRC: relative regression of measurable tumor size by \geq 20% within the first 8 weeks of therapy.

We aimed to evaluate the time to TFRC as a primary endpoint to see what proportion of RAS-wt mCRC patients will fulfill the time criterion of the ETS concept in a real world setting.

Within the population of all evaluable patients (N = 484), the median time to TFRC in all participating centers ex-

ceeded the threshold value of 8 weeks, predefined for ETS evaluations, and was even higher than the time for regular follow-up visits as recommended by European Society for Medical Oncology [25] and local guidelines (2–3 months) [26]. The proportion of patients with TFRC carried out \leq 60 days after therapy initiation was substantially lower (9.8%) than expected. On top of that, there were significant differences in TFRC between individual participating centers. In the cohort of 304 patients with first-line therapy, a median TFRC of 17 weeks (IQR 14–20 weeks) was observed, and the proportion of patients with TFRC \leq 8 weeks was 3% only. These findings indicate that the basic time parameter of ETS could not realistically be employed in routine oncology care of patients with mCRC in the Czech Republic, unless there would be a strict request to perform TFRC by week 8 after therapy initiation.

As the second important parameter, relative regression from the baseline of measurable tumor size was evaluated in the cohort of patients with first-line therapy. Regression by \geq 20% was achieved in 60% of patients; however, it was reported as achieved within the first 8 week of therapy for 2 patients (1.1%) only, probably due the low rate of patients receiving their TFRC 8 weeks after the start of the therapy. As the median of TFRC in this cohort of patients was almost 17 weeks and the proportion of patients with TFRC \leq 8 weeks was 3% only, we were not able to estimate the real proportion of patients who achieved regression by \geq 20% by week 8.

With extremely low number of patients with data fulfilling the criteria of ETS, analysis of the correlation between ETS and DpR would be invalid and was not performed.

The RESECT study was a non-interventional prospective clinical trial, in which timing of any clinical, radiographic and laboratory examinations was at the discretion of the respective physician/investigator from the participating center. This was a major limitation, which made more precise evaluation of the ETS concept impossible.

On the other hand, we were able to evaluate treatment response, based on

the data of relative tumor regression on one side and investigators reported objective responses on the other side. Given that ORR was not the primary endpoint in this non-interventional study, confirmation of responses was not required.

Based on the relative regression in the sum of diameters of measurable metastatic lesions, unconfirmed partial responses were achieved in 42.4% and unconfirmed complete responses in 8.6% of patients, altogether corresponding to ORR of 51% with first-line therapy. Based on investigator-reported objective response, the overall ORR as well as frequency of complete responses were similar (52 and 11.5%, respectively). The frequency of responses was higher among patients with left- than those with right-sided primary tumors.

Conclusion

It seems that the regimen of cetuximab/FOLFOX might be more active than the regimen of cetuximab/FOLFIRI in frontline therapy of RAS-wt mCRC, particularly in right-sided tumors. All these findings are consistent with the data from randomized clinical trials and their meta-analyses in patients with mCRC [1,10,16,25,27].

The safety analysis of the RESECT study provided no new safety signals. The safety profile of cetuximab was similar to that reported in other clinical trials, and there was just a single case of therapy-related death reported during the study. However, the reported frequencies of individual adverse reactions seemed to be lower than in controlled clinical trials. Potential explanation could be underreporting, as generally recognized in non-interventional studies and/or postmarketing pharmacovigilance and spontaneous AE reporting.

Financial support

This research was financially supported by Merck spol.sr.o., Praha, Czech Republic, an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

References

1. Arnold D, Lueza B, Douillard JY et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six ran-

- domised trials. *Ann Oncol* 2017; 28(8): 2932–2942. doi: 10.1093/annonc/mdx175.
2. Bouchahda M, Boige V, Smith DM et al. Impact of early tumor response on prognostic of patients with unresectable liver metastases from wt-KRAS colorectal cancer (LM-CRC) treated with hepatic artery infusion of irinotecan, 5-fluorouracil and oxaliplatin plus intravenous cetuximab after failure of systemic chemotherapy (European Phase II OPTILIV). *J Clin Oncol* 2016; 34 (15 Suppl): e15036. doi: 10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.e15036.
 3. Carrato A, Abad A, Massuti B et al. First-line panitumumab plus FOLFOX4 or FOLFIRI in colorectal cancer with multiple or unresectable liver metastases: a randomised, phase II trial (PLANET-TTD). *Eur J Cancer* 2017; 81: 191–202. doi: 10.1016/j.ejca.2017.04.024.
 4. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C et al. Early tumor shrinkage and depth of response predict long-term outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with first-line chemotherapy plus bevacizumab: results from phase III TRIBE trial by the Gruppo Oncologico del Nord Ovest. *Ann Oncol* 2015; 26(6): 1188–1194. doi: 10.1093/annonc/mdv112.
 5. De Roock W, Piessevaux H, De Schutter J et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 2008; 19(3): 508–515. doi: 10.1093/annonc/mdm496.
 6. Douillard JY, Siena S, Peters M et al. Impact of early tumour shrinkage and resection on outcomes in patients with wild-type RAS metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2015; 51(10): 1231–1242. doi: 10.1016/j.ejca.2015.03.026.
 7. Giessen C, Laubender RP, Fisher von Weikersthal L et al. Early tumor shrinkage in metastatic colorectal cancer: retrospective analysis from an irinotecan-based randomized first-line trial. *Cancer Sci* 2013; 104(6): 718–724. doi: 10.1111/cas.12148.
 8. Heinemann V, Stintzing S, Modest DP et al. Early tumour shrinkage (ETS) and depth of response (DpR) in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *Eur J Cancer* 2015; 51(14): 1927–1936. doi: 10.1016/j.ejca.2015.06.116.
 9. Heun JM, Grothey A, Branda ME et al. Tumor status at 12 weeks predicts survival in advanced colorectal cancer: findings from NCCTG N9741. *Oncologist* 2011; 16(6): 859–867. doi: 10.1634/theoncologist.2011-0064.
 10. Holch JW, Ricard I, Stintzing S et al. The relevance of primary tumour location in patients with metastatic colorectal cancer: a meta-analysis of first-line clinical trials. *Eur J Cancer* 2017; 70: 87–98. doi: 10.1016/j.ejca.2016.10.007.
 11. Cheng AL, Cornelio G, Shen L et al. Efficacy, tolerability, and biomarker analyses of once-every-2-weeks cetuximab plus first line FOLFOX or FOLFIRI in patients with KRAS or all RAS wild-type metastatic colorectal cancer: the phase 2 APEC study. *Clin Colorectal Cancer* 2017; 16(2): e73–e88. doi: 10.1016/j.clcc.2016.08.005.
 12. Ichante J, Adenis A, Malka D et al. Impact of early tumor shrinkage on long-term outcome in metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with 5FU plus irinotecan plus leucovorin (FOLFIRI) or capecitabine plus irinotecan XELIRI plus bevacizumab. *J Clin Oncol* 2011; 29: e14041. doi: 10.1200/jco.2011.29.15_suppl.e14041.
 13. Ito M, Kusaba H, Mukaide S et al. Early tumor shrinkage indicates a favorable response to bevacizumab-based first-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer. *Anticancer Drugs* 2017; 28(10): 1166–1173. doi: 10.1097/CAD.0000000000000562.
 14. Köhne CH, Karthaus M, Mineur L et al. Impact of primary tumour location and early tumour shrinkage on outcomes in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer following first line FOLFIRI plus panitumumab. *Drugs R D* 2019; 19(3): 267–275. doi: 10.1007/s40268-019-0278-8.
 15. Loupakis F, Yang D, Yau L et al. Primary tumor location as a prognostic factor in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2015; 107(3): dju427. doi: 10.1093/jnci/dju427.
 16. Loupakis F, Cremolini C, Masi G et al. Initial therapy with FOLFOXIRI and bevacizumab for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2014; 371(17): 1609–1618. doi: 10.1056/NEJMoa1403108.
 17. Modest DP, Laubender RP, Stintzing S et al. Early tumor shrinkage in patients with metastatic colorectal cancer receiving first-line treatment with cetuximab combined with either CAPIRI or CAPOX: an analysis of the German AIO KRK 0104 trial. *Acta Oncol* 2013; 52(5): 956–962. doi: 10.3109/0284186X.2012.752580.
 18. Modest DP, Stintzing S, Fisher von Weikersthal L et al. Relation of early tumor shrinkage (ETS) observed in first-line treatment to efficacy parameters of subsequent treatment in FIRE-3 (AIOKRK0306). *Int J Cancer* 2017; 140(8): 1918–1925. doi: 10.1002/ijc.30592.
 19. Piessevaux H, Buyse M, De Rock W et al. Radiological tumor size decrease at week 6 is a potent predictor of outcome in chemorefractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab (BOND trial). *Ann Oncol* 2009; 20(8): 1375–1382. doi: 10.1093/annonc/mdp011.
 20. Piessevaux H, Buyse M, Schilchting M et al. Use of early tumor shrinkage to predict long-term outcome in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2013; 31(30): 3764–3775. doi: 10.1200/JCO.2012.42.8532.
 21. Rivera F, Karthaus M, Hecht JR et al. Final analysis of the randomised PEAK trial: overall survival and tumour responses during first-line treatment with mFOLFOX6 plus either panitumumab or bevacizumab in patients with metastatic colorectal carcinoma. *Int J Colorectal Dis* 2017; 32(8): 1179–1190. doi: 10.1007/s00384-017-2800-1.
 22. Suzuki C, Blomqvist L, Sundin A et al. The initial change in tumor size predicts response and survival in patients with metastatic colorectal cancer treated with combination chemotherapy. *Ann Oncol* 2012; 23(4): 948–954. doi: 10.1093/annonc/mdr350.
 23. Sommeijer D, Shi Q, Saad ED et al. Early predictors of overall survival (OS) in patients (pts) on 1st-line chemotherapy (CT) for metastatic colorectal cancer (mCRC): an ARCAD study with individual patient data (IPD) on 10,962 pts. *J Clin Oncol* 2014; 32 (15 Suppl): 3538. doi: 10.1200/jco.2014.32.15_suppl.3538.
 24. Taieb J, Rivera F, Siena S et al. Exploratory analyses assessing the impact of early tumour shrinkage and depth of response on survival outcomes in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer receiving treatment in three randomised panitumumab trials. *J Cancer Res Clin Oncol* 2018; 144(2): 321–335. doi: 10.1007/s00432-017-2534-z.
 25. Tejpar S, Stintzing S, Ciardiello F et al. Prognostic and predictive relevance of primary tumor location in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer: retrospective analyses of the CRYSTAL and FIRE-3 trials. *JAMA Oncol* 2017; 3(2): 194–201. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.3797.
 26. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016; 27(8): 1386–1422. doi: 10.1093/annonc/mdw235.
 27. Venook AP, Niedzwiecki D, Innocenti F et al. Impact of primary (P₁) tumor location on overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC): analysis of CALGB/SWOG 80405. *J Clin Oncol* 2016; 34 (Suppl 15): 3504. doi: 10.1200/jco.2016.34.15_suppl.3504.

Faktory ovplyvňujúce prežívanie pacientov a vývoj GvHD po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek od HLA-identických súrodencov – skúsenosť jedného centra

Factors influencing overall survival and GvHD development after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – single centre experience

Homolová M.¹, Bojtárová E.², Kováčová M.², Klučková K.¹, Suchánková M.¹, Kušíková M.², Mistrík M.², Shawkatová I.¹

¹Imunologický ústav LF UK, Bratislava, Slovenská republika

²Klinika hematológie a transfúziológie LF UK, SZU a UN Bratislava, Slovenská republika

Súhrn

Východiská: Alogénna transplantácia krvotvorných buniek (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – alloHSCT) predstavuje významný terapeutický výkon pre liečbu celého spektra závažných chorôb. Pokroky v liečbe a podpornej starostlivosti zlepšili celkové prežívanie, avšak napriek tomu sa alloHSCT naďalej vyznačuje značnou úmrtnosťou, najčastejšie zapríčinenou chorobou z reakcie štepu proti hostiteľovi (graft-versus-host disease – GvHD). Cieľom našej retrospektívnej analýzy bolo zistiť, ktoré z vybraných faktorov mali vplyv na celkové prežívanie a vývoj GvHD po alloHSCT od HLA-identických súrodencov. Analyzovali sme vek pacienta a darcu, kompatibilitu v ABO systéme, zhodu pohlavia príjemcu a darcu, zdroj krvotvorných buniek, čas od diagnózy po alloHSCT, typ prípravného režimu, typ profylaxie GvHD a relaps. **Pacienti a metódy:** Sledovali sme 96 pacientov (54 mužov, 42 žien), ktorí podstúpili alloHSCT od HLA-identického súrodenca. Medián sledovania bol 64,5 mesiaca (rozsah 1–218 mesiacov), medián veku príjemcov aj darcov bol 34 rokov. Najčastejšou indikáciou alloHSCT bolo malígne hematologické ochorenie. **Výsledky:** Najvyšší počet úmrtí zapríčinila GvHD a jej komplikácie ($n = 24$; 46,2 %) a na druhom mieste bol relaps ($n = 18$; 34,6 %). Akútnu GvHD vyvinulo 30 (31,3%) a chronickú GvHD 25 (26,0%) z celkového počtu 96 pacientov. Celkovo GvHD vyvinulo 45 pacientov (46,9%). Pozorovali sme horšie celkové prežívanie pacientov mužského pohlavia, ktorí mali dárkyne ženy v porovnaní s ostatnými pacientami ($p = 0,01$; HR = 2,33). Celkové prežívanie bolo lepšie u pacientov transplantovaných do 1 roka od stanovenia diagnózy, v porovnaní s pacientami transplantovanými po 1 roku ($p = 0,03$; HR = 1,93). Žiadny z faktorov nemal štatisticky významný vplyv na akútnu GvHD, chronickú GvHD a celkovo na GvHD. **Záver:** Potvrdili sme, že nezhoda pohlaví, ak darcom je žena a príjemcom muž, signifikantne negatívne ovplyvňuje celkové prežívanie po alloHSCT. Rovnako, celkové prežívanie mali signifikantne kratšie pacienti, ktorí podstúpili alloHSCT neskôr ako 1 rok od potvrdenia diagnózy.

Kľúčové slová

transplantácia kmeňových krvotvorných buniek – celkové prežívanie – GvHD

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

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

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

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



MUDr. Monika Homolová, PhD.

Imunologický ústav LF UK

Odborárske námestie 14

811 08 Bratislava

Slovenská republika

e-mail: monika.homolova@fmed.

uniba.sk

Obdržané/Submitted: 11. 8. 2023

Prijaté/Accepted: 18. 1. 2024

doi: 10.48095/ccko2024118

Summary

Backgrounds: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT) is a substantial therapeutic procedure for the treatment of a wide spectrum of severe diseases. Despite advancements in treatment and supportive care, alloHSCT still carries a considerable mortality risk, primarily caused by graft-versus-host disease (GvHD). Our retrospective analysis aimed to identify the factors influencing overall survival and GvHD development in HLA-identical sibling alloHSCT. We have analyzed patients' and donors' age, ABO compatibility, recipient-donor gender match, stem cell source, time from the diagnosis to alloHSCT, conditioning regimen type, GvHD prophylaxis, and relapse. **Patients and methods:** Our study included 96 patients (54 male, 42 female) who underwent HLA-identical sibling alloHSCT. The median follow-up was 64.5 months (range 1–218 months), and the median age of both recipients and donors was 34 years. Malignant hematological diseases were the most common indications for alloHSCT. **Results:** GvHD and its complications accounted for the highest number of deaths (N = 24; 46.2%), followed by relapse (N = 18; 34.6%). Acute GvHD developed in 30 patients (31.3%), while chronic GvHD occurred in 25 patients (26.0%), resulting in a total of 45 patients (46.9%) experiencing GvHD. Male recipients with female donors had significantly worse overall survival compared to other patients (P = 0.01; HR = 2.33). Overall survival was better in patients transplanted within 1 year from the diagnosis compared to those transplanted after 1 year (P = 0.03; HR = 1.93). No factor reached statistical significance regarding the impact on acute GvHD, chronic GvHD, or overall GvHD. **Conclusion:** We confirmed that sex mismatch, specifically in the case of a female donor and a male recipient, significantly negatively affects overall survival after alloHSCT. Additionally, overall survival is significantly shorter when the interval between the diagnosis and alloHSCT exceeds one year.

Key words

hematopoietic stem cell transplantation – overall survival – GvHD

Úvod

Alogéna transplantácia krvotvorných buniek (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation – alloHSCT) predstavuje v súčasnosti významný terapeutický výkon pre celé spektrum hematologických aj nehematologických život ohrožujúcich chorôb [1]. Významné pokroky v liečbe a podpornej starostlivosti viedli k zlepšeniu celkového prežívania, ale napriek tomu sa alloHSCT vyznačuje pomerne vysokou mierou úmrtnosti [1,2]. K príčinám patrí najmä choroba z reakcie štepu proti hostiteľovi (graft versus host disease – GvHD), ďalej infekčné komplikácie a toxicita prípravného režimu [3]. Úspešnosť alloHSCT závisí od viacerých faktorov, ktoré môžeme rozdeliť do dvoch základných skupín, predtransplantačné a potransplantačné. K základným predtransplantačným faktorom patria klinické parametre samotného pacienta (vek, pohlavie, typ diagnózy, štádium choroby), ďalej výber darcu (príbuzný, nepríbuzný, vek, pohlavie), charakter prípravného režimu, zdroj krvotvorných buniek a typ profylaxie GvHD [4–6]. Prognózu pacientov po alloHSCT ovplyvňuje najmä prijatie štepu, vývoj GvHD, včasný relaps malígneho ochorenia a infekcie [2,3,7]. Podľa niektorých zdrojov je GvHD najčastejšie sa vyskytujúcou a potenciálne život ohrožujúcou komplikáciou po alloHSCT [8]. Výskyt GvHD je vyšší u pacientov, ktorí mali darcov s nezhodami v HLA-antigénoch. Platí ale, že pacienti, ktorých dar-

covia boli HLA-identickí súrodenci, sú tiež ohrození vývojom GvHD [9,10].

Cieľom našej retrospektívnej analýzy bolo zistiť, ktoré faktory štatisticky významne ovplyvnili celkové prežívanie (overall survival – OS) a vývoj GvHD u pacientov po alloHSCT od HLA-identických súrodencov. Zo vstupných parametrov pred transplantáciou sme analyzovali vek pacienta a darcu, kompatibilitu v ABO systéme, zhodu pohlavia príjemcu a darcu, zdroj krvotvorných buniek, čas od diagnózy po alloHSCT, typ prípravného režimu a typ profylaxie GvHD. Z faktorov limitujúcich prognózu po alloHSCT sme hodnotili relaps. Podľa nám dostupných informácií nebola doteraz v rámci slovenskej populácie publikovaná štúdia podobného charakteru.

Pacienti a metódy

Súbor pacientov a darcov

Sledovaný súbor tvorilo 96 pacientov (54 mužov, 42 žien), ktorí podstúpili alloHSCT na Klinike hematológie a transfuziológie LF UK, SZU a UN Bratislava v priebehu 14 rokov (1994–2008). Vo všetkých analyzovaných prípadoch bol darcom HLA-identický súrodenec. Medián sledovania bol 64,5 mesiaca po alloHSCT, v rozmedzí 1–218 mesiacov. Medián pre interval od stanovenia diagnózy po vykonanie alloHSCT bol 5 mesiacov (rozpätie 0–159 mesiacov). Pri retrospektívnej analýze sme vychádzali z klinických údajov v chorobopisoch a nemocničnom informačnom systéme.

Do štúdie sme zahrnuli len tie alloHSCT, ktoré boli realizované ako jediné alebo ako prvé u daného pacienta a ku ktorým boli dostupné úplné klinické dáta.

Medián veku príjemcov v čase transplantácie bol 34 rokov (rozmedzie 19–59 rokov). Vek darcov s mediánom 34 rokov a rozpätím 13–60 rokov približne kopíroval vek pacientov. Pre významnú väčšinu pacientov (91,7 %) bolo indikáciou na transplantáciu malígne hematologické ochorenie. Čo sa týka zhody pohlavia darcu a príjemcu, v 22 (22,9 %) prípadoch bola darcom štepu žena a príjemcom muž, u zostávajúcich 74 (77,1 %) súrodeneckých párov sa jednalo o iné kombinácie. Podrobný prehľad klinických údajov k súboru príjemcov a darcov a spektra diagnóz je uvedený v tab. 1.

Pred transplantáciou absolvovalo 81 (84,4 %) z celkového počtu 96 pacientov myeloablatívnu prípravu, ktorá pozostávala z podávania cyklofosfamidu počas 2 dní, buď v kombinácii s busulfánom alebo celotelovým ožiarením. Päťnástim príjemcom (15,6 %) bol indikovaný prípravný režim s redukovanou intenzitou (reduced intensity conditioning – RIC). Ako zdroj kmeňových krvotvorných buniek boli u 55 (57,3 %) pacientov použité kmeňové bunky periférnej krvi (peripheral blood stem cell – PBSC) a v prípade 41 (42,7 %) príjemcov to bola kostná dreň (bone marrow – BM). V rámci profylaxie GvHD dostávalo 82 (85,8 %) príjemcov krátkodobo kom-

bináciu metotrexátu (MTX) a cyklosporínu A (CsA) a zostávajúcimi 14 (14,6 %) pacientmi boli podávané iné kombinácie imunosupresív, ako je podrobne prezentované v tab.1.

Štúdia bola schválená Etickou komisiou Univerzitetnej nemocnice v Bratislave a bola vykonaná v súlade so zásadami Helsinskej deklarácie. Každý pacient bol poučený a podpísal informovaný súhlas.

HLA-typizácia

Výber vhodného darcu spomedzi súrodencov bol uskutočňovaný na základe zhody v oboch triedach HLA-systému. HLA-typizácia I. triedy (HLA-A, -B a -C) bola realizovaná sérologickými aj genomickými metódami. Na typizáciu HLA-lokusov II. triedy (HLA-DRB1 a -DQB1) u všetkých 96 pacientov a ich darcov sme použili iba techniky molekulárnej genetiky, konkrétne polymerázová reťazová reakcia so sekvencne špecifickými primermi (polymerase chain reaction – sequence-specific primer – PCR-SSP). Celý postup pozostával z izolácie genómovej DNA, amplifikácie polymorfných exónov príslušnej alely a napokon vizualizácie reakcie. PCR-SSP sme uskutočňovali pomocou komerčne dostupnej súpravy primerov Olerup SSPTM (Švédsko) pre nižšie rozlíšenie (low resolution), ktorá umožňuje určiť skupiny príbuzných alií [11].

Stanovenie akútnej a chronickej GvHD

GvHD bola diagnostikovaná podľa štandardných klinických kritérií. Akútna GvHD (aGvHD) bola na základe rozsahu orgánového postihnutia klasifikovaná ako stupeň I–IV [12]. Pri chronickej GvHD (cGvHD) sme rozlišovali limitovanú a extenzívnu formu [13].

Štatistické analýzy

Ako premenné sme hodnotili vek pacienta, vek darcu, zhodu/nezhodu v ABO-systéme, pohlavie (žena darca/ muž príjemca vs. iné kombinácie), zdroj krvotvorných buniek (PBSC vs. BM), typ prípravného režimu (myeloablatívny vs. RIC), typ profylaxie GvHD (MTX + CsA vs. iná profylaxia), interval od stanovenia diagnózy po alloHSCT (interval ≤ 1 rok vs. interval > 1 rok) a relaps. Pomocou

Tab. 1. Klinické parametre 96 príjemcov a darcov.

Vek, medián \pm SD (rozptyl)	
príjemcovia	34,0 \pm 10,7 (19–59)
darcovia	34,0 \pm 11,5 (13–60)
Pohlavie, muži : ženy, n	
príjemcovia	54 : 42
darcovia	57 : 39
Pohlavie darcu \rightarrow príjemcu, n (%)	
muž \rightarrow muž	32 (33,4 %)
žena \rightarrow muž	22 (22,9 %)
muž \rightarrow žena	25 (26,0 %)
žena \rightarrow žena	17 (17,7 %)
Zdroj krvotvorných buniek, n (%)	
kostná dreň	41 (42,7 %)
periférna krv	55 (57,3 %)
Diagnóza, n (%)	
chronická myeloidná leukémia	38 (39,6 %)
akútna myeloblastová leukémia	30 (31,3 %)
akútna lymfoblastová leukémia	15 (15,6 %)
myelodysplastický syndróm	4 (4,2 %)
non-Hodgkinov lymfóm	1 (1,0 %)
ťažká aplastická anémia	6 (6,3 %)
paroxyzmálna nočná hemoglobinúria	1 (1,0 %)
osteomyelofibróza	1 (1,0 %)
Prípravný režim, n (%)	
myeloablatívny	81 (84,4%)
režim s redukovanou intenzitou	15 (15,6%)
Profylaxia GvHD, n (%)	
MTX + CsA	82 (85,4%)
CsA + MM	3 (3,1%)
MTX + anti-T-lymfocytárny globulín	1 (1,1%)
CsA + metylprednizolón	2 (2,1%)
CsA	3 (3,1%)
extrakorporálna fotoforéza + MTX + CsA	5 (5,2%)
ABO kompatibilita, n (%)	
kompatibilita	67 (69,8%)
„major“ inkompatibilita	12 (12,5%)
„minor“ inkompatibilita	12 (12,5%)
„bidirekčná“ inkompatibilita	5 (5,2%)
Interval od diagnózy po alloHSCT (mesiace), medián \pm SD (rozptyl)	5 (0–159)
alloHSCT ≤ 1 rok od diagnózy, n	71
alloHSCT > 1 rok od diagnózy, n	25

alloHSCT – alogénna transplantácia krvotvorných buniek, CsA – cyklosporín A, GvHD – reakcia štepú proti hostiteľovi, MM -mykofenolát mofetil, MTX – metotrexát, SD – štandardná odchýlka

Tab. 2. Incidencia akútnej a chronickej GvHD.

Akútna GvHD, n (%)	
nenastala (0)	66 (68,8 %)
stupeň I	2 (2,1 %)
stupeň II	11 (11,5 %)
stupeň III	7 (7,3 %)
stupeň IV	10 (10,4 %)
Chronická GvHD, n (%)	
nenastala	71 (74,0 %)
limitovaná forma	11 (11,5 %)
extenzívna forma	14 (14,6 %)

GvHD – reakcia štepu proti hostiteľovi

multivariačnej analýzy sme sledovali vplyv týchto premenných na dĺžku celkového prežívania (OS), teda čas v mesiacoch od dátumu transplantácie po čas úmrtia, resp. u žijúcich po koniec sledovania súboru. Použili sme Coxov regresný model. V prípade štatisticky významných premenných sme pre jednotlivé faktory zhotovili aj Kaplan-Meierove krivky prežívania. Multivariačnú analýzu s využitím logistickej regresie sme použili na zistenie, ktoré z horeuvedených premenných štatisticky významne ovplyvnili vývoj aGvHD, cGvHD a vývoj GvHD celkovo. Výsledky sme vyjadřili hodnotou p, pričom hodnoty nižšie ako 0,05 sme považovali za štatisticky významné. Štatistické výpočty sme realizovali pomocou počítačového programu SAS Enterprise Guide 6.1.

Výsledky

Počas potransplantačného sledovania zomrelo 52 (54,2 %) z celkového počtu 96 pacientov, z toho šiesti pacienti mali zlyhanie štepu do 1 mesiaca od vykonanej alloHSCT. Príčiny úmrtia sme rozdelili do štyroch kategórií: relaps, GvHD a jej komplikácie, sekundárna malignita, infekcie a iné. Najvyšší počet úmrtí zapríčinila GvHD a jej komplikácie (n = 24; 46,2 %) a druhá najčastejšia príčina úmrtia bol relaps (n = 18; 34,6 %). Zvyšné úmrtia spôsobili infekcie, sekundárne malignity a iné príčiny. Relaps sa celkovo

Tab. 3. Multivariačná Coxova regresia analyzujúca vplyv vybraných premenných na dĺžku celkového prežívania.

Premenná	Štandardná chyba	p-hodnota	HR
vek pacienta	0,03	0,209	1,03
vek darcu	0,02	0,611	0,99
darca-žena, príjemca-muž vs. ostatné	0,35	0,015*	2,33
zhoda v ABO systéme vs. nezhoda v ABO	0,33	0,967	0,99
alloHSCT ≤ 1 rok od dg			
vs. alloHSCT > 1 rok od dg	0,30	0,030*	1,93
zdroj krvotvorných buniek: BM vs. PBSC	0,34	0,557	1,22
prípravny režim: myeloablatívny vs. RIC	0,42	0,056	2,23
profylaxia GvHD: MTX + CsA vs. iné	0,42	0,232	1,65
relaps	0,34	0,400	1,33

BM – kostná dreň, CsA – cyklosporín A, dg – diagnóza, MTX – metotrexát, PBSC – periférne krvotvorné bunky, RIC – prípravny režim s redukovanou intenzitou, * štatisticky významný faktor

vyvinul u 21 (21,9 %) pacientov. Akútnu GvHD po alloHSCT vyvinulo 30 (31,3 %) a chronická GvHD bola diagnostikovaná u 25 (26,0 %) z celkového počtu 96 pacientov. Súhrnne, určitú formu GvHD po alloHSCT vyvinulo 45 pacientov (46,9 %). Detailnejšie sú incidencie aGvHD, cGvHD a stupne klinickej závažnosti uvedené v tab. 2.

Na začiatku analýzy, do roku 2000, prevažovali alloHSCT (n = 43), v ktorých sa ako zdroj kmeňových krvotvorných buniek používala kostná dreň (n = 28; 65,1 %), zatiaľ čo kmeňové bunky periférnej krvi sa používali menej (n = 15; 34,9 %). V ďalšom období sledovania, po roku 2000 prevažovali alloHSCT (n = 53) s využitím kmeňových buniek periférnej krvi (n = 40; 75,5 %) a len v 13 (24,5 %) prípadoch bola použitá kostná dreň.

Prvý rok po alloHSCT bolo celkové prežitie 66 %, kým dva roky po alloHSCT to bolo 57 %. Tri roky po transplantácii žilo 52 % a po piatich rokoch 51 % príjemcov.

Faktory štatisticky významne ovplyvňujúce OS

Ako faktor štatisticky významne ovplyvňujúci celkové prežitie bola v našom súbore pomocou Coxovej analýzy zistená nezhoda pohlaví, konkrétne

prípady, kedy je dárkyňou žena pre príjemcu muža vs. iné kombinácie (p = 0,01; HR = 2,33). Druhým štatisticky významným faktorom bol interval od stanovenia diagnózy po vykonanie alloHSCT (obdobie ≤ 1 rok vs. obdobie > 1 rok; p = 0,03; HR = 1,93). Výsledky multivariačnej Coxovej regresie analyzujúcej vplyv vybraných premenných na dĺžku celkového prežívania (overall survival – OS) sú uvedené v tab. 3. V prílohách je Kaplan-Meierova krivka prežívania pacientov v našom súbore (graf 1). Bol zaznamenaný signifikantný rozdiel v celkovom prežití pacientov mužského pohlavia, ktorí mali dárkyne ženy v porovnaní s ostatnými pacientami (graf 2). Kaplan-Meierova krivka zachytáva štatisticky významne lepšie celkové prežitie pacientov v skupine, v ktorej bola alloHSCT vykonaná do 1 roka od stanovenia diagnózy, v porovnaní so skupinou, kde bola alloHSCT realizovaná > 1 rok po stanovení diagnózy (graf 3).

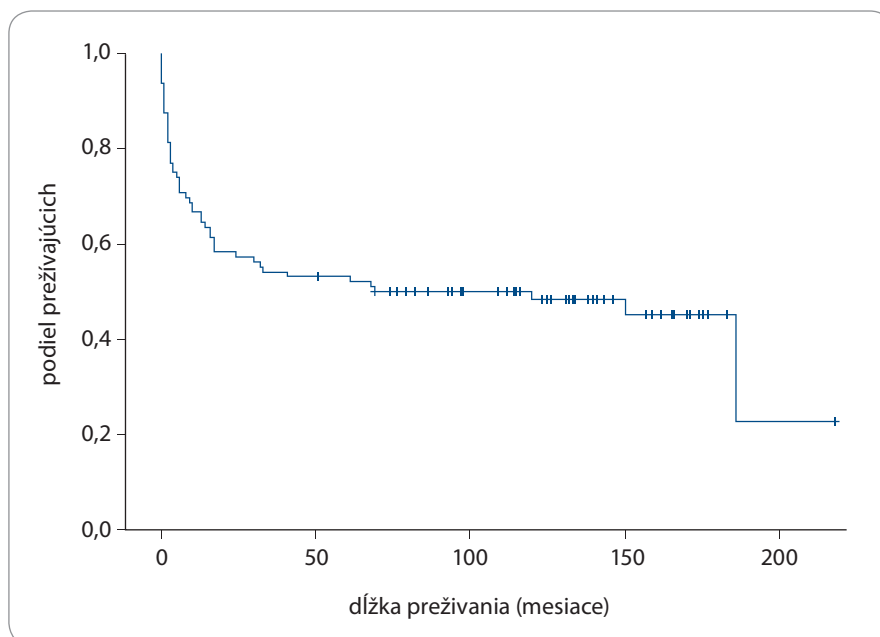
Faktory štatisticky významne ovplyvňujúce vývoj GvHD

Žiadny zo sledovaných faktorov nemal na základe multivariačnej logistickej regresnej analýzy štatisticky významný vplyv na vývoj akútnej GvHD alebo chronickej GvHD, ani na GvHD celkovo.

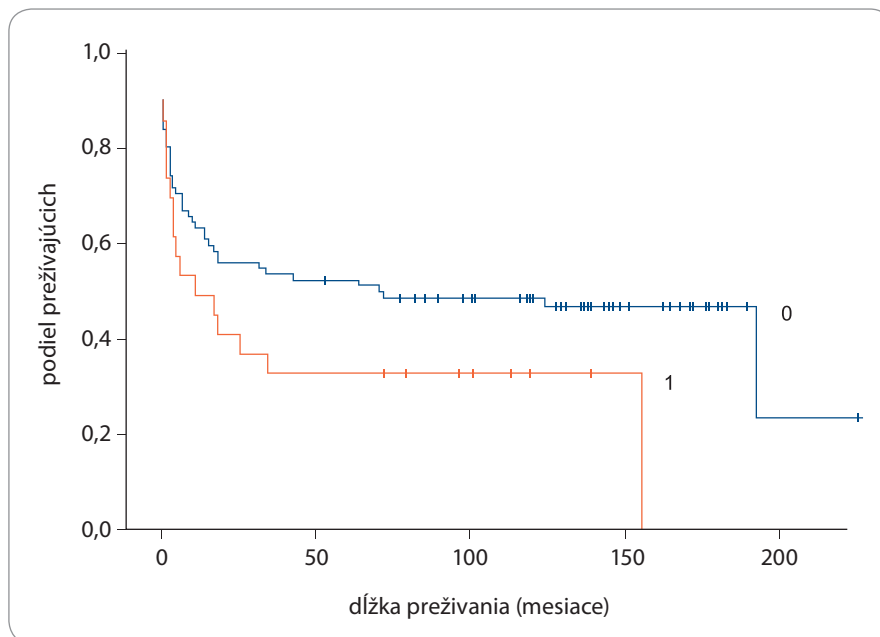
Diskusia

Cieľom našej retrospektívnej štúdie bolo analyzovať prežívanie pacientov po alloHSCT od HLA-identického súrodenca. Percento jedno- a dvojročného prežívania po alloHSCT v našom súbore bolo nižšie v porovnaní s výsledkami o niečo novšej štúdie, ktorá sledovala súbor s porovnateľnou veľkosťou a typom darcov [14]. Jedným z dôvodov môže byť skutočnosť, že v uvedenej štúdii boli ako zdroj krvotvorných buniek použité len bunky z periférnej krvi, kostná dreň nebola využitá. Viaceré práce uvádzajú lepšie výsledky alloHSCT pri použití periférnej krvi ako zdroja krvotvorných buniek v porovnaní s BM [5,15]. Ďalšie možné vysvetlenie, ktoré priamo súvisí s predchádzajúcim, môže spočívať v časovom období, kedy boli alloHSCT v štúdiách realizované. V našej práci sme začali sledovanie pacientov ešte pred rokom 2000, kým v štúdii, kde zaznamenali lepšie prežívanie, prebehli alloHSCT až po roku 2000 [14]. Nedávna veľká štúdia spoločnosti The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) z roku 2020 ukázala, že úmrtosť spojená s transplantáciou v posledných 40 rokoch významne klesá, pričom najvýraznejšie zlepšenie bolo zaznamenané práve okolo roku 2000 [3]. Výsledky naznačili, že hlavnými činiteľmi, ktoré viedli k zníženiu mortality, boli skôr pokroky v manažmente pacienta než jeho klinická charakteristika. K významným zmenám v manažmente pacienta patrí aj nahrádzanie kostnej drene ako zdroja krvotvorných buniek periférnou krvou [5]. Tento trend sme rovnako zaznamenali aj v našom súbore pacientov. Trojročné a päťročné prežívanie približne kopírovalo výsledky prác, kde sledovanie pacientov začalo ešte pred rokom 2000 [16,17], avšak analýzy publikované po roku 2000 vykazovali lepšie výsledky v porovnaní s našimi [18].

Ako uvádza Penack et al., početné pokroky v rôznych oblastiach spojených s alloHSCT pravdepodobne súhrnne prispeli k zlepšeniu jej výsledkov [3]. Dôležité sú zmeny v oblasti podpornej starostlivosti o pacienta. Práca na jednotkách intenzívnej medicíny sa výrazne zefektívnila a máme dostupné účinnejšie lieky na boj s infekciami [19–21]. Prí-



Graf 1. Celkové prežívanie pacientov po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek.

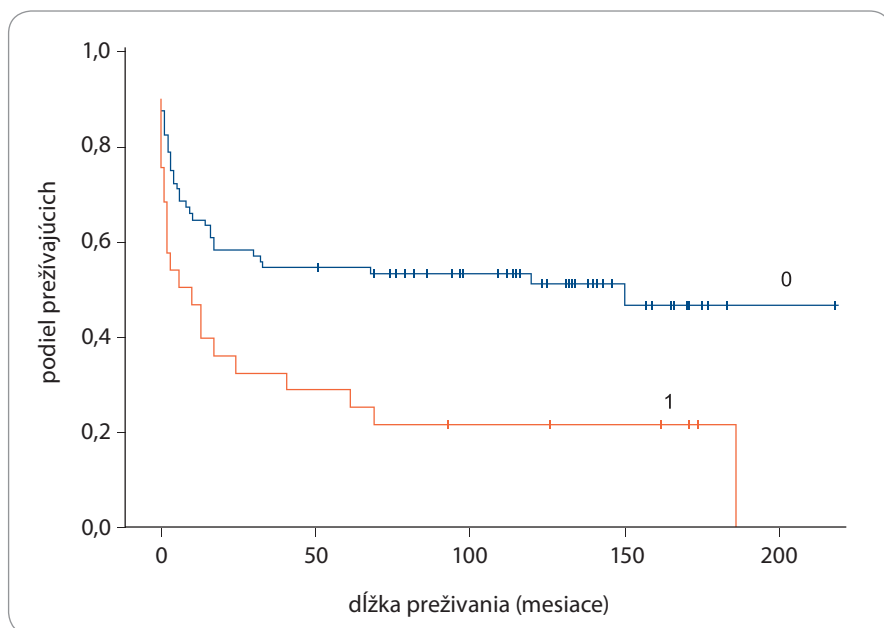


Graf 2. Celkové prežívanie pacientov po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek, porovnanie prípadov keď pacient bol muž a darca žena (1) vs. ostatné kombinácie (0).

pravý režim pred alloHSCT má nižší toxický účinok na jednotlivé orgány, pretože sa ustupuje od myeloablatívnej prípravy a celotelového ožiarenia je zväčša nahradené rôznymi typmi nemyeloablatívnej prípravy [22,23]. Ďalšou dôležitou oblasťou, kde nastali pokroky, je prevencia GvHD. Vo veľkej miere sa využíva *in vivo* odstraňovanie T-lymfocytov zo štepu pomocou anti-T-lymfocytárneho

globulínu (ATG). Viaceré analýzy ukázali jeho výrazný vplyv na zníženie výskytu chronickej GvHD [24].

V našom súbore sme najvyššiu úmrtosť zaznamenali z dôvodu GvHD a jej komplikácií, nasledoval relaps a napokon infekcie. V štúdii EBMT, kde darcami boli tiež HLA-identickí súrodenci, bola úmrtosť spôsobená najčastejšie relapsom, ďalej infekciami a potom



Graf 3. Celkové prežívanie pacientov po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek (alloHSCT), porovnanie alloHSCT do 1 roka od dg (0) vs. alloHSCT viac ako 1 rok od dg (1).

GvHD [3]. Vysoký podiel GvHD na úmrtnosti v našom súbore pacientov mohol byť spôsobený aj tým, že smrteľné infekcie vzniknuté na podklade GvHD sme zaradili do kategórie úmrtia na GvHD.

Vyšší výskyt závažnej chronickej GvHD u súrodeneckých alloHSCT v porovnaní s nepríbuzenskými alloHSCT pozorovali Remberger et al. [25]. Autori štúdie porovnávali dve skupiny pacientov s rôznymi stratégiami prevencie GvHD. Konkrétne, v prvej skupine, kde boli darcami HLA-identickí príbuzní, použili ako prevenciu GvHD len nízku koncentráciu cyklosporínu A. Druhá skupina pacientov mala HLA-zhodných nepríbuzných darcov a prevencia GvHD pozostávala z aplikácie ATG a vyššej koncentrácie CsA v priebehu dlhšieho času po alloHSCT v porovnaní s prvou skupinou. Dôvodom nižšieho výskytu chronickej GvHD v skupine s nepríbuznými darcami v porovnaní so súrodeneckými alloHSCT mohla byť aplikácia ATG. ATG použili preto, lebo očakávali zvýšené riziko vývoja GvHD. Druhým dôvodom mohla byť aj rozdielna dĺžka aplikácie imunosupresívnej liečby, kde pacienti s nepríbuznými darcami boli dlhšie v imunosuprimovanom stave (6 mesiacov) v porovnaní s pacientami, ktorých darcovia boli súrodenci (3 mesiace). Ďalej

v tejto práci zistili, že závažnosť chronickej GvHD negatívne ovplyvnila OS v skupine pacientov, ktorí mali darcov súrodencov. Kröger et al. v roku 2016 publikovali výsledky ďalšej štúdie, kde sa zaoberali vplyvom ATG na výskyt chronickej GvHD u súrodeneckých alloHSCT. Autori predpokladali, že zahrnutie ATG do myeloablatívnej prípravy pacientov s akútnou leukémiou by mohlo viesť k významnej redukcii vývoja chronickej GvHD do 2 rokov po alloHSCT od HLA-identických súrodencov. Pacienti boli náhodne rozdelení do dvoch skupín, pričom v jednej im ATG podali, v druhej nie. Po ukončení analýzy zistili, že pridanie ATG do prípravy pred alloHSCT viedlo k signifikantne nižšiemu výskytu chronickej GvHD po alloHSCT v porovnaní s výskytom chronickej GvHD v skupine bez ATG [24]. V našom súbore bol ATG použitý len vo veľmi malom počte alloHSCT (konkrétne 10). Na základe uvedených poznatkov o vplyve ATG na vývoj chronickej GvHD môžeme predpokladať, že na vyšší podiel chronickej GvHD na úmrtiach pozorovaných v našom súbore mohla mať vplyv menšia miera aplikácie ATG v prevencii GvHD.

Sekundárna malignita ako príčina smrti bola prítomná v našom súbore vo veľmi malom počte, čo je v súlade s vý-

sledkami veľkej retrospektívnej štúdie EBMT [3]. Časový interval, ktorý uplynie od stanovenia diagnózy po vykonanie alloHSCT je tiež zaradený v zozname faktorov, ktoré dokážu významne ovplyvniť výsledok alloHSCT a OS [26]. V jednotlivých prácach sa líši dĺžka tohto intervalu aj v závislosti od diagnózy. Napríklad v súbore pacientov s malígnou chorobou T-bunková leukémia/lymfóm dospelých (adult T-cell leukemia/lymphoma – ATLL) porovnávali OS po rozdelení pacientov na dve skupiny, prvú skupinu tvorili pacienti transplantovaní do 100 dní od stanovenia diagnózy a druhú skupinu po > 100 dňoch. Pomocou multivariačnej analýzy zistili, že alloHSCT vykonaná po > 100 dňoch od určenia diagnózy je štatisticky signifikantne nepriaznivý faktor pre celkové prežívanie pacientov [27]. Pre inú malígnu diagnózu, konkrétne akútnu myeloidnú leukémiu (cytogeneticky dokázanú vysoko rizikóvu formu) tiež zistili, že včasná alloHSCT ešte pred dosiahnutím kompletnej remisie môže výrazne zlepšiť prognózu pacientov, i keď uvedený postup nemožno považovať za štandardný terapeutický algoritmus [28]. V našej práci, kde mali pacienti rôzne hematologické diagnózy, malígne aj nemalígne, sme vyhodnocovali časový interval 1 rok od stanovenia diagnózy po alloHSCT. Rovnaký časový interval 1 rok si stanovili aj v inej retrospektívnej štúdií s podobným spektrom diagnóz, kde však nezistili signifikantný vplyv tohto faktora na OS [29]. Multivariačná Coxova regresná analýza nášho súboru naopak ukázala štatisticky signifikantný nepriaznivý vplyv na OS, ak sa alloHSCT realizovala > 1 rok od stanovenia diagnózy.

Vplyv veku pacienta aj darcu je dlhodobou skúmanou premennou pri hodnotení výsledku alloHSCT. Väčšina záverov takýchto analýz sa zhoduje v tom, že vek pacienta aj darcu významne ovplyvňuje úspešnosť alloHSCT. Súbory, kde boli mladší pacienti aj mladší darcovia, sa vyznačovali rýchlejšou obnovou trombocytov, zníženou úmrtnosťou v súvislosti s alloHSCT, nižším výskytom chronickej GvHD a lepším celkovým prežívaním [30–34]. Nie je celkom objasnené, prečo páry darca/príjemca s vyšším vekom majú horší výsledok alloHSCT.

Môže to byť spojené s vekom podmieneným útlmom krvotvorby a útlmom funkcie imunitného systému [35,36]. Dá sa tiež predpokladať, že krvotvorné kmeňové bunky starších pacientov majú určité vekom podmienené zmeny, ktoré vedú k redukcii efektu GvL (graft versus leukemia), jednému z faktorov liečby pomocou alloHSCT [37]. Na rozdiel od ho-reuvedených prác, Bastida et al. a rovnako aj naša multivariačná analýza nepotvrdili vek pacienta ako faktor štatisticky významne asociovaný s výsledkom alloHSCT. Bastida et al. však v súlade s množstvom podobných štúdií pozorovali, že pacienti s mladším nepríbuzným darcom majú lepšie celkové prežívanie ako pacienti, ktorých darca je starší príbuzný [7,38,39]. Naopak, iné pozorovanie popísali Alousi et al, kde alloHSCT so starším príbuzným darcom mali lepší výsledok v porovnaní s alloHSCT, kde bol mladší nepríbuzný darca [40].

Velkým praktickým prínosom v rámci adresnejšieho výberu darcov bola stratifikácia do rôznych vekových skupín. V našej práci sme pre malý celkový počet pacientov takéto delenie podľa veku pacienta alebo darcu nerealizovali. Platí, že dávka CD34⁺ buniek klesá s vekom páru darca/pacient (štatisticky významne je to pri darcovi vo veku < 40 rokov a pacientovi vo veku < 30 rokov v porovnaní s ostatnými párami darca/pacient), čo je spojené s pomalšou obnovou trombocytov po alloHSCT [41,42]. V súlade s týmito poznatkami sú aj závery Zhanga, ktorý zistil, že pacienti vo veku > 40 rokov, ktorých darcovia (HLA-identickí súrodenci) mali > 30 rokov, mali zvýšené riziko vývoja chronickej GvHD [14]. V inom skúmanom súbore, kde boli pacienti vo veku < 40 rokov zistili, že vek darcu nepatrí k faktorom so štatisticky významným vplyvom na výsledok alloHSCT [43].

Zhoda či nezhoda pohlavia darcu a príjemcu predstavuje ďalší faktor o ktorom je známe, že môže významne ovplyvniť výsledok transplantácie. Mužskí príjemcovia od ženy-darkyne, mali pomalšiu regeneráciu krvných doštičiek, vyššiu úmrtnosť v spojitosti s alloHSCT a vyšší výskyt GvHD. Podobné závery publikujú z viacerých transplantačných centier, vrátane našej analýzy, ale v literatúre môžeme nájsť aj iné výsledky [14,30–34,

44,45]. V našej práci sme zistili štatisticky významne skrátenej OS pri nezhode pohlaví, ak darcom bola žena a príjemcom muž. Táto asociácia sa zdá byť najsilnejšia vtedy, ak je darcom žena, ktorá rodila viackrát [34]. Tento efekt sa pripisuje imunitnej reakcii T-lymfocytov darkyne proti mužskému histokompatibilnému antigénu H-Y [46–50]. V práci Friedrich et al. uvádzajú, že ku vzniku imunitnej odpovede vrátane tvorby protilátok proti proteínom kódovaným na mužskom Y-chromozóme môže u niektorých žien dôjsť po sexuálnom kontakte. Takáto zvýšená imunitná odpoveď alebo tvorba protilátok sa zvyšuje s vekom žien [51]. Zvýšenú imunitnú reakciu pozorovali aj po aloimunizácii ženy darkyne predchádzajúcou transfúziou krvi [52].

Limitácie štúdie

Sme si vedomí viacerých limitov našej štúdie. Jedným z nich je relatívne malý počet analyzovaných párov darca-príjemca po alloHSCT. Ďalej sme do analýzy prežívania pacientov po alloHSCT nezradili viaceré známe premenné, ktoré majú potenciál významne ovplyvniť výsledok alloHSCT, ako napr. status cytomegalovírusu, fáza choroby pred alloHSCT a u žien-darkýň informácia o pôrodoch a aloimunizácii. Dôvodom bol predovšetkým obmedzený prístup ku všetkým informáciám o pacientoch a darcoch.

Sprístupnením alloHSCT ako liečebnej modality aj pre diagnózy alebo rizikové skupiny pacientov, ktoré ešte doneďva nemohli podstúpiť takúto terapiu, vzniká potreba adresnejšie predpovedať riziká a následne výsledok alloHSCT. V tejto súvislosti boli definované aj niektoré ďalšie predikčné faktory, napr. gény *KIR* (pre „killer cell immunoglobulin-like receptor“) či „hematopoietic cell transplantation specific comorbidity index“ (HCT-CI), alebo „EBMT risk score“ [53–55]. Výzvou do budúcnosti je snaha dosiahnuť ďalšie zlepšenie prežívania pacientov po alloHSCT. Zdá sa, že bude nutné spresniť transplantačné stratégie modifikované na základe rizikových faktorov, a to buď kombináciou už overených predikčných nástrojov alebo ich zlúčením s novými, založenými na molekulárnom testovaní alebo na algoritmoch umelej inteligencie [3].

Záver

V uvedenej práci sme analyzovali, ktoré faktory významne ovplyvnili celkové prežívanie a vývoj GvHD po alloHSCT v súbore pacientov, kde darcami boli HLA-identickí súrodenci. Potvrdili sme, že nezhoda pohlaví, ak darcom je žena a príjemcom muž, štatisticky významne negatívne ovplyvňuje celkové prežívanie po alloHSCT. Celkové prežívanie bolo v našom súbore rovnako významne skrátenej, ak bol interval od diagnózy po vykonanie alloHSCT > 1 rok. Individuálny prístup v procese výberu vhodného darcu, so zvážením všetkých známych rizík na strane pacienta aj darcu, má potenciál zlepšiť výsledok alloHSCT. Ďalšie znižovanie výskytu komplikácií a úmrtnosti si vyžaduje adresnú terapiu a vytvorenie algoritmov dlhodobej starostlivosti prispôbených individuálnym rizikovým faktorom pacienta.

Literatúra

1. Juric MK, Ghimire S, Ogonek J et al. Milestones of hematopoietic stem cell transplantation – from first human studies to current developments. *Front Immunol* 2016; 7: 470. doi: 10.3389/fimmu.2016.00470.
2. Abou-Mourad YR, Lau BC, Barnett MJ et al. Long-term outcome after allo-SCT: close follow-up on a large cohort treated with myeloablative regimens. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45(2): 295–302. doi: 10.1038/bmt.2009.128.
3. Penack O, Peczynski C, Mohty M et al. How much has allogeneic stem cell transplant-related mortality improved since the 1980s? A retrospective analysis from the EBMT. *Blood Adv* 2020; 4(24): 6283–6290. doi: 10.1182/bloodadvances.2020003418.
4. Fuerst D, Mueller C, Beelen DW et al. Time-dependent effects of clinical predictors in unrelated hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica* 2016; 101(2): 241–247. doi: 10.3324/haematol.2015.130401.
5. Amouzegar A, Dey BR, Spitzer TR. Peripheral blood or bone marrow stem cells? Practical considerations in hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Med Rev* 2019; 33(1): 43–50. doi: 10.1016/j.tmr.2018.11.003.
6. Grube M, Wolff D, Ahrens N et al. ABO blood group antigen mismatch has an impact on outcome after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Clin Transplant* 2016; 30(11): 1457–1465. doi: 10.1111/ctr.12840.
7. Bastida JM, Cabrero M, Lopez-Godino O et al. Influence of donor age in allogeneic stem cell transplant outcome in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 2015; 39(8): 828–834. doi: 10.1016/j.leukres.2015.05.003.
8. Lazaryan A, Weisdorf DJ, DeFor T et al. Risk factors for acute and chronic Graft-versus-Host disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation with umbilical cord blood and matched sibling donors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(1): 134–140. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.09.008.
9. Jagasia M, Arora M, Flowers ME et al. Risk factors for acute GVHD and survival after hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2012; 119(1): 296–307. doi: 10.1182/blood-2011-06-364265.
10. Shawkatová I, Bojtárová E, Kováčová M et al. Individual HLA alleles and risk of graft-versus-host disease

- after haematopoietic stem cell transplantation from HLA-identical siblings. *Biologia* 2020; 75(11): 2045–2052. doi: 10.2478/s11756-020-00510-1.
11. Olerup O, Zetterquist H. HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* 1992; 39(5): 225–235. doi: 10.1111/j.1399-0039.1992.tb01940.x.
 12. Glucksberg H, Storb R, Fefer A et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation* 1974; 18(4): 295–304. doi: 10.1097/00007890-197410000-00001.
 13. Shulman HM, Sullivan KM, Weiden PL et al. Chronic graft-versus-host syndrome in man. A long-term clinico-pathologic study of 20 Seattle patients. *Am J Med* 1980; 69(2): 204–217. doi: 10.1016/0002-9343(80)90380-0.
 14. Zhang H. Impact of donor and recipient characteristics on graft-versus-host disease and survival in HLA-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Transfus Apher Sci* 2020; 59(3): 102743. doi: 10.1016/j.transci.2020.102743.
 15. Young JH, Logan BR, Wu J et al. Infections after transplantation of bone marrow or peripheral blood stem cells from unrelated donors. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016; 22(2): 359–370. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.09.013.
 16. Shouval R, Fein JA, Labopin M et al. Outcomes of allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from HLA-matched and alternative donors: a European Society for Blood and Marrow Transplantation registry retrospective analysis. *Lancet Haematol* 2019; 6(11): e573–e584. doi: 10.1016/S2352-3026(19)30158-9.
 17. Wong FL, Teh JB, Atencio L et al. Conditional survival, cause-specific mortality, and risk factors of late mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Natl Cancer Inst* 2020; 112(11): 1153–1161. doi: 10.1093/jnci/djaa022.
 18. Karam E, Laporte J, Solomon SR et al. Who is a better donor for recipients of allogeneic hematopoietic cell transplantation: a young HLA-mismatched haploidentical relative or an older fully HLA-matched sibling or unrelated donor? *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(10): 2054–2060. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.05.031.
 19. Styczynski J, Tridello G, Koster L et al. Death after hematopoietic stem cell transplantation: changes over calendar year time, infections and associated factors. *Bone Marrow Transplant* 2020; 55(1): 126–136. doi: 10.1038/s41409-019-0624-z.
 20. Darmon M, Bourmaud A, Georges Q et al. Changes in critically ill cancer patients' short-term outcome over the last decades: results of systematic review with meta-analysis on individual data. *Intensive Care Med* 2019; 45(7): 977–987. doi: 10.1007/s00134-019-05653-7.
 21. Saillard C, Darmon M, Bisbal M et al. Critically ill allogeneic HSCT patients in the intensive care unit: a systematic review and meta-analysis of prognostic factors of mortality. *Bone Marrow Transplant* 2018; 53(10): 1233–1241. doi: 10.1038/s41409-018-0181-x.
 22. Kröger N, Iacobelli S, Franke GN et al. Dose-reduced versus standard conditioning followed by allogeneic stem-cell transplantation for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized phase III study of the EBMT (RICMAC trial). *J Clin Oncol* 2017; 35(19): 2157–2164. doi: 10.1200/JCO.2016.70.7349.
 23. Sengsayadeth S, Savani BN, Blaise D et al. Reduced intensity conditioning allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult acute myeloid leukemia in complete remission – a review from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Haematologica* 2015; 100(7): 859–869. doi: 10.3324/haematol.2015.123331.
 24. Kröger N, Solano C, Wolschke C et al. Antilymphocyte globulin for prevention of chronic Graft-versus-Host disease. *N Engl J Med* 2016; 374(1): 43–53. doi: 10.1056/NEJMoa1506002.
 25. Remberger M, Afram G, Sundin M et al. High incidence of severe chronic GvHD after HSCT with sibling donors. A single center analysis. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51(11): 1518–1521. doi: 10.1038/bmt.2016.159.
 26. Maziarz RT. Blood and marrow transplant handbook. Cham: Springer 2015.
 27. Fuji S, Fujiwara H, Nakano N et al. Early application of related SCT might improve clinical outcome in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51(2): 205–211. doi: 10.1038/bmt.2015.265.
 28. Stolzel F, Platzbecker U, Mohr B et al. Early intervention with allogeneic hematopoietic cell transplantation during chemotherapy-induced aplasia in patients with high-risk acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2013; 27(10): 2068–2072. doi: 10.1038/leu.2013.142.
 29. Krejčí M, Doubek M, Tomiška M et al. Dlouhodobé výsledky alogenních transplantací krvetvorných buněk u 533 pacientů: zkušenost jednoho centra. *Transfuzie Hematol Dnes* 2018; 24(4): 284–296.
 30. Kollman C, Howe CW, Anasetti C et al. Donor characteristics as risk factors in recipients after transplantation of bone marrow from unrelated donors: the effect of donor age. *Blood* 2001; 98(7): 2043–2051. doi: 10.1182/blood.v98.7.2043.
 31. Loren AW, Bunin GR, Boudreau C et al. Impact of donor and recipient sex and parity on outcomes of HLA-identical sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12(7): 758–769. doi: 10.1016/j.bbmt.2006.03.015.
 32. Eisner MD, August CS. Impact of donor and recipient characteristics on the development of acute and chronic graft-versus-host disease following pediatric bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15(5): 663–668.
 33. Weisdorf D, Hakke R, Blazar B et al. Risk factors for acute graft-versus-host disease in histocompatible donor bone marrow transplantation. *Transplantation* 1991; 51(6): 1197–1203. doi: 10.1097/00007890-199106000-00010.
 34. Wang Y, Wu DP, Liu QF et al. Donor and recipient age, gender and ABO incompatibility regardless of donor source: validated criteria for donor selection for haematopoietic transplants. *Leukemia* 2018; 32(2): 492–498. doi: 10.1038/leu.2017.199.
 35. Miller RA. The aging immune system: primer and prospectus. *Science* 1996; 273(5271): 70–74. doi: 10.1126/science.273.5271.70.
 36. Lipschitz DA, Udupa KB, Indelicato SR et al. Effect of age on second messenger generation in neutrophils. *Blood* 1991; 78(5): 1347–1354.
 37. Friedman JS, Alpdogan O, van den Brink MR et al. Increasing T-cell age reduces effector activity but preserves proliferative capacity in a murine allogeneic major histocompatibility complex-mismatched bone marrow transplant model. *Biol Blood Marrow Transplant* 2004; 10(7): 448–460. doi: 10.1016/j.bbmt.2004.03.005.
 38. Kröger N, Zabelina T, de Wreede L et al. Allogeneic stem-cell transplantation for older advanced MDS patients: improved survival with young unrelated donor in comparison with HLA-identical siblings. *Leukemia* 2013; 27(3): 604–609. doi: 10.1038/leu.2012.210.
 39. Mehta A, Gordon LI, Tallman MS et al. Does younger donor age affect the outcome of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hematologic malignancies beneficially? *Bone Marrow Transplant* 2006; 38(2): 95–100. doi: 10.1038/sj.bbmt.1705388.
 40. Alosi AM, Le-Rademacher J, Saliba RM et al. Who is better donor for older hematopoietic transplant recipients: an older-aged sibling or a young, matched unrelated volunteer? *Blood* 2013; 121(13): 2567–2573. doi: 10.1182/blood-2012-08-453860.
 41. Chang YJ, Xu LP, Liu DH et al. Platelet engraftment in patients with hematologic malignancies following un-
- manipulated haploidentical blood and marrow transplantation: effects of CD34+ cell dose and disease status. *Biol Blood Marrow Transplant* 2009; 15(5): 632–638. doi: 10.1016/j.bbmt.2009.02.001.
42. Wang YT, Zhao XY, Zhao XS et al. The impact of donor characteristics on the immune cell composition of mixture allografts of granulocyte-colony-stimulating factor-mobilized marrow harvests and peripheral blood harvests. *Transfusion* 2015; 55(12): 2874–2881. doi: 10.1111/trf.13251.
 43. Canaani J, Savani BN, Labopin M et al. Donor age determines outcome in acute leukemia patients over 40 undergoing haploidentical hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol* 2017; 93(2): 246–253. doi: 10.1002/ajh.24963.
 44. Kasamon YL, Luznik L, Leffell MS et al. Nonmyeloablative HLA-haploidentical bone marrow transplantation with high-dose posttransplantation cyclophosphamide: effect of HLA disparity on outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(4): 482–489. doi: 10.1016/j.bbmt.2009.11.011.
 45. Wang Y, Chang YJ, Xu LP et al. Who is the best donor for a related HLA haplotype-mismatched transplant? *Blood* 2014; 124(6): 843–850. doi: 10.1182/blood-2014-03-563130.
 46. Randolph SSB, Gooley TA, Warren EH et al. Female donors contribute to a selective graft-versus-leukemia effect in male recipients of HLA matched, related hematopoietic stem cell transplants. *Blood* 2004; 103(1): 347–352. doi: 10.1182/blood-2003-07-2603.
 47. Carlsen S, Rihgdén O, Remberger M et al. Risk factors for chronic graft-versus-host disease after bone marrow transplantation: a retrospective single-center analysis. *Bone Marrow Transplant* 1998; 22(8): 755–761. doi: 10.1038/sj.bbmt.1701423.
 48. Miklos DB, Kim HT, Miller KH et al. Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood* 2005; 105(7): 2973–2978. doi: 10.1182/blood-2004-09-3660.
 49. Nakasone H, Remberger M, Tian L et al. Risks and benefits of sex-mismatched hematopoietic cell transplantation differ by conditioning strategies. *Haematologica* 2015; 100(11): 1477–1485. doi: 10.3324/haematol.2015.125294.
 50. Nakasone H, Tian L, Sahaf B et al. Allogeneic H-Y antibodies detected 3 months after female-to-male HCT predict chronic GVHD and nonrelapse mortality in humans. *Blood* 2015; 125(20): 3193–3201. doi: 10.1182/blood-2014-11-613323.
 51. Friedrich P, Guerra-García P, Stetson A et al. Young female donors do not increase the risk of graft-versus-host disease or impact overall outcomes in pediatric HLA-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018; 24(1): 96–102. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.09.014.
 52. Sahaf B, Yang Y, Arai S et al. H-Y antigen-binding B cells develop in male recipients of female hematopoietic cells and associate with chronic graft vs. host disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(8): 3005–3010. doi: 10.1073/pnas.1222900110.
 53. Mansouri M, Villard J, Ramzi M et al. Impact of donor KIRs and recipient KIR/HLA class I combinations on GVHD in patients with acute leukemia after HLA-matched sibling HSCT. *Hum Immunol* 2020; 81(6): 285–292. doi: 10.1016/j.humimm.2020.03.004.
 54. Sorror ML, Maris MB, Storb R et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005; 106(8): 2912–2919. doi: 10.1182/blood-2005-05-2004.
 55. Gratwohl A. The EBMT risk score. *Bone Marrow Transplant* 2012; 47(6): 749–756. doi: 10.1038/bmt.2011.110.

Tailoring postoperative management through sentinel lymph node biopsy in low- and intermediate-risk endometrial cancer – the SENTRY clinical trial

Prizpůsobení pooperační léčby pomocí biopsie sentinelové lymfatické uzliny u karcinomu endometria s nízkým a středním rizikem – klinická studie SENTRY

Sorokin P.¹, Novozhilov M¹, Utkin D.¹, Abduragimova Z.¹, Dudina I.², Nikiforchin A.³, Kulikova S.¹

¹ Department of Gynecologic Oncology, Moscow City Oncology Hospital No. 62, Moskovskaya Oblast, Russian Federation

² Department of Medical Oncology, Moscow City Oncology Hospital No. 62, Moskovskaya Oblast, Russian Federation

³ Department of Surgical Oncology, Mercy Medical Center, Weinberg building, Baltimore, MD, USA

Summary

Background: While total hysterectomy and bilateral salpingo-oophorectomy without lymph node staging are standard for low- and intermediate-risk endometrial cancer, certain histopathologic factors revealed after surgery can necessitate additional interventions. Our study assessed the influence of sentinel lymph node biopsy on postoperative decision-making. **Materials and methods:** In the SENTRY trial (July 2021 – February 2023), we enrolled patients with International Federation of Gynaecology and Obstetrics (FIGO) stage IA–IB low-grade endometrioid endometrial cancer. Laparoscopic sentinel lymph node mapping using indocyanine green was performed alongside total hysterectomy with bilateral salpingo-oophorectomy. Subsequent management changes based on sentinel lymph node biopsy results were evaluated. The trial was registered at ClinicalTrials.gov (NCT04972682). **Results:** Of the 100 enrolled participants, a bilateral detection rate of 91% was observed with a median detection time of 10 min (interquartile range 8–13 min). Sentinel lymph node metastases were found in 8% (N = 8) of participants. Postoperative FIGO staging increased in 15% (N = 15) and decreased in 5% (N = 5) of patients. Sentinel lymph node biopsy results altered the adjuvant treatment plan for 20% (N = 20): external beam radiotherapy was omitted in 12% (N = 12) while 6% (N = 6) had external beam radiotherapy +/- systemic chemotherapy added due to sentinel lymph node metastases. In 2% (N = 2), the external beam radiotherapy field was expanded with the paraaortic region. No intraoperative complications were reported and no 30-day major morbidity and mortality occurred. Throughout a median follow-up of 14 (95% CI 12–15 months), neither patient-reported lymphedema nor pelvic recurrence surfaced in the cohort. **Conclusions:** Sentinel lymph node biopsy using indocyanine green is a safe procedure and allows tailoring adjuvant therapy in presumed low- and intermediate-risk endometrial cancer. It assists in avoiding external beam radiotherapy overtreatment and introducing additional modalities when necessary.

Key words

uterine cancer – sentinel lymph node – indocyanine green – radiotherapy – drug therapy – hysterectomy – adjuvant treatment – gynecological cancer

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

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

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

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



Pavel Sorokin, MD
Department of Gynecologic
Oncology
Moscow City Oncology Hospital
No. 62
Istra, 27, str. 1-30
Moskovskaya Oblast
Russian Federation 143515
e-mail: sor-pavel@ya.ru

Submitted/Obdrženo: 27. 12. 2023

Accepted/Přijato: 17. 1. 2024

doi: 10.48095/ccko2024126

Souhrn

Východiska: Zatímco totální hysterektomie a bilaterální salpingo-ooforektomie bez stagingu lymfatických uzlin jsou standardní pro karcinom endometria s nízkým a středním rizikem, určité histopatologické faktory odhalené po operaci mohou vyžadovat další intervence. Naše studie hodnotila vliv biopsie sentinelové lymfatické uzliny na pooperační rozhodování. **Materiál a metody:** Do studie SENTRY (červenec 2021 – únor 2023) jsme zařadili pacientky s nízkým stupněm endometrioidního karcinomu endometria ve stadiu FIGO IA–IB. Laparoskopické mapování sentinelových lymfatických uzlin pomocí indocyaninové zeleně bylo provedeno spolu s totální hysterektomií s bilaterální salpingo-ooforektomií. Byly hodnoceny následné změny managementu na základě výsledků biopsie sentinelové lymfatické uzliny. Studie byla registrována na ClinicalTrials.gov (NCT04972682). **Výsledky:** Z celkového počtu 100 účastnic studie byla bilaterální detekce pozorována u 91 % pacientek při střední době detekce 10 min (mezikvartilové rozmezí 8–13 min). Metastázy sentinelové lymfatické uzliny byly nalezeny u 8 % (n = 8) účastníků. Pooperační FIGO staging se zvýšil u 15 % (n = 15) a snížil u 5 % (n = 5) pacientek. Výsledky biopsie sentinelové lymfatické uzliny změnily plán adjuvantní léčby u 20 % (n = 20): zevní radioterapie byla vynechána ve 12 % (n = 12), zatímco u 6 % (n = 6) byla přidána zevní radioterapie +/- systémová chemoterapie v důsledku metastáz sentinelových lymfatických uzlin. U 2 % (n = 2) bylo pole zevní radioterapie rozšířeno o paraaortální oblast. Nebyly hlášeny žádné pooperační komplikace a nebyla zaznamenána vyšší 30denní morbidita ani mortalita. Během střední doby sledování 14 měsíců (95% interval spolehlivosti 12–15 měsíců) se v souboru nevyskytly lymfedémy ani pánevní recidivy hlášené pacientkami. **Závěr:** Biopsie sentinelové lymfatické uzliny pomocí indocyaninové zeleně je bezpečný postup a umožňuje přizpůsobení adjuvantní terapie u předpokládaného karcinomu endometria s nízkým a středním rizikem. Pomáhá vyhnout se přeléčení externí radioterapií a v případech potřeby zavést další modalitu.

Klíčová slova

karcinom dělohy – sentinelová lymfatická uzlina – indocyaninová zeleň – radioterapie – léková terapie – hysterektomie – adjuvantní léčba – gynekologická rakovina

Introduction

Endometrial cancer stands as the predominant gynecologic malignancy [1]. A significant proportion of patients are diagnosed with presumed stage I low-grade endometrioid carcinoma warranting the primary treatment of total hysterectomy accompanied by bilateral salpingo-oophorectomy (BSO) [2,3]. Decisions regarding the necessity for lymph node staging derive from various factors: tumor type, depth of myometrial invasion, and cervical stroma involvement. However, a prevalent challenge remains the inconsistency between preoperative risk estimations and the final pathology report. Notably, the status of lymphovascular space invasion (LVSI), a critical determinant of postoperative risk, remains predominantly elusive pre-surgery. Daix et al. documented a 37% underestimation rate in preoperative risk assessments accompanied by an overestimation in 10% of cases [4]. Historically, to bridge this knowledge gap and inform adjuvant therapy decisions, systematic lymph node dissection (LND) was employed. Yet, given the low likelihood of lymph node metastases and the potential for significant postoperative morbidity, there is a consensus against systematic LND for patients in the low- and intermediate-risk categories [2]. This has been further bolstered by two randomized controlled trials that

demonstrated no therapeutic advantage of incorporating systematic pelvic LND alongside total hysterectomy [5,6].

Building on this, contemporary international guidelines advocate for the sentinel lymph node (SLN) biopsy, especially for cases with presumed uterine-confined disease that fall within the low- to intermediate-risk spectrum [3,7]. Several prospective studies have validated the superior accuracy of the SLN biopsy relative to systematic LND [8,9]. In addition, the SLN biopsy method has been shown to detect a greater number of metastases compared to traditional lymphadenectomy whilst simultaneously reducing postoperative complications [10,11]. Given these advantages, a pertinent question arises: how can insights from the SLN biopsy guide adjuvant treatment decisions? Determined to answer this question, we launched a prospective study to evaluate the influence of SLN biopsy on the postoperative management of patients with presumed low- and intermediate-risk endometrial cancer, who, based on prevailing local guidelines, would typically undergo only a total hysterectomy and BSO without any lymph node evaluation [12].

Materials and methods

Study design and settings

The SENTRY study was a prospective open-label single-arm clinical trial

aimed at evaluating the influence of SLN biopsy on postoperative management in patients with presumed low- and intermediate-risk endometrial cancer. The study was conducted within the Departments of Gynecologic Oncology, Pathology, and Medical Oncology at the high-volume oncology center – Moscow City Oncology Hospital No. 62 (Istra, Moskovskaya Oblast, Russian Federation) between July 2021 and November 2023.

Ethics

The study secured ethical approval from the Institutional Review Board and was executed in adherence to the Helsinki Declaration of 1964 and its subsequent amendments [13]. All relevant details were disclosed to patients with each providing written informed consent before undergoing any procedure. Registration for the SENTRY trial occurred on ClinicalTrials.gov in July 2021, prior to recruitment, under the registration number NCT04972682.

Participants

Patients qualified as low-risk if they presented with histologically confirmed low-grade (G1–G2) endometrioid adenocarcinoma of the endometrium, accompanied by less than half myometrial invasion as visualized on pelvic MRI (International Federation of Gynaecology and Obstetrics (FIGO) stage IA). The intermediate-

Tab. 1. Patient criteria.

Inclusion criteria	Exclusion Criteria
<ul style="list-style-type: none"> • age \geq18 years • histologically verified low-grade endometrioid adenocarcinoma of the endometrium (G1–G2) • FIGO stage IA • FIGO stage IB and II when LND is contraindicated • no contraindications for surgery • signed informed consent 	<ul style="list-style-type: none"> • age < 18 years • presence of tumor spread outside the corpus uteri • absence of tumor invasion into the myometrium • high-grade tumor (G3) • Bokhman type 2 tumor (e.g., clear cell adenocarcinoma, serous adenocarcinoma, carcinosarcoma, endometrial stromal sarcoma) • preoperative treatment of endometrial cancer including radiotherapy, systemic chemotherapy, or hormone therapy • prior pelvic or retroperitoneal LND • history of surgeries on the uterus and uterine appendages, with exceptions such as cesarean section, tubectomy, oophorectomy, ovarian resection, ovarian biopsy, and ovarian cauterization • allergy to iodine-containing drugs • contraindications to surgical treatment • lack of signed informed consent

FIGO – International Federation of Gynaecology and Obstetrics, G – grade, LND – lymph node dissection

-risk category encompassed those with a verified low-grade endometrioid adenocarcinoma of the endometrium that exhibited more than a half of myometrial invasion without any extension beyond the uterus (FIGO stage IB). While the European Society of Gynecologic Oncology (ESGO) guidelines classified patients with stage IA high-grade endometrioid adenocarcinoma of the endometrium as intermediate-risk, these individuals were excluded due to the considerable molecular heterogeneity within this group [3]. Table 1 offers a comprehensive breakdown of the inclusion and exclusion criteria. Preoperative staging predominantly utilized pelvic MRI and contrast-enhanced CT of the thoracic and abdominal regions. When MRI was contraindicated, transvaginal ultrasounds were employed. To ensure proficiency with a technique new to us, patient enrollment for the study commenced only after our institution had gained experience from conducting the first 30 cases of SLN mapping and biopsy, in line with recommendations for this procedure [11].

SLN mapping, biopsy, and pathology assessment

Eligible patients were subjected to a laparoscopic SLN biopsy, succeeded by

a laparoscopic total hysterectomy and BSO. Both procedures were executed by one of five experienced gynecologic oncologists. SLN mapping utilized indocyanine green (ICG) at a standard concentration of 2.5 mg/mL. We administered 1 mL of this diluted ICG into the cervix at the 3 and 9 o'clock positions (total dose – 5 mg) to a depth of 5–10 mm, initiated right after general anesthesia induction [14]. Diagnostic laparoscopy and a thorough examination of the abdomen and pelvis employed the Image 1S equipment (KARL STORZ®, Tuttlingen, Germany; the brand names are used for clarity, not endorsement). Upon examination, fluorescence in the near-infrared spectrum was observed (Fig. 1). Successful mapping was indicated by identifying a lymphatic vessel with at least one lymph node. Detected SLNs were then extracted and the total hysterectomy with BSO was completed. While we did not routinely resort to a frozen section of SLN, its application remained at the surgeon's discretion. If metastasis surfaced in SLN either during the frozen section or routine assessment, the option for systematic LND in a subsequent procedure existed although not mandatory.

All surgical specimens underwent rigorous analysis by our dedicated team

of gynecologic oncology pathologists. Every SLN was dissected perpendicular to its longest axis, producing 2 mm slices after formalin fixation. Standard staining employed hematoxylin and eosin (Fig. 2). Immunohistochemical staining was exclusively used for ambiguous findings.

Adjuvant treatment and follow-up

Adjuvant care was aligned with ESGO and our national guidelines offering chemoradiotherapy, vaginal brachytherapy, and systemic chemotherapy as potential treatment options [3,12]. Each patient's postoperative case underwent two rounds of discussion on the tumor board – the initial review occurred prior to receiving the SLN biopsy results with the subsequent review post-receipt of these results.

Follow-up

In congruence with local endometrial cancer management guidelines, follow-up appointments with gynecologic oncologist encompassed physical examinations, chest X-rays, and abdominal and pelvic ultrasound [12]. Regular intervals were every 3 months for the first two years transitioning to biannual check-ups until the fifth year. How-

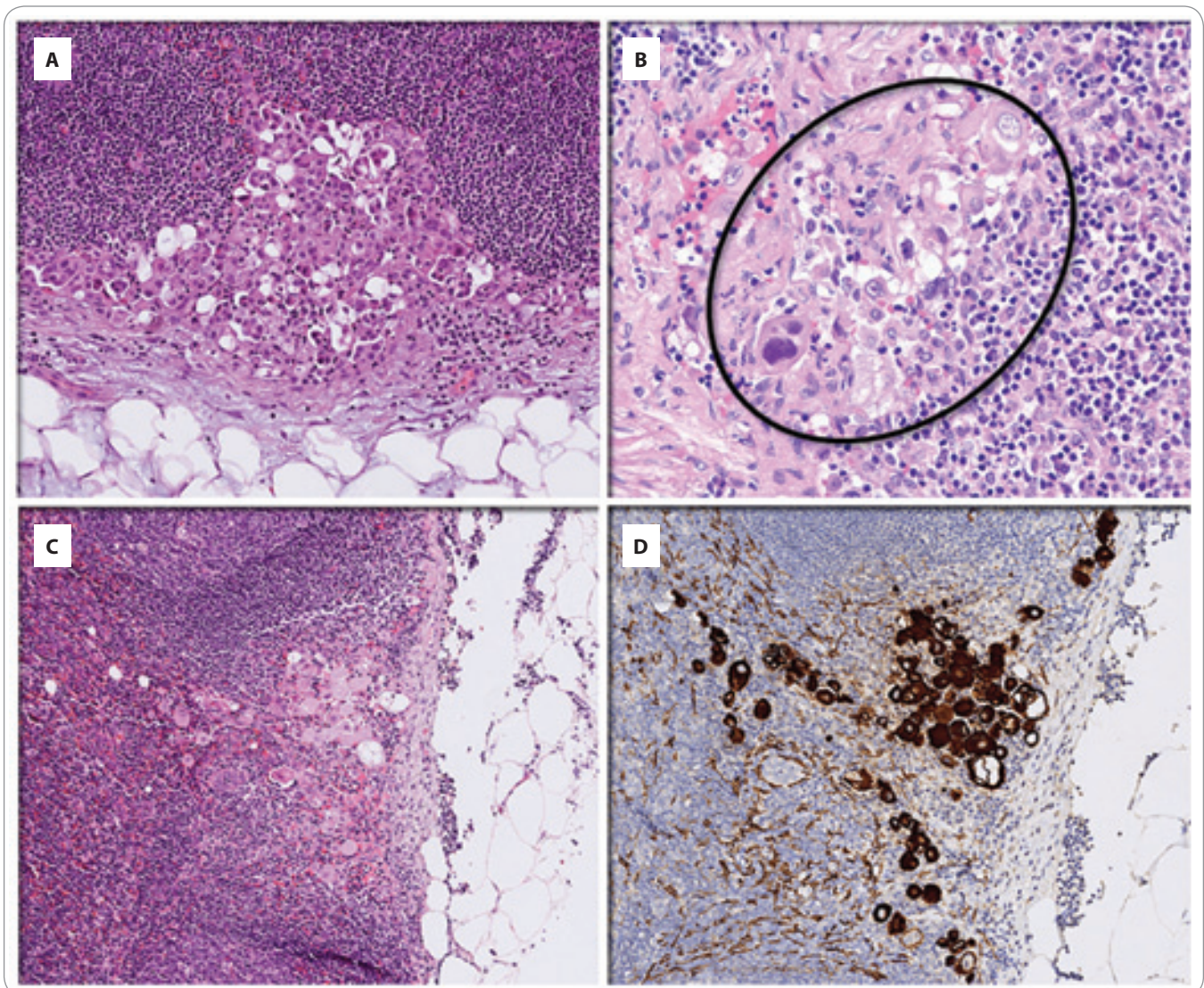


Fig. 1. SLNs with macro-metastases (A, C, D) and isolated tumor cells (B, encircled). Stained with conventional H&E (A–C) and pan-cytokeratin (D). Magnification: (A) $\times 10$, (B) $\times 40$, (C) $\times 10$, (D) $\times 10$. Slides (C) and (D) made from one specimen.

H&E – hematoxylin and eosin, SLNs – sentinel lymph nodes

ever, should symptoms emerge, patients were seen sooner.

Endpoints

The primary endpoint of our study centered on the influence of SLN biopsy on postoperative treatment decisions. We defined a change in treatment strategy as any difference between treatment plans set by the tumor board before and after receiving the SLN biopsy information.

Secondary endpoints encompassed: 1) adjustments in FIGO staging; 2) bilateral SLN detection; 3) intraoperative complications associated with SLN mapping and biopsy; 4) major postoperative

morbidity and mortality within 30 days following the procedure; 5) incidence of lymphedema, and 6) pelvic recurrence rate and associated time frame. To classify postoperative morbidity and mortality, we employed the Clavien-Dindo classification, with grades III–IV designated as major complications [15].

Data quality

Throughout the study, participating physicians meticulously documented all perioperative, pathology, and follow-up data in paper-based case report forms (CRFs). Subsequently, these details were digitized into our database. Before the

trial commencement and prior to patient enrollment, all involved physicians underwent comprehensive training on completing the CRFs. To ensure patient confidentiality, no personally identifiable information was recorded. Data quality control was the responsibility of a principal investigator.

Statistical analysis

Sample size determination was facilitated using IBM SPSS SamplePower software (Version 3.0; Armonk, NY: IBM Corporation; for identification purposes only). Based on our null hypothesis, we postulated that the integration of SLN

biopsy into the conventional care protocol (total hysterectomy with BSO) would result in treatment modifications for 10% of patients with presumed low- and intermediate-risk endometrial cancer. This estimation was influenced by existing data indicating a 9–11% prevalence of SLN metastases [16,17]. Further parameters incorporated into our calculations included an error margin of 6%, a type I error rate of 0.05, and a power of 0.8. Anticipating a potential 5% cohort attrition due to loss to follow-up, the derived sample size totaled 102 patients. Subsequent statistical evaluations were executed using IBM SPSS Statistics software for Windows (Version 23.0; Armonk, NY: IBM Corporation; brand names are used for clarity, not endorsement). The data were depicted with continuous variables being displayed as medians accompanied by the interquartile range (IQR) and categorical variables as proportions.

Results

Participants

From the SENTRY trial, 102 consecutive patients were enrolled. Due to equipment malfunctions during surgery, 2 patients were excluded, leading to 100 participants in the final analysis. Enrollment spanned from July 2021 to February 2023. The participants’ median age stood at 63 (IQR 57–69) years, with 44% (N = 44) aged 65 years or above (Tab. 2). A significant majority, 93% (N = 93), were postmenopausal. All patients had a preoperative confirmation of low-grade endometrioid adenocarcinoma categorized into presumed low risk (stage IA) at 74% (N = 74) and intermediate risk (stage IB) at 26% (N = 26).

SLN biopsy and surgery

The median time post-ICG injection to SLN detection was 10 (IQR 8–13) min (Tab. 2). SLNs were detected bilaterally in 91% (N = 91) of participants; 24% (N = 24) had their SLNs identified above the common iliac artery. For two patients under presumed intermediate risk, a pelvic LND was executed due to failed SLN detection even after re-administering ICG. Other patients were spared from systematic LND given the significant risk of postoperative compli-

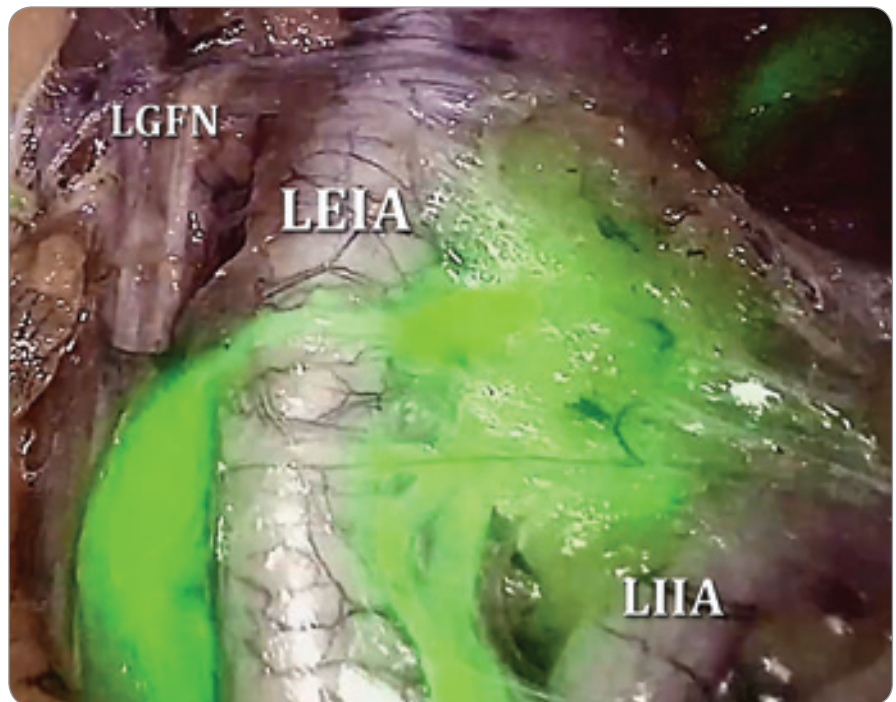


Fig. 2. Left external iliac SLN identified by near-infrared fluorescence after ICG injection into the cervix.

ICG – indocyanine green, LEIA – left external iliac artery, LGFN – left genitofemoral nerve, LIIA – left internal iliac artery, SLN – sentinel lymph node

Tab. 2. Patient and procedure characteristics.

Variables	Patients (N = 100)
age, years, median (IQR)	63 (57–69)
age ≥ 65 years, N (%)	44 (44)
postmenopause, N (%)	93 (93)
preoperative FIGO stage, N (%)	
IA	74 (74)
IB	26 (26)
time from ICG injection to SLN detection, min, median (IQR)	10 (8–13)
bilateral SLN detection, N (%)	91 (91)
SLN detection above CIA bifurcation, N (%)	24 (24)
systematic pelvic LND, N (%)	2 (2)
number of removed SLNs, median (IQR)	3 (2–4)
length of surgery, min, median (IQR)	100 (85–118)

CIA – common iliac artery, FIGO – International Federation of Gynaecology and Obstetrics, ICG – indocyanine green, IQR– interquartile range, LND – lymph node dissection, min – minutes, SLN – sentinel lymph node

cations of this procedure. Median number of removed SLNs was 3 (IQR 2–4) and the median surgery duration was 100 (IQR 85–118) min.

Patient outcomes

The process faced no intraoperative complications linked to the SLN mapping and biopsy (Tab. 3). Both 30-day

Tab. 3. Patient outcomes.

Variables	Patients (N = 100)
length of hospital stay, days, median (IQR)	7 (5–7)
intraoperative complications, N (%)	0 (0)
30-day major morbidity, N (%)	0 (0)
30-day mortality, N (%)	0 (0)
SLN metastases, N (%)	
macro-metastases	7 (7)
isolated tumor cells	1 (1)
LVSI (+), N (%)	15 (15)
postoperative FIGO stage, N (%)	
IA	71 (71)
IB	14 (14)
II	6 (6)
IIIA	1 (1)
IIIC	8 (8)
change of FIGO stage, N (%)	20 (20)
upstaging	15 (15)
downstaging	5 (5)
change of adjuvant treatment based on SLN status, N (%)	20 (20)
de-escalation	12 (12)
escalation	6 (6)
change of the radiation field	2 (2)
lymphedema, N (%)	0 (0)
pelvic recurrence, N (%)	0 (0)

FIGO – International Federation of Gynaecology and Obstetrics, IQR – interquartile range, LVSI – lymphovascular space invasion, min – minutes, SLN – sentinel lymph node

major morbidity and mortality rates were zero. The SLN metastasis rate was 8% (N = 8), with macro-metastases in 7% (N = 7) and isolated tumor cells (ITC) in 1% (N = 1). Notably, every case with a positive SLN had the metastatic lymph node in either the obturator or external iliac region. Metastatic SLNs in atypical locations (mostly presacral and rarely parametrial) never presented as a sole metastasis. Our cohort lacked any skip metastases in the para-aortic zone. LVSI(+) was observed in 15% (N = 15) of cases. Throughout a median follow-up of 14 months (95% CI 12–15), neither lymphedema nor pelvic recurrence surfaced in the cohort. The

last enrolled patient had a 9-month follow-up and no participants were lost to follow-up to date.

Change of adjuvant treatment

Post-pathology report, FIGO staging was adjusted for 20% (N = 20) of the patients: 15% (N = 15) underwent upstaging and 5% (N = 5) – downstaging (Tab. 3). SLN status altered the adjuvant treatment course for 20% (N = 20) of participants. SLN biopsy results enabled 12% (N = 12) of patients with LVSI(+) and cervical stroma involvement, but a negative SLN biopsy, to abstain from external beam radiotherapy (EBRT). On the other hand, 6% (N = 6) required adding adju-

vant treatment due to SLN metastases resulting in an administration of chemoradiotherapy combined with systemic chemotherapy. Without the SLN biopsy results, these patients would have been limited to observation or vaginal brachytherapy. For two specific cases with pT2 and pT3a and positive pelvic SLN, the radiation field was expanded to encompass the paraaortic region.

Discussion

The SENTRY trial evaluated the role of SLN biopsy in tailoring postoperative management for patients with presumed low- and intermediate-risk endometrial cancer. Our data demonstrated that this approachable and safe procedure influenced the adjuvant treatment decisions in every fifth patient. The majority of these changes led to the prevention of unnecessary EBRT. However, it is notable that 8% of our cohort had SLN metastases without other evident high-intermediate- or high-risk features. This led to an escalation in postoperative treatment to encompass EBRT with or without systemic chemotherapy. Of these, six patients lacked tumor features that would conventionally indicate the need for EBRT. With a bilateral SLN detection rate of 91%, our outcomes are consistent with other studies and align with the ESGO quality benchmarks [11,14,18,19].

While the ESGO guidelines promote ultrastaging for SLN pathology assessment, we chose not to adopt this protocol [3]. Firstly, the financial and time constraints posed significant challenges for a high-volume oncology center in a middle-income country that relies on government-funded healthcare with an annual expenditure equivalent to 6.3% of gross domestic product in 2021 [20,21]. Secondly, existing prospective data on the implications of low-volume metastases, when considering adjuvant treatment decisions, are inconclusive. In their retrospective analysis Plante et al. found comparable recurrence-free and overall survival rates between SLN-negative patients, those with micro-metastases, and patients with ITC [22]. Another study by Backes et al. indicated no association of adjuvant therapy with long-term prog-

nosis among 175 patients with ITC in stage I–II endometrioid endometrial cancer [23]. Ghoniem et al. highlighted micro-metastases as a standalone recurrence prognostic indicator in their multi-institutional retrospective analysis [24]. It is also worth noting that the prevailing evidence on adjuvant therapy efficacy, as demonstrated by the PORTEC III and GOG 258 trials, predominantly revolves around uterine and lymph node attributes [25,26]. In instances where lymph node evaluation was executed, it was predominantly via pelvic +/- para-aortic LND, thus inadvertently uncovering low-volume metastases on occasion. Our decision to sidestep ultrastaging could have potentially accounted for the lower SLN metastases incidence observed in our study relative to previous reports [27].

It is well-documented that there can be a discrepancy between pre- and postoperative tumor type and grade with reports suggesting it in up to 40% of cases [28]. Yet in the SENTRY trial, such discrepancies were notably absent. The unwavering uniformity of histologic type and grade can possibly be attributed to the reviews conducted by pathologists specializing in gynecologic oncology. However, we must also consider the potential for confirmation bias to play a role. Our study predominantly encompassed patients diagnosed with low-grade endometrial cancer. While the intermediate-risk category does cover high-grade endometrioid tumors with limited myometrial invasion and non-endometrioid tumors without endometrial infiltration, we consciously excluded these patient groups. Given that neither ultrasound nor MRI offers absolute accuracy in ruling out deep myometrial invasion [29], the incorporation of these tumor types might have increased the upstaging rate as well as the cohort heterogeneity.

The ESGO and National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines emphasize that significant LVSI in cases of uterine-confined endometrioid cancer necessitates EBRT irrespective of lymph node metastases [3,7]. This advisory primarily derives from the PORTEC II findings, which presented superior pa-

tient outcomes with EBRT over vaginal brachytherapy [30]. However, it is essential to note that staging lymphadenectomy was an exclusion criterion and the observed diminished local recurrence in the EBRT cohort could be attributable to its efficacy against possible lymph node metastases. Given the high precision of SLN biopsy in discerning lymph node metastases, we sidestepped EBRT for patients exhibiting LVSI(+) but without lymph node involvement and other high-risk attributes mandating EBRT.

The consensus is that low- and intermediate-risk patient groups demonstrate a scant likelihood of lymph node metastases making the omission of EBRT feasible for unstaged individuals [3]. Periodically though, additional risk factors emerge post-uterus evaluation. We anticipated our trial would validate the redundancy of overtreatment. This was evident in 12% of patients, who post-operationally displayed heightened risk markers, predominantly cervical stroma invasion and LVSI(+). Nonetheless, SLN metastases were identified in 8% of our participants, and for 6% of them, it was the solitary determinant for adjuvant therapy. These findings do not correspond with the data of Burg et al., who observed a de-escalation in only 2% of their cases [17]. Their study accentuated that the primary impact of SLN biopsy, particularly in the assumed low- and intermediate-risk clusters, was the initiation of supplementary adjuvant treatment due to lymph node metastases.

While recent guidelines from ESGO and NCCN advocate for SLN biopsy even in patients perceived to be of low and intermediate risk, there are variations in local guidelines and clinical practices across different regions [12]. In countries and institutions where pelvic lymph node dissection remains a preference for these cohorts, SLN biopsy can serve as a valuable alternative to reduce the incidence of lower extremity lymphedema and other post-LND complications [31]. When total hysterectomy and BSO stand as the normative treatment, SLN biopsy offers the capability to calibrate postoperative treatments without escalating the risks of intra- and postoperative complications. Yet it is critical to

acknowledge that the current understanding of the SLN biopsy's long-term implications is largely anchored in retrospective analyses underscoring the pressing need for more prospective and randomized controlled trials.

The SENTRY trial has its share of limitations. To start with, our study is single-centered and does not encompass a parallel control arm. Introducing a control group with LND as a comparator intervention for the SLN biopsy arm was discounted given that lymphadenectomy is widely deemed excessive for patients with promising low-risk profiles. A cohort undergoing total hysterectomy and BSO without any lymph node evaluation would have illuminated the extent of overtreatment but remained opaque regarding undertreatment. Furthermore, certain factors like pT2 and LVSI(+) were not deemed decisive for EBRT, especially if N0 status was confirmed via SLN biopsy or pelvic LND. While this deviates from common practice, our approach was informed by the outcomes of PORTEC I and PORTEC II trials, which highlighted enhanced local control post-EBRT without any advancements in overall survival [30,32]. Another consideration is the relatively brief median follow-up period of 14 months in our trial constraining our ability to draw more conclusive remarks on lymphedema and pelvic recurrence rates – our assertions in this domain, hence, may lack finality. However, given that this is the inaugural prospective study on SLN biopsy within this patient subset in our country, we felt compelled to share our findings with our peers both domestically and internationally, particularly in institutions, where such an approach is not widely adopted. We remain committed to continued follow-up of our study participants and intend to release their long-term outcomes in subsequent publications.

Conclusions

The SENTRY trial demonstrates the potential of SLN biopsy as a valuable tool in the postoperative management of patients with presumed low- and intermediate-risk endometrial cancer. Our findings indicate that this safe procedure

results in significant alteration of the adjuvant treatment plans for a substantial proportion of patients, primarily avoiding overtreatment with EBRT. The SENTRY trial also underscores an unmet need for additional randomized controlled trials to confirm the long-term impacts of SLN biopsy and serves as a foundation for further exploration in this context, especially in regions, where it is not yet standard practice.

Funding Statement

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Availability of data and materials

The dataset used and analyzed during the current study is available from the corresponding author upon reasonable request.

References

- Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE et al. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin* 2022; 72(1): 7–33. doi: 10.3322/caac.21708.
- Colombo N, Creutzberg C, Amant F et al. ESMO-ESGO-ESTRO consensus conference on endometrial cancer: diagnosis, treatment and follow-up. *Radiother Oncol* 2015; 117(3): 559–581. doi: 10.1016/j.radonc.2015.11.013.
- Concin N, Matias-Guiu X, Vergote I et al. ESGO/ESTRO/ESP guidelines for the management of patients with endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2021; 31(1): 12–39. doi: 10.1136/ijgc-2020-002230.
- Daix M, Angeles MA, Migliorelli F et al. Concordance between preoperative ESMO-ESGO-ESTRO risk classification and final histology in early-stage endometrial cancer. *J Gynecol Oncol* 2021; 32(4): e48. doi: 10.3802/jgo.2021.32.e48.
- Kitchener H, Swart AM, Qian Q et al. Efficacy of systematic pelvic lymphadenectomy in endometrial cancer (MRC ASTEC trial): a randomised study. *Lancet* 2009; 373(9658): 125–136. doi: 10.1016/S0140-6736(08)1766-3.
- Benedetti Panici P, Basile S, Maneschi F et al. Systematic pelvic lymphadenectomy vs. no lymphadenectomy in early-stage endometrial carcinoma: randomized clinical trial. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(23): 1707–1716. doi: 10.1093/jnci/djn397.
- Abu-Rustum N, Yashar C, Arend R et al. Uterine neoplasms, version 1.2023, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Cancer Netw* 2023; 21(2): 181–209. doi: 10.6004/jnccn.2023.0006.
- Ballester M, Dubernard G, Lécuru F et al. Detection rate and diagnostic accuracy of sentinel-node biopsy in early stage endometrial cancer: a prospective multicentre study (SENTI-ENDO). *Lancet Oncol* 2011; 12(5): 469–476. doi: 10.1016/S1470-2045(11)70070-5.
- Rossi EC, Kowalski LD, Scalici J et al. A comparison of sentinel lymph node biopsy to lymphadenectomy for endometrial cancer staging (FIRES trial): a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol* 2017; 18(3): 384–392. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30068-2.
- Burg LC, Hengeveld EM, In't Hout J et al. Ultrastaging methods of sentinel lymph nodes in endometrial cancer – a systematic review. *Int J Gynecol Cancer* 2021; 31(5): 744–753. doi: 10.1136/ijgc-2020-001964.
- Khoury-Collado F, Glaser GE, Zivanovic O et al. Improving sentinel lymph node detection rates in endometrial cancer: how many cases are needed? *Gynecol Oncol* 2009; 115(3): 453–455. doi: 10.1016/j.ygyno.2009.08.026.
- Nechushkina VM, Kolomiets LA, Kravets OA et al. Practical recommendations for drug treatment of uterine cancer and uterine sarcomas. *Malignant Tumors* 2020; 10(3s2–1): 242–256.
- Shrestha B, Dunn L. The declaration of Helsinki on medical research involving human subjects: a review of seventh revision. *J Nepal Health Res Council* 2020; 17(4): 548–552. doi: 10.33314/jnhrc.v17i4.1042.
- Persson J, Salehi S, Bollino M et al. Pelvic sentinel lymph node detection in high-risk endometrial cancer (SHREC-trial) – the final step towards a paradigm shift in surgical staging. *Eur J Cancer* 2019; 116: 77–85. doi: 10.1016/j.ejca.2019.04.025.
- Dindo D, Demartines N, Clavien PA. Classification of surgical complications: a new proposal with evaluation in a cohort of 6336 patients and results of a survey. *Ann Surg* 2004; 240(2): 205–213. doi: 10.1097/01.sla.0000133083.54934.ae.
- Chi DS, Barakat RR, Palayekar MJ et al. The incidence of pelvic lymph node metastasis by FIGO staging for patients with adequately surgically staged endometrial adenocarcinoma of endometrioid histology. *Int J Gynecol Cancer* 2008; 18(2): 269–273. doi: 10.1111/j.1525-1438.2007.00996.x.
- Burg LC, Kruitwagen R, de Jong A et al. Sentinel lymph node mapping in presumed low- and intermediate-risk endometrial cancer management (SLIM): a multicenter, prospective cohort study in the Netherlands. *Cancers* 2022; 15(1): 271. doi: 10.3390/cancers15010271.
- Concin N, Planchamp F, Abu-Rustum NR et al. European Society of Gynaecological Oncology quality indicators for the surgical treatment of endometrial carcinoma. *Int J Gynecol Cancer* 2021; 31(12): 1508–1529. doi: 10.1136/ijgc-2021-003178.
- Abu-Rustum NR. Update on sentinel node mapping in uterine cancer: 10-year experience at Memorial Sloan-Kettering Cancer Center. *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40(2): 327–334. doi: 10.1111/jog.12227.
- The World Bank Open Data. [online]. Available from: <https://data.worldbank.org/country/russian-federation?view=chart>. Accessed 15.12.2023.
- Klepach AN, Luk'yanenko RF. Healthcare in Russia: macroeconomic parameters and structural issues. *Stud Russ Econ Dev* 2023; 34(2): 207–220. doi: 10.1134/S1075700723020065.
- Plante M, Stanleigh J, Renaud MC et al. Isolated tumor cells identified by sentinel lymph node mapping in endometrial cancer: does adjuvant treatment matter? *Gynecol Oncol* 2017; 146(2): 240–246. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.05.024.
- Backes FJ, Felix AS, Plante M et al. Sentinel lymph node (SLN) isolated tumor cells (ITCs) in otherwise stage I/II endometrioid endometrial cancer: to treat or not to treat? *Gynecol Oncol* 2021; 161(2): 347–352. doi: 10.1016/j.ygyno.2021.02.017.
- Ghoniem K, Larish AM, Dinoi G et al. Oncologic outcomes of endometrial cancer in patients with low-volume metastasis in the sentinel lymph nodes: an international multi-institutional study. *Gynecol Oncol* 2021; 162(3): 590–598. doi: 10.1016/j.ygyno.2021.06.031.
- de Boer SM, Powell ME, Mileschkin L et al. Adjuvant chemoradiotherapy versus radiotherapy alone in women with high-risk endometrial cancer (PORTEC-3): patterns of recurrence and post-hoc survival analysis of a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2019; 20(9): 1273–1285. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30395-X.
- Matei D, Filiaci V, Randall ME et al. Adjuvant chemotherapy plus radiation for locally advanced endometrial cancer. *N Engl J Med* 2019; 380(24): 2317–2326. doi: 10.1056/NEJMoa1813181.
- Holloway RW, Gupta S, Stavitski NM et al. Sentinel lymph node mapping with staging lymphadenectomy for patients with endometrial cancer increases the detection of metastasis. *Gynecol Oncol* 2016; 141(2): 206–210. doi: 10.1016/j.ygyno.2016.02.018.
- Karateke A, Tug N, Cam C et al. Discrepancy of pre- and postoperative grades of patients with endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 2011; 32(3): 283–285.
- Alcázar JL, Gastón B, Navarro B et al. Transvaginal ultrasound versus magnetic resonance imaging for preoperative assessment of myometrial infiltration in patients with endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *J Gynecol Oncol* 2017; 28(6): e86. doi: 10.3802/jgo.2017.28.e86.
- Wortman BG, Creutzberg CL, Putter H et al. Ten-year results of the PORTEC-2 trial for high-intermediate risk endometrial carcinoma: improving patient selection for adjuvant therapy. *Br J Cancer* 2018; 119(9): 1067–1074. doi: 10.1038/s41416-018-0310-8.
- Glaser G, Dinoi G, Multinu F et al. Reduced lymphedema after sentinel lymph node biopsy versus lymphadenectomy for endometrial cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2021; 31(1): 85–91. doi: 10.1136/ijgc-2020-001924.
- Creutzberg CL, Nout RA, Lybeert ML et al. Fifteen-year radiotherapy outcomes of the randomized PORTEC-1 trial for endometrial carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 81(4): e631–e638. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.04.013.

Tebentafusp v léčbě metastatického uveálního melanomu – první pacientka léčená v České republice

Tebentafusp in the treatment of metastatic uveal melanoma – the first patient treated in the Czech Republic

Klabusay M.¹, Bábková B.²

¹ Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Oční klinika LF UP a FN Olomouc

Souhrn

Východiska: Uveální melanom je velmi vzácným nádorem, který asi v polovině případů metastazuje. V případě rozvoje metastatického onemocnění je jeho prognóza krajně nepříznivá a medián přežití nepřesahuje 6 měsíců. Možnosti účinné léčby byly doposud velmi limitované. Tebentafusp je bispecifickým fúzním proteinem, který jako první prokázal účinnost u uveálního melanomu. **Případ:** Pacientka odeslaná pro suspektní melanom levého oka byla dříve léčena pro Hodgkinovu nemoc. Primárně byl nádor ošetřen radiochirurgicky s radioterapií drobného ložiska obratlového těla. Následně však pacientka musela podstoupit enukleaci bulbu s nálezem rozsáhlého tumoru pT4b. PET/CT prokázala metastázy skeletu a jater, zároveň byl prokázán haplotyp A*02:01. Pacientka absolvovala radioterapii sternu a následně – po schválení léku na základě žádosti na §16 – zahájila léčbu preparátem tebentafusp. Lék byl v prvních třech dávkách podáván za hospitalizace s nutností léčby cytokine release syndromu kortikosteroidy. Následně probíhala aplikace týdně ambulantní formou bez komplikací krom tranzitorní elevace transamináz. První restaging CT po 3 měsících prokázala stabilní nemoc, zatímco druhé restaging CT prokázala novou osteolytickou lézi ve výběžku Th11. Z důvodu progresu byla léčba tebentafusem po 6 měsících ukončena. Ložisko bohužel nebylo možno ošetřit radioterapií. Po 2 měsících byla pacientka urgentně hospitalizována pro pravostrannou hemiplegii a MR prokázala prokrváčené metastatické ložisko v mozковém kmeni. **Závěr:** V této kazuistice popisujeme případ první pacientky léčené tímto lékem v ČR.

Klíčová slova

uveální melanom – léčba – tebentafusp

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

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

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

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



prof. MUDr. Martin Klabusay, Ph.D.

Onkologická klinika

LF UP a FN Olomouc

Zdravotníků 248/7

779 00 Olomouc

e-mail: martin.klabusay@fnol.cz

Obdrženo/Submitted: 27. 1. 2024

Přijato/Accepted: 5. 3. 2024

doi: 10.48095/ccko2024134

Summary

Background: Uveal melanoma is a rare cancer, in which metastases occur in approximately one half of cases. In metastatic disease, the prognosis is unfavorable and the median of survival does not exceed 6 months. Effective treatment options were very limited up to date. Tebentafusp is a bispecific fusion protein, which as the first drug proved efficacy in uveal melanoma. **Case:** The patient was referred for suspected uveal melanoma of the left eye. She was treated for Hodgkin's disease in the past. Primarily, the tumor was treated by radiosurgery with radiotherapy of a small lesion of the vertebral body. However, later the patient had to undergo bulbus enucleation with confirmation of a large tumor category pT4b. PET/CT revealed metastases of the bones and the liver; simultaneously, haplotype A*02:01 was confirmed. The patient underwent radiotherapy of the sternum and later, after confirmation of payment from the health insurance company, she started treatment with tebentafusp. The first three doses were administered during admission to the hospital, with a need to treat cytokine release syndrome by corticosteroids. Later, the administration was performed in an out-patient regimen, without complications, except for a transient elevation of transaminases. The first CT restaging confirmed stable disease; however, the second restaging confirmed a new osteolytic lesion in the processus of Th11. Because of progression, the treatment with tebentafusp was withdrawn after 6 months. Unfortunately, the lesion could not be treated by radiotherapy. Two months later, the patient was urgently admitted to the hospital because of right-sided hemiplegia; MRI revealed bleeding metastatic lesion in the brain stem. **Conclusion:** In this case report, we present the case of the first patient treated with this drug in the Czech Republic.

Key words

uveal melanoma – treatment – tebentafusp

Úvod

Uveální melanom je nejčastějším primárním intraokulárním nádorem [1] a reprezentuje 85 % primárních očních malignit [2]. Incidence se pohybuje mezi 0,1–8,6 na 1 milion v závislosti na etnicitě, v USA 5,1 na 1 milion [2] (celosvětově kolem 6 500 případů za rok). Jeho incidence v Evropě a Severní Americe stoupá s rostoucí zeměpisnou šířkou, a je tedy paradoxně nepřímě úměrná intenzitě UV záření [1]. Přibližně polovina uveálních melanomů (52 %) vede ke vzdáleným metastázám [1]. Játra jsou nejčastějším místem jejich vzniku – ve > 90 % případů. Protože uveální melanom je vzácný, počet pacientů s metastatickým onemocněním je malý; proto bylo dosud provedeno jen velmi málo randomizovaných klinických studií [1]. Uveální melanom má velmi nízkou mutační nálož. Medián celkového přežití u neléčeného metastatického uveálního melanomu nepřesahuje 6 měsíců. Uveální melanom až na výjimky metastazuje výhradně hematogenně [1]. U 62 % pacientů dojde k diagnostice metastáz v prvních 5 letech po ošetření primárního tumoru. Bylo prokázáno, že uveální melanom do šíře 3,0 mm prakticky nemetastazuje. Většina melanomů je však léčena, když jsou > 9 mm [1].

Pro nemocné s oligometastatickým onemocněním může být přínosná lokoregionální léčba vč. chirurgické resekce, intraarteriální chemoterapie, chemoembolizace nebo izolované perfuze

jater; tato léčba může zlepšit kontrolu nemoci [2].

Tebentafusp je bispecifickým fúzním proteinem, který kombinuje doménu T-cell receptoru (TCR) s aktivující doménou efektorových buněk, anti-CD3 jednořetězcový variabilní fragment. TCR doména rozpozná peptid předkládaný HLA komplexem (v tomto případě gp100) a anti-CD3 doména přitáhne a aktivuje CD3⁺ T lymfocyty [3]. Tebentafusp je první protilátkou, která prokázala výhodu v přežití u kteréhokoliv solidního nádoru [3]. Aby byl tebentafusp účinný, pacient musí vykazovat HLA haplotyp A*02:01. Mezi hlavní nežádoucí účinky patří tzv. cytokine release syndrom (CRS) a kožní toxicita. CRS je definován rozvojem hypotenze, hypoxie a pyrexie. K rozvoji CRS dochází během prvních infuzí léku v 89 % případů, ve většině však jde pouze o stupeň 1–2 [3]. Kožní toxicita zahrnuje vyrážku, svědění a erytém, nejčastěji se objevující do několika dnů po podání léku. Elevace v testech jaterních funkcí se mohou objevit v souvislosti s účinkem léku.

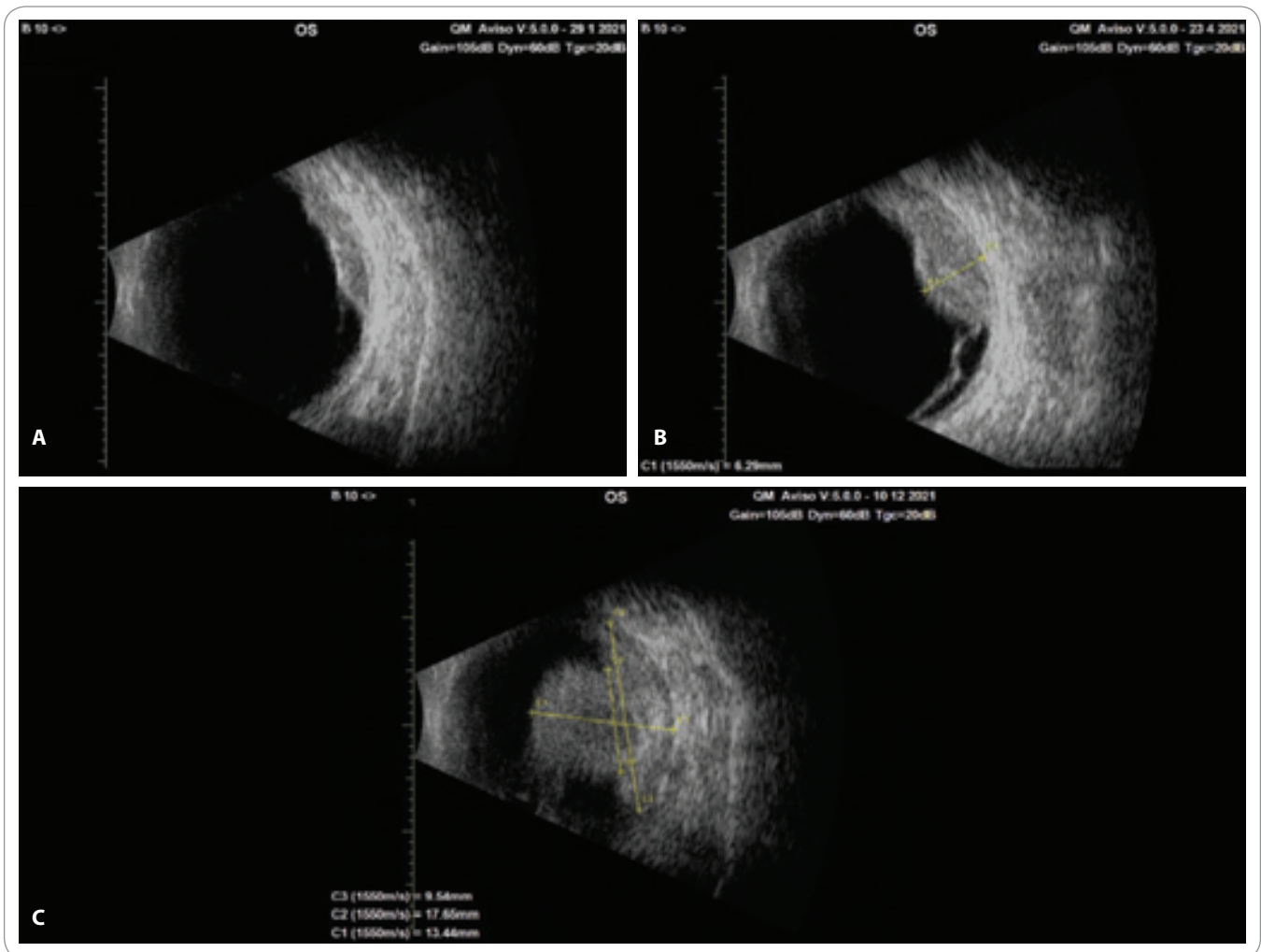
Alela HLA A*02:01 se vyskytuje přibližně u 45 % pacientů s uveálním melanomem v Evropě a ve Spojených státech. Klíčové výsledky klinické studie fáze III byly publikovány v New England Journal of Medicine v roce 2021. Tyto výsledky potvrdily významný benefit pro celkové přežití pacientů ve větvi tebentafusp u metastatického uveálního melanomu [4]. Americký úřad pro potraviny

a léčiva (FDA) tuto léčbu schválil 25. 1. 2022 a Evropská léková agentura (EMA) pak 1. 4. 2022.

Popis případu

Žena, ročník narození 1975, byla odeslána na Onkologickou kliniku FN Olomouc referujícím oftalmologem v dubnu 2021 pro suspektní melanom levého oka. Na ultrazvuku očního bulbu bylo dříve prokázáno prominující ložisko velikosti 10 × 2,5 mm (obr. 1a), na recentním ultrazvuku pak léze s bází 13,7 mm a prominencí 5,4 mm, tedy v progresi (obr. 1b). Pacientka udávala pálení a bolestivost levého oka, avšak bez zhoršení zraku. Žena v minulosti absolvovala léčbu Hodgkinova lymfomu typu nodulární sklerózy, klinického stadia IIA bulky, jež bylo diagnostikováno v květnu 2009. Podstoupila systémovou chemoterapii režimem BEACOPP, osm cyklů do listopadu 2009. Po ukončení léčby dosáhla kompletní remise CR1 dle PET. Dále se léčila s nezávažným bronchiálním astmatem, ekzémem dolních končetin a anxiodepresivním reaktivním syndromem. Klinicky vykazovala performance status ECOG 0, fyzikální vyšetření bylo v normě.

Pacientce byly provedeny odběry, vyšetřen krevní obraz, biochemie a marker S100b. Stagingové PET/CT vyšetření prokázalo ložisko levého očního bulbu 15 × 7 mm a drobné osteolytické ložisko v těle Th11 velikosti 5 mm, jehož histologická verifikace nebyla možná. Jako lokální řešení byla oftalmologem



Obr. 1. Ultrazvukové vyšetření očního bulbu, vývoj onemocnění v čase. A) nálezn 29. 1. 2021; B) nálezn 23. 4. 2021; C) nálezn 10. 12. 2021.

doporučena stereotaktická radiochirurgie (CyberKnife), která byla realizována v červenci 2021. Následně byla provedena radioterapie obratlového těla Th11 dávkou 20 Gy v pěti frakcích v září 2021. Dále byla dispenzarizována na Oční i Onkologické klinice FN Olomouc.

Pro progresi očního nálezu (obr. 1c) muselo být v lednu 2022 přistoupeno k enukleaci bulbu. Histologický nálezn prokázal struktury maligního melanomu zaujímající prakticky celý prostor sklivce, postihující cévnatku i řasnaté těleso, bazálního průměru > 18 mm a tloušťky 15 mm. Prorůstání do očního nervu ani přes sklěru prokázáno nebylo. Zastižena byla invaze tumoru v krevní cévě, tumor byl klasifikován jako pT4b. Kontrolní ultrazvuk jater neprokázal ložiskové změny, avšak vzhledem k vysokému riziku bylo indikováno kontrolní PET/CT

vyšetření v květnu 2022 (obr. 2), které potvrdilo mnohočetné metastázy do skeletu a pravděpodobnou metastázu jater. V červnu 2022 jsme následně provedli HLA typizaci s nálezem HLA A*02:01, *03. Tento nálezn otevřel možnost pro indikaci léčby lékem tebentafusp.

Tento lék v uvedené době neprošel lékovou komisí FN Olomouc a navíc nebyl nijak regulován Státním ústavem pro kontrolu léčiv. Podali jsme proto žádost o mimořádnou úhradu plátcí zdravotní péče na základě §16 a požádali o schválení lékovou komisí. V této době byla jedna dávka léku (podává se 68 µg 1× týdně) naceněna na částku 440 000 Kč. Roční léčba by tedy vycházela na částku 22 880 000 Kč, tj. asi 1 milion USD. Šlo tedy o finančně extrémně náročnou léčbu.

Protože bylo nutno čekat na schválení léčby pojišťovnou, zahájili jsme léčbu

paliativní radioterapií na metastázy skeletu, a to sternu, v dávce 30 Gy v 10 frakcích v červnu a červenci 2022. V srpnu 2022 jsme obdrželi schválení úhrady léku a zároveň objednali jeho dodání. S první aplikací léku jsme začali 1. 9. 2022.

Za hospitalizace po prehydrataci a premedikaci byla zahájena aplikace první dávky 20 µg tebentafuspu. K dispozici byl tocilizumab ke zvládnutí případného CRS. Pacientka byla kontinuálně monitorována, byl sledován krevní tlak, tepová frekvence, saturace O₂, teplota a bilance tekutin. Večer došlo k rozvoji otoku obličeje a exantému na hlavě, krku a horních končetinách, po podání 100 mg hydrokortisonu tyto potíže ustoupily. V průběhu noci však došlo k rozvoji hypotenze (TK 80/42 mm Hg), opět s otokem obličeje a exantémem. Za



Obr. 2. PET/CT, nález květen 2022. Šipky ukazují na mnohočetné metastázy sterna, C a Th páteře, žebra, pánve a jater.

volumové podpory byl podán bisulepin a methylprednisolon v dávce 2 mg/kg s postupnou normalizací krevního tlaku a ústupem otoku a exantému. Stav byl hodnocen jako CRS stupně 2 s nutností podání kortikosteroidů, avšak bez nutnosti podání tocilizumabu. Další dvě navyšující se dávky byly podány rovněž za hospitalizace a nežádoucí účinky byly zvládnuty za kontinuální hydratace a aplikace kortikosteroidů. Od čtvrté aplikace pacientka pokračovala v léčbě ambulantně, již bez nutnosti aplikace kortikosteroidů. Před aplikací a 4 hodiny po ní dostávala kontinuálně krystaloidy rychlostí 252 ml/h s monitorací krevního tlaku, tepové frekvence, teploty a saturace O₂. Nežádoucí účinky se omezily na exantém v obličejí. Před aplikací se hodnotil krevní obraz a biochemie, při prvních čtyřech aplikacích došlo k elevaci transamináz, ale zvýšení bylo pouze tranzitorní a samo ustoupilo.

CT restaging v listopadu 2022 byl bez progresu a pacientka pokračovala v aplikacích až do konce února 2023, kdy další CT prokázalo jedno nové osteolytické ložisko processus spinosi Th12. Dne 1. 3. 2023 byla léčba tebentafuspem ukon-

čena pro progresi onemocnění. Byla naplánována stereotaktická radioterapie ložiska, která však pro intimní vztah k míše a předchází radioterapii Th11 nemohla být realizována. Vzhledem k progresi jsme navrhli léčbu imunoterapií do druhé linie (ipilimumab + nivolumab) a podali žádost plátcí zdravotní péče na §16. V květnu 2023 však byla pacientka urgentně hospitalizována na neurologické klinice s pravostrannou hemiplegií. CT mozku prokázala intracerebrální krvácení do mozkového kmene a MR mozku potvrdila prokrvácené metastatické ložisko v kmeni vlevo velikosti 22 × 18 mm, se dvěma malými metastatickými ložisky v mozečkových hemisférách. Pacientka byla přeložena na Onkologickou kliniku FN Olomouc, kde postupně dochází ke zhoršení stavu vědomí přes antiedematózní léčbu a následně koncem května 2023 pacientka umírá.

Diskuze

Naše pacientka se léčila lékem tebentafusp téměř přesně 6 měsíců, což se jeví jako krátká doba, nicméně je nutno přihlédnout k biologickým charakteristikám tohoto nádoru. Dle našich zkušeností většina pacientů s uveálním melanomem po detekci metastáz zemře do 3 měsíců od jejich zjištění na rychlou progresi nemoci. Po confirmaci mnohočetných vzdálených metastáz pacientka přežila 1 rok. Z pohledu biologie nádoru se může zdát prodloužení přežití těchto nemocných na 1 rok jako velmi významný cíl.

Pacientka byla v minulosti léčena pro Hodgkinův lymfom, šlo u ní tedy u sekundární malignitu. Prognóza sekundárních nádorů je obecně významně horší než nádorů primárních a jejich léčba je podstatně obtížnější. U pacientky byla rovněž atypická predilekce metastáz do skeletu oproti typickému metastázování do jater. V současnosti nejsou k dispozici data, která by srovnávala účinnost tebentafuspu na metastázy skeletu a jater.

Dalším faktorem, který vstupuje do našeho hodnocení, je praktická limitace dosud používaných metod léčby metastatického onemocnění, které by měly prokázat účinnost. Na našem pra-

covišti jsme u pacientů s jaterními metastázami historicky často používali intraarteriální chemoterapii fotemustin. Chemoterapeutikum bylo selektivně aplikováno kanylou zavedenou do arteria hepatica, k čemuž bylo nutno pacientovi implantovat intraarteriální port. Bohužel nedostupností tohoto typu portů na trhu jsme nyní o tuto možnost léčby přišli. Jednou z mála dalších možností je použití imunoterapie, zejména kombinace protilátek anti-CTLA4 a anti-PD1 ipilimumabu a nivolumabu. Bohužel na rozdíl od kožního melanomu je účinnost imunoterapie u uveálního melanomu limitována a je účinná pouze u menší části nemocných. Některé zdravotní pojišťovny tuto léčbu odmítají hradit i na základě žádosti na §16. Tebentafusp je tak jediným novým lékem, který má u metastatického uveálního melanomu prokázanou významnou účinnost. Jako nadějně do budoucna se může jevit i podání sekvenční léčby tebentafuspem a imunoterapií. Byl popsán případ nemocného, u něhož po podání 11 dávek tebentafuspu došlo k progresi metastáz. Nicméně další linie léčby, tj. kombinovaná imunoterapie ipilimumabem a nivolumabem, vedla k velmi dobré parciální odpovědi se zmenšením metastáz [5].

Cena léčby preparátem tebentafusp je velmi vysoká, a patří tedy mezi vysoce nákladnou léčbu. Nárůst nákladů na léčbu zejména v onkologii není ničím novým. Používáme různé typy zejména cílené léčby monoklonálními protilátkami a molekulami, jejichž vývoj a testování jsou velmi nákladné. Přesto jsme zvyklí na částky spíše v řádu milionů než desítek milionů korun. Nicméně nové preparáty zejména z oblasti genové a celulární terapie tuto bariéru prolomily. Jmenujme např. preparát Zolgensma k léčbě spinální svalové atrofie nebo CART lymfocyty v léčbě hematologických malignit. Je předmětem budoucí veřejné diskuse, kolik peněz bude společnost ochotna za takto náročnou léčbu zaplatit. Nicméně v případě uveálního melanomu se jedná o velmi vzácné onemocnění a počet případů indikovaných k léčbě preparátem tebentafusp se bude v celé ČR pohybovat v jednotkách případů ročně. Nedá se tedy předpokládat, že by nějak vý-

znamně ohrozil rozpočty zdravotních pojišťoven. Navíc cena preparátu s jeho zavedením do čtenějšího používání poklesne, k čemuž ostatně již došlo.

Zejména v průběhu první aplikace léku je pacient ohrožen vznikem CRS. Z důvodu rozvoje život ohrožujícího CRS je důležité mít k dispozici podpůrný, adekvátně vyškolený klinický tým. Musí být zajištěna možnost intenzivní péče pro pacienta. Před a po podání léků musí být zajištěno kontinuální podávání i.v. kystaloidů v rámci volumové terapie. Důležitou úlohu při zvládnutí rozvoje komplikací CRS hrají kortikosteroidy. Z důvodu zmírnění účinků interleukinu 6 musí být k dispozici monoklonální protilátka tocilizumab.

Podle kritérií Americké společnosti pro transplantace a celulární terapii z roku 2019 je CRS stupně 1 definován jako horečka $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$, stupeň 2 horečka $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ s hypotenzí bez nutnosti podání vazopresoru a hypoxií vyžadující nízkoprůtokový O_2 , stupeň 3 horečka $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ s hypotenzí vyžadující vazopresor a hypoxií vyžadující vysokoprůtokový O_2 (tzv. high flow nasal oxygen) nebo kyslíkovou masku a stupeň 4 horečka $> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$ s hypotenzí vyžadující více vazopresorů a hypoxií vyžadující tzv. continuous positive airway pressure (CPAP), intubaci a mechanickou ventilaci [6]. Léčba pacientů je možná ve spe-

cializovaných centrech se zázemím jednotky intenzivní péče. Pacient musí být monitorován. K dispozici musí být monoklonální protilátka tocilizumab. Po třech aplikacích léku může být pacient léčen dále v ambulantním režimu. V tomto případě má být pacient monitorován 4 hodiny po podání léku. Tato doba může být následně zkrácena, pokud je další léčba dobře tolerována [6]. Pacienti by měli dostat prehydrataci v rámci profylaxe CRS. Antihypertenziva by měla být vynechána. Paracetamol může být podán profylakticky nebo při vzestupu teploty. V případě předchozího výskytu CRS stupně 2 je doporučena premedikace kortikosteroidy (dexamethason 4 mg nebo ekvivalent). Stupeň 1 je řešen symptomaticky. U stupně 2 mohou být podány kortikosteroidy (methylprednisolon 2 mg/kg). U stupně 3 má být preferenčně podán tocilizumab v dávce 8 mg/kg [6].

Závěr

V této kazuistice popisujeme případ první pacientky, která byla léčena pro metastatický uveální melanom lékem tebentafusp v ČR. Domníváme se, že i vzhledem ke vzácnosti této diagnózy bude do budoucna vhodně omezit podávání tohoto léku na komplexní onkologická centra, která mají odpovídající zázemí intenzivní péče a dostatek zkušeností s léčbou uveálního melanomu

i s aplikací této léčby. Ještě před přijetím tohoto rukopisu do tisku se objevila zpráva, že tebentafusp bude mít od 1. 4. 2024 standardní úhradu, a nebude tedy třeba žádat o povolení na §16, což významně usnadní jeho využití. Zároveň s tímto rozhodnutím došlo i k významnému snížení ceny léku.

Poděkování

Poděkování autorů patří všem spolupracovníkům Onkologické kliniky, Oční kliniky a lékárny FN Olomouc, díky jejichž práci mohla být naše pacientka léčena.

Literatura

1. Rantala ES, Hernberg MM, Piperno-Neumann S et al. Metastatic uveal melanoma: the final frontier. *Prog Retin Eye Res* 2020; 90: 101041. doi: 10.1016/j.preteyeres.2022.101041.
2. Chen LN, Carvajal RD. Tebentafusp for the treatment of HLA-A *02:01-positive adult patients with unresectable or metastatic uveal melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2022; 22(10): 1017–1027. doi: 10.1080/14737140.2022.2124971.
3. Howlett S, Carter TJ, Shaw HM et al. Tebentafusp: a first-in-class treatment for metastatic uveal melanoma. *Ther Adv Med Oncol* 2023, 15: 1–12. doi: 10.1177/17588359231160140.
4. Nathan P, Hassel JC, Rutkowski P et al. Overall survival benefit with tebentafusp in metastatic uveal melanoma. *N Engl J Med* 2021; 385(13): 1196–206. doi: 10.1056/NEJMoa2103485.
5. Reiter S, Schroeder C, Broche J et al. Successful treatment of metastatic uveal melanoma with ipilimumab and nivolumab after severe progression under tebentafusp: a case report. *Front Oncol* 2023; 13: 1167791. doi: 10.3389/fonc.2023.1167791.
6. Hassel JC, Berking C, Forscher A et al. Practical guidelines for the management of adverse events of the T cell engager bispecific tebentafusp. *Eur J Cancer* 2023; 191: 112986. doi: 10.1016/j.ejca.2023.112986.

Carcinoid syndrome with right-sided valve involvement – a case report and review of the literature

Postižení pravostranných srdečních chlopní u pacientky s karcinoidovým syndromem – kazuistika a přehled literatury

Šimková I.¹, Aiglová R.¹, Koubek F.¹, Přeček J.¹, Látal J.¹, Buriánková E.², Quinn L.², Henzlová L.², Táborský M.¹, Švébišová H.³, Tučková L.⁴, Melichar B.³

¹Department of Internal Medicine I – Cardiology, University Hospital Olomouc and the Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Czech Republic

²Department of Nuclear Medicine, University Hospital Olomouc and the Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Czech Republic

³Department of Oncology, University Hospital Olomouc and the Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Czech Republic

⁴Department of Clinical and Molecular Pathology, University Hospital Olomouc and the Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, Czech Republic

Summary

Background: The survival of patients with neuroendocrine tumors has substantially improved with modern treatment options. Although the associated carcinoid syndrome can be diagnosed early and controlled effectively, cardiologists still encounter patients with cardiac manifestations, particularly among individuals with persistently high levels of vasoactive mediators. Treatment options have been limited to surgical valve replacement in fully manifested disease. Since surgery is not always feasible, transcatheter valve implantation is becoming an interesting alternative. **Case:** A case of a 50-year-old woman with carcinoid syndrome and right-sided valvular heart disease is presented. Moderate pulmonary valve stenosis and severe tricuspid valve regurgitation were diagnosed during the evaluation and treatment of neuroendocrine tumor. The possibility of rare valve involvement and the need for interdisciplinary cooperation in the diagnosis, monitoring and treatment of patients with neuroendocrine tumors producing vasoactive substances must be emphasized. **Conclusion:** The patient had a typically presenting carcinoid syndrome with a rare cardiac manifestation. Although monitoring and treatment were carried out in accordance with recommendations and appropriate to the clinical condition, rapid progression of the metastatic disease ultimately precluded invasive cardiac intervention.

Key words

neuroendocrine tumor – malignant carcinoid syndrome – carcinoid heart disease – tricuspid valve insufficiency – pulmonary valve stenosis

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

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

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

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



Ivona Šimková, MD

Department of Internal Medicine I –
Cardiology
Zdravotníků 248/7
779 00 Olomouc
Czech Republic
e-mail: ivona.simkova@fnol.cz

Submitted/Obdrženo: 4. 12. 2023

Accepted/Přijato: 13. 2. 2024

doi: 10.48095/ccko2024139

Souhrn

Východiska: Přežití pacientů s neuroendokrinními nádory se výrazně zlepšilo s použitím moderní onkologické léčby. Asociovaný karcinoidový syndrom může být časně diagnostikován, přesto se stále můžeme setkat s jeho kardiální manifestací, zvláště pak u jedinců s přetrvávajícími vysokými hladinami vazoaktivních mediátorů. Léčebné možnosti u plně vyjádřeného kardiálního postižení bývaly limitovány na chirurgickou náhradu chlopní, která není vždy proveditelná. Transkatetrové chlopní intervence se proto stávají zajímavou alternativou k operačním metodám. **Případ:** Prezentujeme případ 50leté pacientky s karcinoidovým syndromem a postižením pravostranných srdečních chlopní. Během evaluace neuroendokrinního nádoru byla diagnostikována středně těžká pulmonální stenóza a těžká trikuspidální regurgitace. Detailně je popsáno vzácně se vyskytující chlopní postižení a zdůrazněna nutnost mezioborové spolupráce při diagnostice a léčbě neuroendokrinních tumorů s produkcí vazoaktivních substancí. **Závěr:** U pacientky byla vyjádřena velmi vzácná kardiální manifestace karcinoidového syndromu. Ačkoliv léčba byla vedena v souladu s platnými doporučeními a s ohledem na aktuální klinický stav, rychlá progresse metastatického onemocnění nakonec znemožnila zvažovanou invazivní chlopní intervenci.

Klíčová slova

neuroendokrinní nádor – maligní karcinoidový syndrom – karcinoidové srdeční onemocnění – trikuspidální insuficience – stenóza pulmonální chlopně

Introduction

Neuroendocrine tumors (NETs) occur sporadically or rarely in a familial form with the necessity of regular family screening [1]. Carcinoid heart disease (CHD) is a rare condition that may accompany NETs with carcinoid syndrome (CS). The symptoms characteristic of CS include chronic secretory diarrhea and skin flushing as well as bronchospasms or abdominal pain. These symptoms are caused by systemically increased levels of serotonin and/or other biologically active amines and peptides. In the case of cardiac involvement, fibrous deposits are formed on the valves and the endocardium. Right-sided heart valves are predominantly affected. The prevalence of CS in patients with NETs range of 19–35%, and CHD is present in approximately 20–50% of patients with CS. CHD remains the principal prognostic factor that reduces overall 3-year survival (31 vs. 69% in CHD vs. non-CHD patients, respectively) [2].

Case report

A 50-year-old woman was examined for dyspeptic syndrome consisting of diarrhea lasting 3 years. The patient had no major comorbidities and had never been seriously ill. She suffered from episodic flushing involving the face and upper chest. Physical examination revealed a loud systolic murmur.

The patient was examined by a gastroenterologist with negative findings. Endoscopy did not confirm any structural abnormalities. Initial laboratory test re-

sults were normal, including mineral and glucose concentrations, kidney and liver tests, blood count and coagulation test. Multiple liver metastases were shown by

ultrasound imaging; therefore, an abdominal computed tomography scan was performed. Disseminated malignant process was highly probable, so the

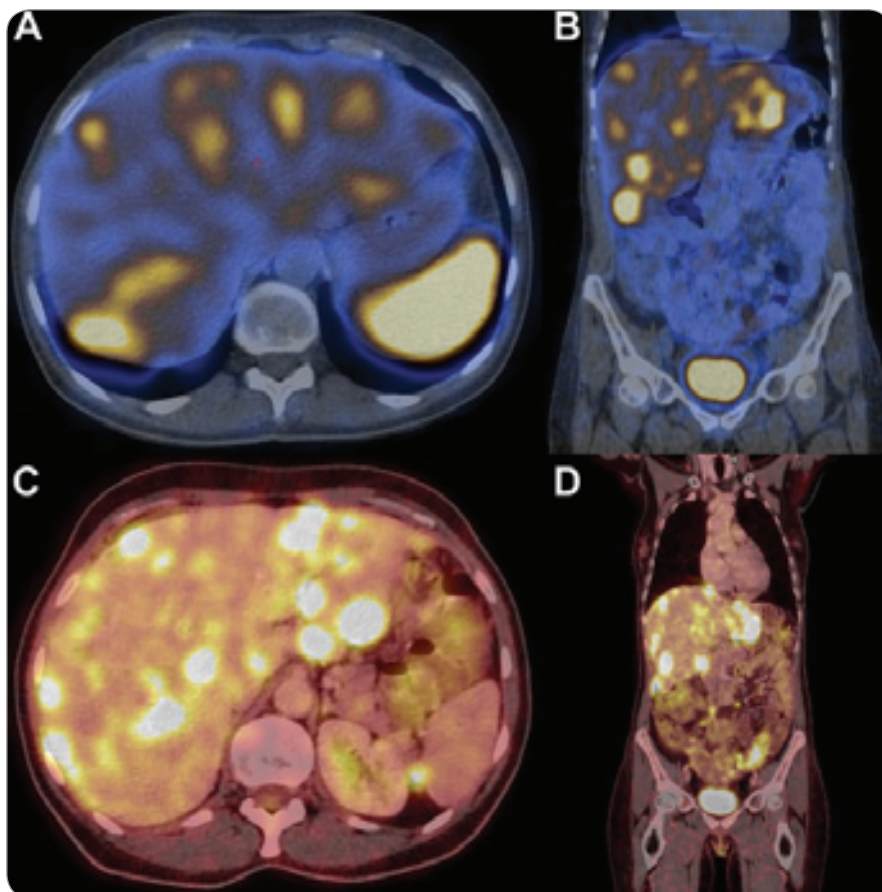


Fig. 1. SPECT/CT and PET/CT imaging. Multiple liver metastases of neuroendocrine tumor. A) Tektrotyd scan, transversal plane, SPECT/CT showing an intense Tektrotyd uptake in the liver metastases; B) Tektrotyd scan, coronal plane, SPECT/CT showing an intense Tektrotyd uptake in the liver metastases; C) PET/CT showing ^{18}F -fluorodeoxyglucose accumulation in the liver metastases, transversal plane; D) PET/CT showing ^{18}F -fluorodeoxyglucose accumulation in the liver metastases, coronal plane.

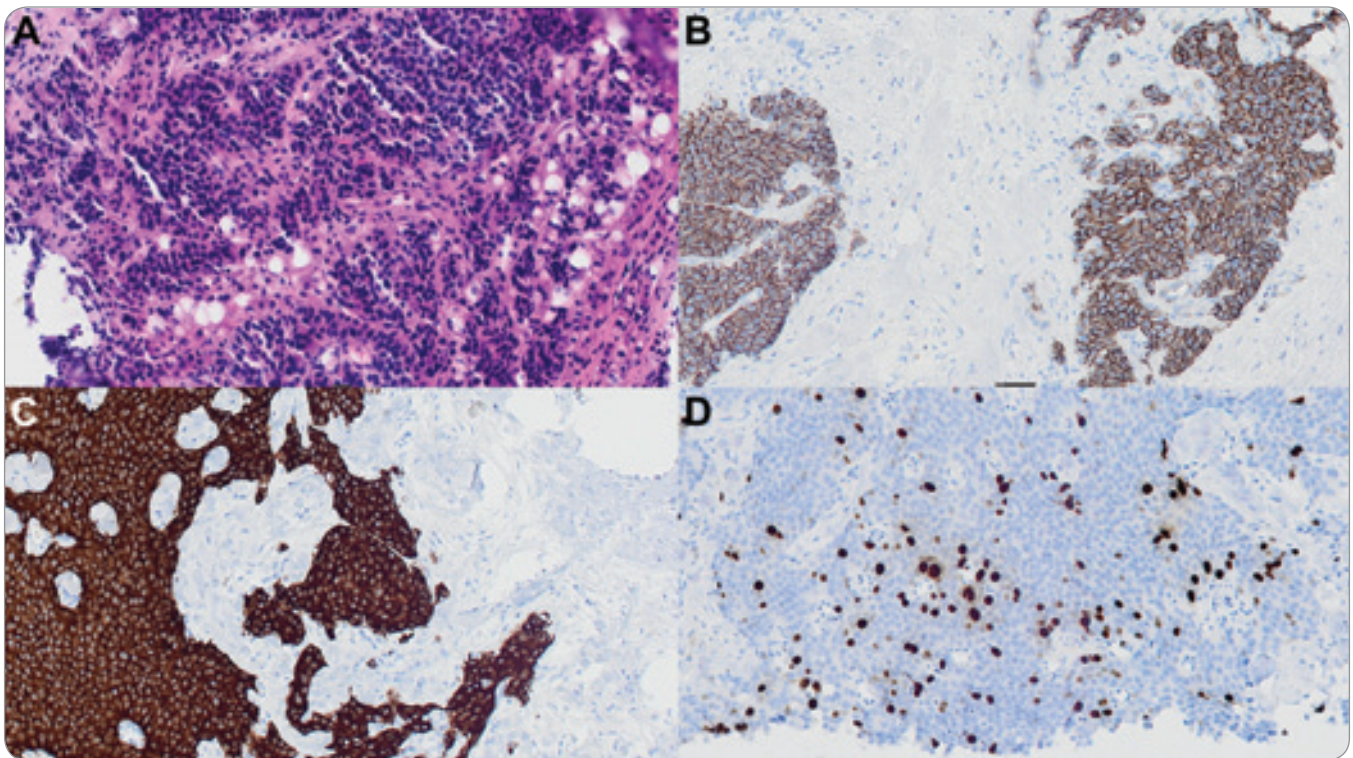


Fig. 2. The neuroendocrine tumor grade 2 in the liver biopsy. A) Hematoxylin-eosin staining; B) positive CD56 immunohistochemistry; C) positive synaptophysin immunohistochemistry; D) increased proliferation index Ki67.

next diagnostic step was PET/CT. Multiple lesions of ^{18}F -fluorodeoxyglucose uptake were detected by PET/CT imaging (Fig. 1).

Histologic and immunohistochemistry examinations were performed after successful CT-guided liver biopsy. The diagnosis of NET grade 2 was confirmed (Fig. 2). The serum chromogranin A level was significantly elevated. There was also a slight increase in serum neuron-specific enolase. Multiple lesions expressing somatostatin receptors were confirmed by Tektrotyd scintigraphy (Fig. 1). The primary site remained unclear, although the gastrointestinal tract was considered likely.

The patient was started on somatostatin analogs (SSAs); 120 mg of lanreotide was administered subcutaneously every 28 days. Even though natriuretic peptide levels were not increased, echocardiography was performed. Moderate pulmonary valve (PV) stenosis and moderate tricuspid valve (TV) regurgitation were revealed. There was no right ventricular (RV) dilatation or dysfunction (Fig. 3). The patient had no symptoms of

heart failure. A conservative approach with echocardiography follow-up was primarily decided by a multidisciplinary team consisting of a cardiologist, a cardiac surgeon, an anesthesiologist and a medical oncologist.

Six months later, the condition of the patient deteriorated rapidly. The patient had signs of fluid retention with lower limb edema, ascites, with progression to anasarca. Laboratory tests revealed kidney and liver dysfunction. The serum chromogranin A level increased significantly. PET/CT showed metastatic disease progression. Natriuretic peptide elevation was confirmed. Echocardiography demonstrated RV dilatation and diastolic D-shaped left ventricle. Severe TV regurgitation was noted. The TV leaflets were thickened with a significant coaptation defect (Fig. 4). Pulmonary stenosis remained moderate, and mild pulmonary, mitral and aortic regurgitation was also detected. Transesophageal echocardiography was planned for further valve evaluation and exclusion of right-to-left shunt, but the patient condition deteriorated rapidly, even-

tually leading to death. The patient died 8 months after the first evaluation of carcinoid heart disease, apparently due to the progression of metastatic disease with liver and renal dysfunction. The contribution of right-sided heart failure could not be excluded.

Discussion

The term carcinoid heart disease denotes cardiac manifestations in patients with CS who develop TV and PV regurgitation or stenosis, and commonly right-sided heart failure. In the presence of a right-to-left shunt, left-sided valves may be involved. Carcinoid syndrome occurs when the liver cannot inactivate vasoactive substances, as in the case of liver metastases. In 5% of cases, CS may develop without liver involvement if the vasoactive substances are released directly into the systemic circulation, as in ovarian NETs, retroperitoneal metastases, or lung NETs [3].

In the present patient, the PV and TV were simultaneously involved. Multiple liver metastases could deliver vasoactive substances directly into the systemic

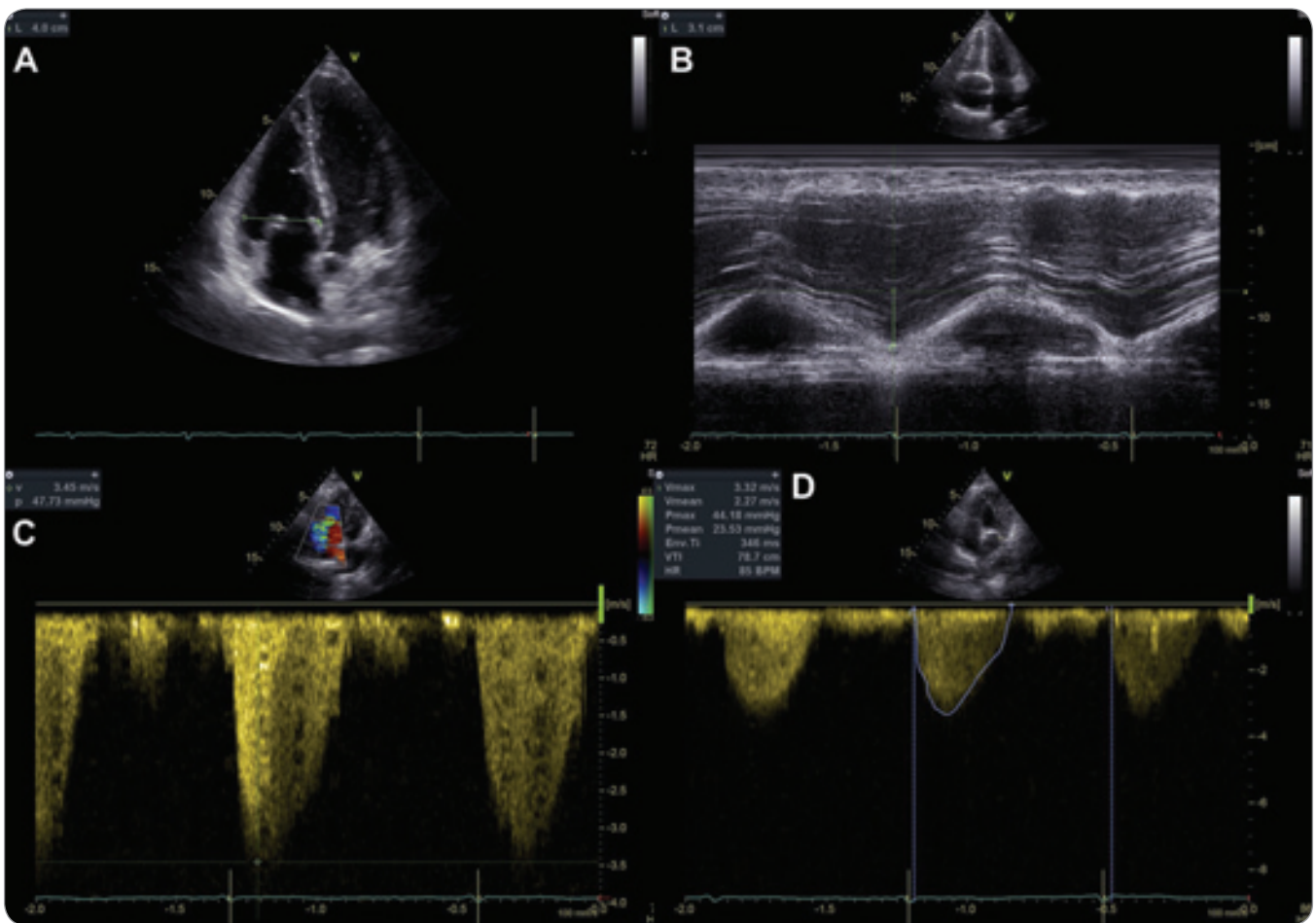


Fig. 3. Transthoracic echocardiography at baseline. A) Non-dilated right ventricle and atrium in the apical four-chamber view, the tricuspid valve with thickened and restricted leaflets; B) normal tricuspid annular plane systolic excursion; C) continuous wave Doppler profile of moderate tricuspid regurgitation; D) continuous wave Doppler profile of moderate pulmonary stenosis.

circulation. The patient suffered from CS for 3 years. High levels of vasoactive substances have damaged the endocardium long enough to develop valvular lesions.

It is important not to underestimate a careful physical examination and history. CS with cardiac involvement should be considered in the presence of diarrhea, flushing and heart murmur. Elevated natriuretic peptide levels may indicate possible cardiac involvement. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels should be optimally assessed every 6 months with a cut-off value of 260 pg/mL [3]. In the present case, natriuretic peptide levels were measured twice in 6 months, and only the second measurement showed an elevation. However, moderate TV regurgitation and PV stenosis were already present when the first sample was ob-

tained. Natriuretic peptides are elevated in heart failure syndrome when it may be too late for valve replacement. In all patients with CS, cardiac imaging should be considered on a regular basis.

Because of the availability and non-invasive nature, transthoracic echocardiography is the mainstay of diagnostic evaluation. Tricuspid valve involvement is the most common CHD manifestation [4]. The leaflets are diffusely thickened, retracted and fail to close in systole, leaving an often sizeable central gap. There is incomplete opening in diastole, limited leaflet mobility, and loss of leaflet pliability. These abnormalities lead to the development of severe TV regurgitation in full-fledged disease.

Although extremely rare, TV stenosis should also be looked for [5].

The morphological characteristics of the TV were consistent with primary car-

cinoid involvement in the patient, as was the coexistence of moderate PV stenosis. In the present case, the severity of TV insufficiency progressed over 6 months and right-sided heart failure manifestations developed. Right-sided heart dilatation occurred, but without RV dysfunction (Tab. 1). Rapid CHD worsening was associated with tumor progression. Kidney and liver dysfunction may have contributed to fluid retention and RV volume overload. Hydronephrosis was present in the terminal stage of the disease. The desmoplastic potential of serotonin induces retroperitoneal fibrosis and may be involved in the pathophysiology of hydronephrosis [6]; compression by metastases adjacent to the left kidney could also play a role. The progression of liver metastases apparently contributed to liver dysfunction. In contrast, heart failure could lead to im-

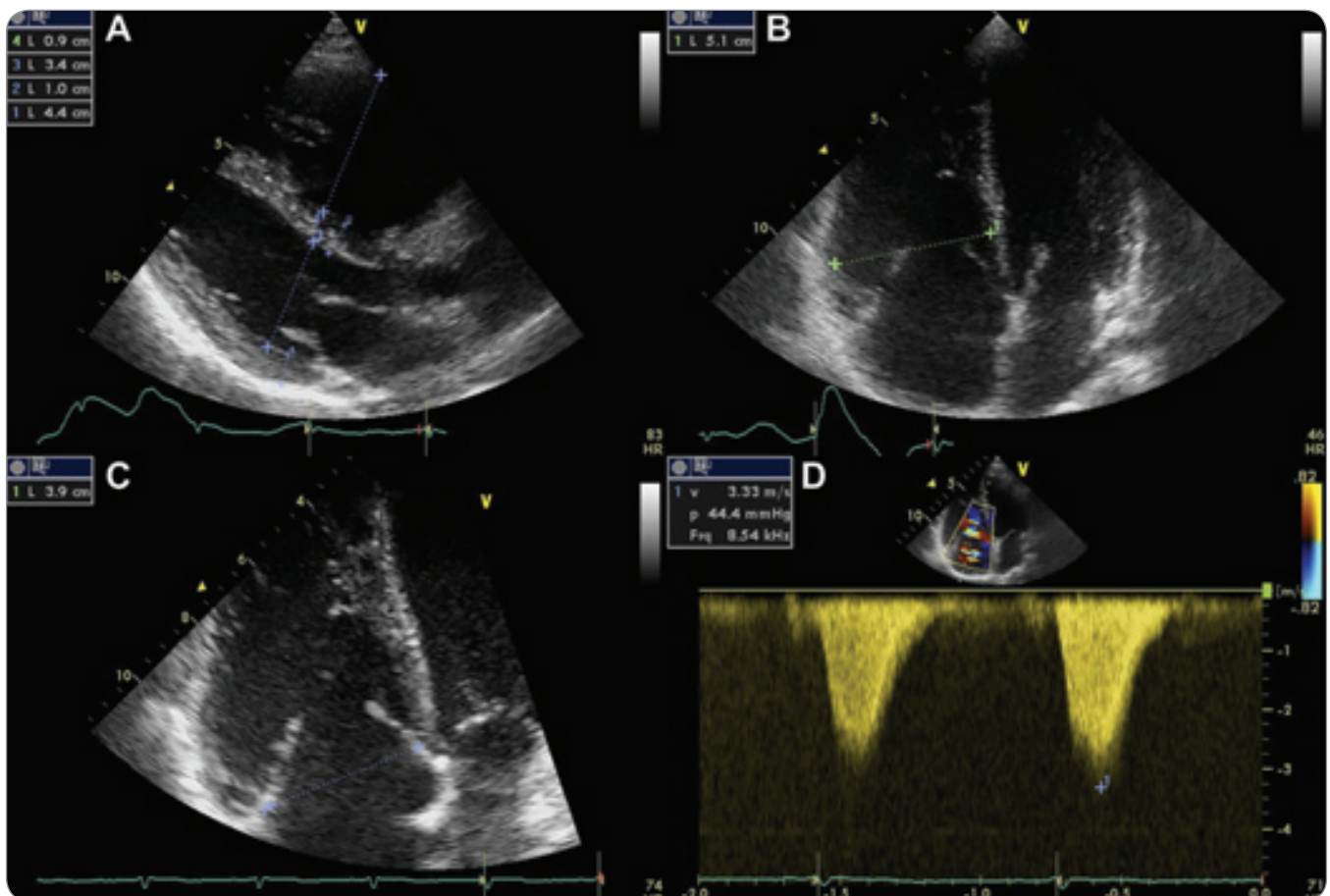


Fig. 4. Transthoracic echocardiography after six months. A) Dilated right ventricle in the parasternal long axis view; B) right ventricle and right atrium dilatation in the apical four-chamber view; C) thickened tricuspid valve leaflets, a large coaptation defect; D) continuous wave Doppler profile of severe tricuspid regurgitation. Characteristic dagger-shaped spectrum with early peak pressure and rapid decline.

paired renal perfusion and hepatic congestion. In this complex pathophysiological situation, the indication and timing of valve replacement should be determined by a multidisciplinary team.

The reported incidence of CHD has decreased as the use of SSAs has increased [6]. The present patient was treated with SSAs, which can reduce hormone secretion and inhibit tumor growth. Moreover, the patient had no symptoms or signs of heart failure, RV dilatation or dysfunction at baseline. A conservative approach was primarily decided by a multidisciplinary team consisting of a cardiologist, a cardiac surgeon, an anesthesiologist and medical oncologist. Despite SSA therapy, the CHD progressed rapidly. Chan et al. reported a series of patients with new-onset CHD in spite of SSA therapy. Clinicians should perform regular echo-

Tab. 1. Selected echocardiographic parameters.

Parameter	Baseline	Six-month follow-up
Basal RV4 diameter (mm)	40	51
RV1 diameter (mm)	31	36
ARA (cm ²)	14,2	22
RVFAC (%)	50	50
TAPSE	31	31
TA Sa	12	12
LVD D-shape	no	yes
Basal RV : LV ratio	< 1	> 1

ARA – right atrium area, LVD left ventricle diastolic, RV1 – right ventricle in the parasternal long axis view, RV4 – right ventricle in the four-chamber view, RVFAC – right ventricle fractional area change, RV : LV ratio – right ventricular to left ventricular basal diameter ratio at end-systole in the four-chamber view, TAPSE – tricuspid annular plane systolic excursion, TA Sa – peak tricuspid annulus systolic velocities derived from Doppler tissue imaging,

cardiographic screening, especially in patients with persistently increased biomarker levels (chromogranin A, or urinary 5-hydroxyindoleacetic acid), even if no cardiac involvement is present at baseline [7].

Cardiac valve replacement remains the most effective therapy for advanced CHD in patients with well-controlled systemic disease. It may relieve CHD symptoms and improve overall outcomes. Bioprosthetic valves are preferred because anticoagulation therapy is not required. The risk of bleeding is high, especially in the case of liver involvement and hepatic dysfunction. There is also a high probability of subsequent invasive procedures, which would require repeated interruption of anticoagulation therapy [8].

Progressive decline of RV function and symptoms of heart failure caused by CHD favor surgical therapy if expected survival is longer than 1 year. Emergence of severe TV regurgitation with RV dilatation and persistent symptoms or incipient deterioration of RV function is the main finding indicating the need for TV replacement. Currently, PV replacement is being performed more frequently in CHD patients, but it is unclear what degree of PV disease should warrant the intervention [5].

Recently, transcatheter valve implantation has emerged as an interesting alternative to surgical replacement in CHD. As pulmonary involvement often results in a regurgitant and stenotic PV annulus, the percutaneous approach may be considered in this situation. Loyalka et al. present a case of severe PV stenosis secondary to CHD that was successfully treated with percutaneous valve replacement [9]. Flagiello et al. re-

port a case of severe PV regurgitation secondary to CHD occurring 4 years after surgical TV replacement, successfully treated with direct transcatheter PV implantation without pre-stenting [10].

The percutaneous approach is less reproducible in tricuspid carcinoid disease, where severe stenosis is rare. Neither edge-to-edge TV repair nor orthotopic TV replacement is appropriate in the case of a large coaptation gap, severely restricted TV leaflets, and significant TV annular dilatation. Stolz et al. present a case of successful heterotopic TV replacement [11] and suggest the possibility of treating TV regurgitation by implanting two biological valves inside self-expanding stents in the superior and inferior venae cavae.

Conclusion

CHD compromise overall survival in patients with CS. The diagnosis of CS must be made as early as possible, since SSA therapy fails to induce regression of valvular lesions. Valve replacement should be considered in fully developed valvular disease; therefore, it is necessary to monitor patients regularly, including natriuretic peptide measurements and cardiac imaging. Patients remain at risk if they have high levels of vasoactive mediators despite the application of SSAs. Cardiologists and medical oncologists should be familiar with the possible manifestations of CHD.

Acknowledgements

We are grateful to Ivo Überall from the Department of Clinical and Molecular Pathology, University Hospital Olomouc and the Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc, for producing the immunohistochemistry images. We are also grateful to Petr Čejka from the Department of Pathology, Hospital Šumperk, for providing the histological sample.

Authors' contributions

All authors contributed extensively to the work presented in this paper. Ivona Šimková: manuscript writing, data collection, literature search, Renata Aiglová: review and editing Filip Koubek: echocardiography images interpretation, Jan Přeček: data collection, Jan Látal: data collection, Eva Buriánková: acquired PET/CT images, images interpretation, Libuše Quinn: acquired SPECT/CT, images interpretation, Lenka Henzlová: acquired SPECT/CT images, images interpretation, Miloš Táborský: review and editing, supervision, Hana Svěbišová: follow-up of the patient, Lucie Tučková: description of histology and immunohistochemistry, images interpretation, Bohuslav Melichar: review and editing, supervision.

References

1. Plevová P, Šilhánová E, Foretová L. Vzácné hereditární syndromy s vyšším rizikem vzniku nádorů. *Klin Onkol* 2006; 19 (Suppl 1): 68–75.
2. Grozinsky-Glasberg S, Davar J, Hofland J et al. Neuroendocrine Tumor Society (NETS) 2022 guidance paper for carcinoid syndrome and carcinoid heart disease. *J Neuroendocrinol* 2022; 34(7): e13146. doi: 10.1111/jne.13146.
3. Lenneman C, Harrison D, Davis SL et al. Current practice in carcinoid heart disease and burgeoning opportunities. *Curr Treat Options Oncol* 2022; 23(12): 1793–1803. doi: 10.1007/s11864-022-01023-6.
4. Bober B, Saracyn M, Kołodziej M et al. Carcinoid heart disease: how to diagnose and treat in 2020? *Clin Med Insights Cardiol* 2020; 14: 1179546820968101. doi: 10.1177/1179546820968101.
5. Baron T, Bergsten J, Albåge A et al. Cardiac imaging in carcinoid heart disease. *JACC Cardiovasc Imaging* 2021; 14(11): 2240–2253. doi: 10.1016/j.jcmg.2020.12.030.
6. Jackuliaková D, Fryšák Z, Faltýnek L et al. Karcinoid – neuroendokrinní tumor mnoha příznaků, méně častá příčina průjmů. *Interní Med* 2010; 12(2): 104–108.
7. Chan DL, Pavlakis N, Crumbaker M et al. Vigilance for carcinoid heart disease is still required in the era of somatostatin analogues: lessons from a case series. *Asia Pac J Clin Oncol* 2022; 18(3): 209–216. doi: 10.1111/ajco.13577.
8. Koffas A, Toumpanakis C. Managing carcinoid heart disease in patients with neuroendocrine tumors. *Ann Endocrinol* 2021; 82(3–4): 187–192. doi: 10.1016/j.jando.2020.12.007.
9. Loyalka P, Schechter M, Nascimbene A et al. Transcatheter pulmonary valve replacement in a carcinoid heart. *Tex Heart Inst J* 2016; 43(4): 341–344. doi: 10.14503/THIJ-15-5310.
10. Flagiello M, Pozzi M, Francois L et al. Transcatheter pulmonary valve implantation in carcinoid heart disease. *Cardiovasc Revasc Med* 2022; 40: 130–134. doi: 10.1016/j.carrev.2021.12.027.
11. Stolz L, Doldi PM, Weckbach LT et al. Heterotopic transcatheter tricuspid valve replacement in a patient with carcinoid heart disease. *JACC Case Rep* 2022; 4(23): 101679. doi: 10.1016/j.jaccas.2022.10.011.

DALŠÍ PERSPEKTIVY v léčbě onkologických onemocnění.



Copyright © 2024 Merck & Co., Inc., Rahway, NJ, USA a přidružené společnosti. Všechna práva vyhrazena.
Merck Sharp & Dohme s.r.o., Na Valentince 3336/4, 150 00 Praha 5, Česká republika, IČ: 028462564
Tel.: +420 277 050 000, e-mail: d poc_czechslovak@merck.com, www.MSD.cz
CZ-PDO-00112 (1.0), březen 2024

Aktuality z odborného tisku

Low-dose versus standard-dose olanzapine with triple antiemetic therapy for prevention of highly emetogenic chemotherapy-induced nausea and vomiting in patients with solid tumours: a single-centre, open-label, non-inferiority, randomised, controlled, phase 3 trial

Bajpai J, Kapu V, Rath S et al.

Lancet Oncol 2024; 25(2): 246–254. doi: 10.1016/S1470-2045(23)00628-9.



Moderní antiemetická terapie výrazně snižuje riziko zvracení i nevolnosti u pacientů léčených emetickou chemoterapií. Běžnou součástí antiemetické terapie je dnes i olanzapin. Olanzapin je účinné antiemetikum, ale při podávání ve standardní dávce (10 mg) vede ke značné ospalosti během dne. Cílem této studie bylo porovnat účinnost nízké dávky olanzapinu oproti standardní dávce u pacientů léčených vysoce emetogenní chemoterapií. Jednalo se o monocentrickou, otevřenou, non-inferiorní, randomizovanou, kontrolovanou studii fáze III provedenou v centru terciární péče v Indii (Tata Memorial Centre, Homi Bhabha National Institute, Mumbai). Do studie byli zařazeni pacienti ve věku 13–75 let s výkonnostním stavem ECOG PS 0–2, kteří dostávali kombinaci chemoterapie doxorubicin–cyklofosamid nebo chemoterapii s vysokou dávkou cisplatiny. Pacienti byli randomizováni (1 : 1) do ramene s nízkou dávkou (2,5 mg) perorálního olanzapinu nebo standardní dávkou (10 mg) po dobu 4 dnů spolu s kombinací tří antiemetik (NK-1 inhibitor, setrony, dexamethason). Primárním cílem studie byla úplná kontrola, definovaná jako žádné emetické epizody, žádná záchranná medikace a žádná nebo mírná nevolnost v celé fázi sledování (0–120 hodin). Denní somnolence byla sledovaným bezpečnostním cílem. Non-inferiorita byla stanovena v případě rozdílu < 10 %. Do studie bylo zařazeno a randomizováno 275 pacientů (94 % byly ženy a 91 % mělo nádor prsu). Ve skupině s 2,5 mg olanzapinu mělo úplnou kontrolu v celé fázi 59/132 (45 %) pacientů vs. 59/135 (44 %) pacientům ve skupině s 10 mg olanzapinu (rozdíl –1,0 % (jednostranný 95% CI –100,0 až 9,0); $p = 0,87$). V celé fázi bylo signifikantně méně pacientů ve skupině s 2,5 mg olanzapinu než ve skupině s 10 mg s denní somnolencí jakéhokoliv stupně (86/132 (65 %) vs. 121/135 (90 %); $p < 0,0001$) a závažného stupně v den 1 (6 (5 %) vs. 54 (40 %); $p < 0,0001$). Tato studie potvrzuje, že antiemetická účinnost olanzapinu 2,5 mg není horší než 10 mg a vede ke snížení výskytu denní ospalosti/somnolence u pacientů léčených vysoce emetickou chemoterapií. Olanzapin by měl být standardní součástí antiemetické terapie a v této nízké dávce se jedná o bezpečný lék s výbornou účinností.

Effect of immunotherapy-infusion time of day on survival of patients with advanced cancers: a study-level meta-analysis

Landré T, Karaboué A, Buchwald ZS et al.

ESMO Open 2024; 9(2): 102220. doi: 10.1016/j.esmoop.2023.102220.



Inhibitory imunitních kontrolních bodů (immune checkpoint inhibitors – ICI) se staly standardem léčby širokého spektra malignit. Nové důkazy naznačují, že denní doba podávání ICI by mohla ovlivnit výsledky léčby. Bylo prokázáno, že cirkadiální rytmy regulují buněčné funkce na 24hodinové škále. Autonomní molekulární cirkadiální hodiny byly také identifikovány ve většině imunitních buněk, o jejichž funkci je již dlouho známo, že vykazují výrazné cirkadiální rytmy. Prozánětlivé cytokiny (např. interleukin (IL) 1 a tumor nekrotizující faktor α) cirkulují ve vyšších hladinách během klidového období v noci, zatímco protizánětlivé cytokiny (např. IL-4 a IL-10) cirkulují během aktivních období ve dne. Kromě toho uvolňování glukokortikoidů vrcholí na začátku dne a nejnižší úroveň dosahuje během první poloviny noci. Pokud jde o buněčnou imunitu, T lymfocyty (CD8⁺) – hlavní buněčný cíl ICI – jsou vystaveny cirkadiálním změnám s výrazně intenzivnější proliferací během časného odpoledne; cirkulace B lymfocytů v krvi je posílena na konci večera, zatímco cirkulující T a T(CD4) lymfocyty vrcholí uprostřed noci a procesy rozpoznávání a destrukce antigenů převažují velmi brzy ráno. Význam takové cirkadiální orchestrace imunitního systému pro účinnost ICI se začíná objevovat v četných recentních retrospektivních klinických studiích a autoři této studie se snažili zhodnotit tyto data v komplexní metaanalýze. Tato metaanalýza integruje údaje o přežití bez progresu (progression free survival – PFS) a celkovém přežití (overall survival – OS) ze studií s definovanou denní dobou podávání ICI. Zahnovala 13 klinických studií s celkovým počtem 1 663 pacientů (výkonnostní stav ECOG PS 0–1 u 83 % pacientů; poměr muži/ženy 67/33 %, s nemalobuněčným karcinomem plic (47 %), renálním karcinomem (24 %), maligním melanomem (20 %), uroteliálním karcinomem (5 %) nebo karcinomem jícnu (4 %). Většina pacientů dostávala anti-PD-1 nebo anti-PD-L1 terapii (98 %) a malá část také dostávala anti-CTLA-4 terapii (18 %). Hranice denní doby byly 13:00 nebo 14:00 (tj. medián doby infuze ICI) pro šest studií a 16:00 nebo 16:30 pro sedm studií. Sdružená analýza

prokázala, že pacienti ve skupinách s časným podáním ICI dosáhli delšího OS (HR 0,50; 95% CI 0,42–0,58; $p < 0,00001$) a PFS (HR 0,51; 95% CI 0,42–0,61; $p < 0,00001$) ve srovnání se skupinami s pozdní podáváním ICI. Tato metaanalýza prokazuje poměrně výrazné prodloužení PFS a OS v případech, že terapie ICI je podávána v ranních hodinách ve srovnání s aplikací v pozdních částech dne. Tyto výsledky bude potřeba potvrdit v prospektivních randomizovaných studiích, nicméně se může jednat o způsob, jak jednoduše a bez zvýšení nákladů potenciálně zlepšit výsledky terapie ICI.

Neoadjuvant and adjuvant pembrolizumab plus chemotherapy in locally advanced gastric or gastro-oesophageal cancer (KEYNOTE-585): an interim analysis of the multicentre, double-blind, randomised phase 3 study

Shitara K, Rha SY, Wyrwicz LS et al.

Lancet Oncol 2024; 25(2): 212–224. doi: 10.1016/S1470-2045(23)00541-7.



Perioperační chemoterapie režimem FLOT je standardem léčby u pacientů s lokálně pokročilým adenokarcinomem žaludku a gastroesofageální junkce. I přesto velká část pacientů (cca 60 %) dosáhne relaps onemocnění. Proto se hledají nové terapeutické přístupy, které by dokázali zlepšit prognózu pacientů s tímto agresivním onemocněním. Jedna z potenciálně efektivních možností je kombinace imunoterapie checkpoint inhibitory se standardní chemoterapií v rámci perioperační léčby. Ve studii KEYNOTE-585 u pacientů s lokálně pokročilým, resektabilním adenokarcinomem žaludku nebo gastroesofageální junkce hodnotili přínos přidání pembrolizumabu ke perioperační chemoterapii. Jednalo se o multicentrickou, randomizovanou, placebem kontrolovanou, dvojitě zaslepenou studii fáze III prováděnou v 143 centrech 24 zemí. Pacienti byli randomizováni (1 : 1) k neoadjuvantnímu pembrolizumabu 200 mg intravenózně nebo placebo plus chemoterapii (doublet na bázi cisplatinu – hlavní kohorta) každé 3 týdny po 3 cykly, po nichž následovala operace, adjuvantní pembrolizumab nebo placebo plus chemoterapie po dobu 3 cyklů a poté adjuvantní pembrolizumab nebo placebo 11 cyklů. Menší kohorta pacientů měla chemoterapii režimem FLOT (kohorta FLOT) každé 2 týdny 4 cykly před a po operaci. Primárními cíli studie byly patologická kompletní odpověď (hodnocena centrálně), přežití bez události (event-free survival – EFS), celkové přežití (overall survival – OS) a bezpečnost hodnocená u všech pacientů, kteří dostali alespoň jednu dávku studijní léčby. Celkem bylo zařazeno 1 254 pacientů, z toho 804 v hlavní kohortě, z nichž 402 bylo v rameni s pembrolizumabem a chemoterapií na bázi cisplatinu a 402 v rameni s placebem. V kohortě FLOT bylo 203 pacientů (100 pacientů ve skupině s pembrolizumabem a 103 s placebem plus FLOT). V hlavní kohortě byl medián sledování 47,7 měsíců. Pembrolizumab dosáhl vyšší počet patologických kompletních odpovědí (12,9 vs. 2,0 %; rozdíl 10,9 %; 95% CI 7,5–14,8; $p < 0,00001$). Medián EFS byl delší v rameni s pembrolizumabem oproti placebo (44,4 vs. 25,3 měsíce; HR 0,81; 95% CI 0,67–0,99; $p = 0,0198$), ale nedosáhl hranici statistické významnosti ($p = 0,0178$). Medián celkového přežití byl 60,7 vs. 58,0 měsíce (HR 0,90; 95% CI 0,73–1,12; $p = 0,174$). Výsledky v kohortě FLOT byly podobné a nebylo dosaženo zlepšení EFS nebo OS. Nežádoucí účinky stupně ≥ 3 se vyskytly u 78 % pacientů ve skupině s pembrolizumabem a u 74 % pacientů s placebem (nejčastější byly nevolnost 60 vs. 62 %, anemie 42 vs. 40 % a snížená chuť k jídlu 41 vs. 43 %). Závažné nežádoucí účinky související s léčbou byly hlášeny u 26 vs. 24 % pacientů. Nežádoucí účinky související s léčbou, které vedly k úmrtí, se vyskytly u čtyř (1 %) pacientů ve skupině s pembrolizumabem a u dvou (< 1 %) pacientů ve skupině s placebem. Neoadjuvantní a adjuvantní pembrolizumab sice oproti placebo zlepšil patologickou kompletní odpověď, to se ale nepromítlo do statisticky významného zlepšení EFS nebo OS. Tato studie je proto negativní a neprokázala přínos pembrolizumabu v perioperační léčbě lokálně pokročilého adenokarcinomu žaludku a gastroesofageální junkce. Pro definitivní zhodnocení přínosu imunoterapie v perioperační léčbě je potřeba vyčkat na výsledky přežití z dalších studií fáze III jako MATTERHORN (FLOT +/- durvalumab) a DANTE (FLOT +/- atezolizumab).

Neoadjuvant FOLFIRINOX versus upfront surgery for resectable pancreatic head cancer (NORPACT-1): a multicentre, randomised, phase 2 trial

Labori KJ, Bratlie SO, Andersson B et al.

Lancet Gastroenterol Hepatol 2024; 9(3): 205–217. doi: 10.1016/S2468-1253(23)00405-3.



Adenokarcinom pankreatu patří k nejagresivnějším nádorům a očekává se, že do roku 2030 se v USA stane druhou nejčastější příčinou úmrtí souvisejících s nádorovým onemocněním. Resekční výkon je jedinou kurativní modalitou, ale pouze 15–20 % pacientů s duktálním adenokarcinomem pankreatu má v době diagnózy resektabilní onemocnění, a i po adekvátní resekcii více než 70 % pacientů dosáhne relaps. Proto se hledají přístupy, které by mohly zlepšit tyto výsledky léčby. Jedním z nich je aplikace neoadjuvantní chemoterapie. Režim FOLFIRINOX prokázal efektivitu u metastatického onemocnění, a i v adjuvantní léčbě. Studie NORPACT-1 hodnotila přínos právě neoadjuvantní chemoterapie (NACT) režimem FOLFIRINOX u pacientů s resektabilním karcinomem pankreatu. Jednalo se o multicentrickou, randomizovanou studii fáze II prováděnou ve 12 nemocnicích v Dánsku, Finsku, Norsku a Švédsku. Pacienti s resektabilním nádorem hlavy pankreatu byli randomizováni (v poměru 3 : 2 před říjnem

2018 a poté 1 : 1) do ramene s NACT režimem FOLFIRINOX nebo do ramene s upfront operací. Pacienti ve skupině s NACT absolvovali čtyři cykly FOLFIRINOXu (oxaliplatina 85 mg/m², irinotekan 180 mg/m², leukovorin 400 mg/m² a fluorouracil 400 mg/m² bolus, poté 2 400 mg/m² během 46 hodin, aplikace každých 14 dní), po kterých následovala operace a adjuvantní chemoterapie. Pacienti ve skupině s chirurgickým zákrokem podstoupili operaci a poté absolvovali adjuvantní chemoterapii. Zpočátku byla adjuvantní chemoterapie gemcitabin plus kapecitabin (čtyři cykly ve skupině s NACT a šest cyklů ve skupině s operací). Následně byla provedena změna protokolu umožňující použití adjuvantně modifikovaného FOLFIRINOXu (oxaliplatina 85 mg/m², irinotekan 150 mg/m², leukovorin 400 mg/m² a fluorouracil 2 400 mg/m² po dobu 46 hodin každých 14 dní, 8 cyklů ve skupině s NACT a 12 cyklů ve skupině s operací). Primárním cílem studie bylo celkové přežití (overall survival – OS) po 18 měsících. Do studie bylo zařazeno 140 pacientů, 77 do ramene s NACT a 63 do ramene s operací. Všichni pacienti byli zahrnuti do ITT analýzy. Pro analýzu podle protokolu bylo 17 (22 %) pacientů vyloučeno z ramene s NACT (deset nedostalo NACT, čtyři neměli duktální adenokarcinom a tři dostali jinou NACT) a osm (13 %) bylo vyloučeno ze skupiny s operací (sedm nemělo adenokarcinom a jeden nepodstoupil chirurgický výkon). Ze 77 pacientů ve skupině s NACT dostalo neoadjuvantní terapii 61 pacientů (79 %). Podíl pacientů žijících v 18. měsíci podle ITT byl 60 % (95% CI 49–71) ve skupině s NACT vs. 73 % (62–84) ve skupině s operačním výkonem (p = 0,032) a medián OS podle ITT byl 25,1 vs. 38,5 měsíce (HR 1,52; 95% CI 1,00–2,33; p = 0,050). Podíl pacientů žijících po 18 měsících v analýze podle protokolu byl 57 % ve skupině s NACT vs. 70 % ve skupině s operací (p = 0,14), a medián OS byl 23,0 vs. 34,4 měsíce (HR 1,46; 95% CI 0,99 –2,17; p = 0,058). Nežádoucí účinky 3. a vyššího stupně byly zaznamenány u 58 % ve skupině s NACT a u 40 % ve skupině s operací. Resekci podstoupilo 82 % pacientů s NACT a 89 % v rameni s upfront operací (p = 0,24). Adjuvantní chemoterapie byla zahájena u 86 % pacientů po resekci v rameni s NACT a u 90 % v rameni s operací (z toho modifikovaný FOLFIRINOX byl podán u 25 vs. 43 % pacientů). Tato studie fáze II neprokázala přínos neoadjuvantního FOLFIRINOXu u pacientů s resekovatelným duktálním adenokarcinomem hlavy pankreatu. Je nutno zdůraznit, že pouze 61 % pacientů v této studii absolvovalo celou NACT a plný režim FOLFIRINOX je poměrně náročná chemoterapie. Modifikovaný režim je spojen s lepší tolerancí. I přesto jsou výsledky trochu zklamáním a tento postup nelze doporučit jako standard terapie u resekovatelných nádorů pankreatu. Je potřeba pátrat po nových inovativních přístupech s použitím biomarkerů.

ZENTIVA

VÁŠ PARTNER V ONKOLOGII A HEMATOONKOLOGII

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

547793/10/2022



**OMBUDSMAN
DOSTUPNOSTI
ZDRAVOTNÍ PÉČE**

Drahá a neúčinná je jen ta intervence,
která se včas nedostane ke správnému pacientovi

Systém zdravotní péče České republiky je **nejvýkonnější v celé EU**. Je **veřejnou službou** s největší alokací finančních zdrojů v ČR, přesto je ve srovnání se zeměmi s obdobným HDP levný.

I v ekonomicky horších časech musí být připraven na **financování rozvoje medicínských technologií** a jejich dostupnosti – této výzvě aktuálně čelí všechny vyspělé země světa.



PharmDr. Jiří Samek,
odborný garant –
ombudsman

Náš cíl

Cílem spolku Ombudsman zdravotní péče, z.s., je vytvoření systému spojujícího predikci potřeb zdravotní péče na národní úrovni s možnostmi medicínských technologií a jejich udržitelného financování a rozvoje.*

Naše práce

- **shromažďování podkladů** pro odhad dopadu moderních medicínských technologií na zdravotní systém a jejich přínosu,
- **osvětová činnost** v oblasti medicínských technologií a zdravotní, resp. zdravotně sociální politiky,
- organizace **kulatých stolů**, diskusních panelů, **vzdělávacích a osvětových akcí** v oblasti medicínských technologií a zdravotní, resp. zdravotně sociální politiky.

Činnost spolku Ombudsman zdravotní péče, z.s., **podporují zdravotní pojišťovny ČR.**

Připojte se svými náměty a potřebami i vy:

- na webových stránkách **www.ombudsmanzdravotnipece.cz**
- na e-mailové adrese **ombudsman@ombudsmanzdravotnipece.cz**

* Ombudsman dostupnosti zdravotní péče, z.s., není primárně založen k řešení konkrétních případů neposkytnutí adekvátní zdravotní péče a dalších otázek, které jsou v kompetenci patientského ombudsmana, nemocničních ombudsmanů či obdobných institucí.

Význam zotavení lymfocytů pro prognózu pacientů s chemoradioterapií karcinomu jícnu

Studie publikovaná v časopisu Radiation Oncology v říjnu 2023 upozorňuje na potřebu volby bezpečnějších radioterapeutických metod, zejména při ozařování oblastí s orgány důležitými pro lymfocytopenii. Problematika zotavení z lymfocytopenie indukované radioterapií je obzvláště významná v éře dostupnosti následné imuno-onkologické léčby.

Autoři studie [1] úvodem připomínají, že lymfocyty jsou výrazně radiosenzitivní buňky a k jejich eliminaci dochází již při absorbované dávce záření pouhé 2 Gy (Gy). Klinický význam těžké lymfopenie indukované radioterapií již byl prokázán v podobě horších výsledků přežití při léčbě řady solidních nádorů [2]. Např. studie provedená u karcinomu slinivky břišní [3] prokázala jasnou korelaci mezi dosaženou mírou obnovy lymfocytů do 6 měsíců od zahájení chemoradioterapie a lepšími klinickými výsledky. Podobná data však dosud nebyla k dispozici u pacientů léčených chemoradioterapií pro lokálně pokročilý dlaždicobuněčný karcinom jícnu.

Výběr pacientů, jejich léčba a sledování

Do studie bylo zařazeno 232 pacientů se spinocelulárním ezofageálním karcinomem z prospektivních studií ESO Shanghai 1 a ESO Shanghai 2 [4,5], u nichž bylo možné získat data o absolutním počtu lymfocytů (absolute lymphocyte count – ALC) 6 měsíců po definitivní souběžné chemoradioterapii (definitive concurrent chemoradiotherapy – dCCRT), bez jakékoliv následné protinádorové léčby z důvodu progresu onemocnění.

Všichni byli indikováni k ozařování celkovou dávkou 61,2 Gy ve 34 frakcích technikou IMRT.

Souběžně jim byl podáván některý z následujících čtyř režimů chemoterapie – fluorouracil s cisplatinou, fluorouracil s paklitaxelem, paklitaxel s cisplatinou nebo paklitaxel s karboplatinou.

Pacienti byli sledováni každé 3 měsíce v prvních dvou letech od ukončení léčby a poté každých 6 měsíců. Cílovými parametry bylo celkové přežití (overall survival – OS), přežití bez progresu onemocnění (progression-free survival – PFS),

přežití bez lokální recidivy (local recurrence-free survival – LRFS) a přežití bez vzdálených metastáz (distant metastasis-free survival – DMFS).

Data o absolutním počtu lymfocytů a index jejich obnovy

ALC byl měřen vstupně před dCCRT, každý týden během dCCRT a 6 měsíců po ukončení dCCRT. Lymfopenie byla definována podle CTCAE v. 5.0 (Common Terminology Criteria for Adverse Events). Lymfopenie – grade 1 (G1) $< 1,1 - 0,8 \times 10^9/l$, G2 $< 0,8 - 0,5 \times 10^9/l$, G3 $< 0,5 - 0,2 \times 10^9/l$ a G4 $< 0,2 \times 10^9/l$.

Medián ALC účastníků studie na začátku léčby byl $1,68 \times 10^9/l$, nejnižší byl v 5. týdnu dCCRT – $0,41 \times 10^9/l$. Kumulativní incidence lymfopenie G4 během sledování dosáhla 29,7 % a G1–3 70,3 %.

Po 6 měsících od ukončení dCCRT se ALC normalizoval u 44,8 % pacientů na hodnoty $\geq 1,1 \times 10^9/l$, u zbývajících lymfopenie různého stupně přetrvávala (33,2 % G1, 20,3 % G2 a 1,7 % G3).

Míra zotavení lymfocytů byla odhadnuta pomocí nového nástroje, tzv. indexu obnovy lymfocytů (lymphocyte recovery index – LRI) vypočítaného jako poměr ALC 6 měsíců po ukončení chemoradioterapie a ALC před zahájením léčby. Pacienti s LRI < 60 % byli považováni za nezotavené, s LRI ≥ 60 % za zotavené.

Pacienti byli také stratifikováni podle nejnižšího počtu lymfocytů během terapie (nadiru) a míry zotavení současně, do 4 skupin:

- skupina A: nadir G4 → nezotavení;
- skupina B: nadir G4 → zotavení;
- skupina C: nadir G1–3 → nezotavení;
- skupina D: nadir G1–3 → zotavení.

Výsledky

Nedostatečná obnova lymfocytů byla u pacientů signifikantně spojena:

- s horšími výsledky přežívání – OS:
 - pro pacienty s nadirem G4 a s nezotavenými vs. zotavenými lymfocyty po 6 měsících (tj. skupina A vs. B) poměr rizik (hazard ratio – HR) 2,80 (95% interval spolehlivosti (CI) 1,47–5,34; $p = 0,002$), 5leté OS 18,5 vs. 53,8 % ($p < 0,001$);
 - pro pacienty s nadirem G1–3 a s nezotavenými vs. zotavenými lymfocyty po 6 měsících (tj. skupina C vs. D) HR 1,70 (95% CI 1,07–2,72; $p = 0,025$), 5leté OS 46,8 vs. 62,1 % ($p = 0,005$);
- s horšími výsledky LRFS:
 - pro pacienty s nadirem G4 a s nezotavenými vs. zotavenými lymfocyty po 6 měsících (tj. skupina A vs. B) HR 2,82 (95% CI 1,51–5,26; $p = 0,001$), 5leté LRFS 14,8 vs. 45,9 % ($p < 0,001$);
 - pro pacienty s nadirem G1–3 a s nezotavenými vs. zotavenými lymfocyty (tj. skupina C vs. D) HR 1,60 (95% CI 1,01–2,52; $p = 0,040$), 5leté LRFS 58,4 vs. 39,9 % ($p = 0,009$).

U pacientů, kteří v průběhu sledování prodělali pouze závažný stupeň lymfopenie, byla nedostatečná obnova lymfocytů signifikantně také spojena:

- s horšími výsledky PFS
 - pro pacienty s nadirem G4 a s nezotavenými vs. zotavenými lymfocyty po 6 měsících (tj. skupina A vs. B) HR 3,67 (95% CI 2,09–6,46; $p < 0,001$),
- s horšími výsledky DMFS
 - pro pacienty s nadirem G4 a s nezotavenými vs. zotavenými lymfocyty po 6 měsících (tj. skupina A vs. B) HR 3,65 (95% CI 1,96–6,78; $p < 0,001$).

U pacientů s nadirem G1–3 a s nezotavenými vs. zotavenými lymfocyty (tj. skupina C vs. D) nejsou rozdíly PFS ani DMFS statisticky významné.

Na základě analýzy dozimetrických parametrů byl jako nezávislý prediktivní faktor nedostatečného zotavení lymfocytů identifikován podíl objemu kostní dřeně, který během ozařování obdržel dávku ≥ 5 Gy (V5), a to:

- $\geq 40,7$ vs. $< 40,7$ % u pacientů s nadírem lymfopenie G4 – poměr šancí (odds ratio – OR) 4,24 (95% CI 1,18–15,20; $p = 0,027$) a
- $\geq 46,0$ vs. $< 46,0$ % u pacientů s nadírem lymfopenie G1–3, OR 2,29 (95% CI 1,11–4,73; $p = 0,025$).

Závěry

Nedostatečná obnova počtu lymfocytů po šesti měsících od definitivní chemoradioterapie lokálně pokročilého dlaždico-buněčného karcinomu jícnu je nezávislý prognostický faktor pro celkové přežití

i přežití bez lokální recidivy nádoru – bez ohledu na to, jak závažný stupeň lymfopenie pacient během léčby prodělal.

Negativní vliv na obnovu lymfocytů ve studii měl objem ozářené kostní dřeně, což podle autorů akcentuje potřebu důsledně během radioterapie minimalizovat každé ozáření kostní dřeně, které není nezbytné.

Autoři publikaci výsledků své studie uzavřeli s tím, že se jedná o první práci věnovanou zotavení lymfocytů po chemoradioterapii karcinomu jícnu a jeho klinickým konsekvencím. Podařilo se prokázat, že nově zavedený parametr LRI přispěje k určení prognózy také u pacientů s lymfopenií G1–3 během dCCRT.

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

Literatura

1. Tseng J, Ai D, Chen Y et al. Lymphocyte recovery from radiation-induced lymphopenia in locally advanced esophageal squamous cell carcinoma: correlations with prognosis and lymphocyte-related organs. *Radiat Oncol* 2023; 18(1): 172. doi: 10.1186/s13014-023-02354-w.
2. Grassberger C, Ellsworth SG, Wilks MQ et al. Assessing the interactions between radiotherapy and antitumour immunity. *Nat Rev Clin Oncol* 2019; 16(12): 729–745.
3. Lee BM, Byun HK, Seong J. Significance of lymphocyte recovery from treatment-related lymphopenia in locally advanced pancreatic cancer. *Radiother Oncol* 2020; 151: 82–87. doi: 10.1016/j.radonc.2020.07.026.
4. Chen Y, Ye J, Zhu Z et al. Comparing paclitaxel plus fluorouracil versus cisplatin plus fluorouracil in chemoradiotherapy for locally advanced esophageal squamous cell cancer: a randomized, multicenter, phase III clinical trial. *J Clin Oncol* 2019; 37(20): 1695–1703. doi: 10.1200/JCO.18.02122.
5. Ai D, Ye J, Wei S et al. Comparison of 3 paclitaxel-based chemoradiotherapy regimens for patients with locally advanced esophageal squamous cell cancer: a randomized clinical trial. *JAMA Netw Open* 2022; 5(2): e220120. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.0120.

Informace z České onkologické společnosti

Zápis ze schůze výboru České onkologické společnosti konané 20. 2. 2024 a 19. 3. 2024 ve FN Motol v Praze naleznete na www.linkos.cz.

Monoklonální gamapatie klinického významu a další nemoci

(editoři: Z. Adam, L. Pour, Ľ. Harvanová, D. Zeman)

Právě vydaná monografie si zaslouží pozornost odborné veřejnosti hned z několika důvodů. Přehledným způsobem mapuje a popisuje vzácné klinické jednotky, které jsou řazeny mezi tzv. monoklonální gamapatie. Zatímco klasické zástupce této skupiny (mnohočetný myelom, Waldenströмова makroglobulinemie či AL amyloidóza) dostupné učební texty pravidelně a dostatečně pokrývají, stranou zájmu a běžných znalostí zůstává celá řada nozologických jednotek, jejichž podrobnějšímu popisu se kniha věnuje. V přehledném rozdělení podle oboru dominující manifestace (dermatologie, nefrologie, neurologie, imunologie) je jednotlivým vzácným, či dokonce raritním poruchám věnován dostatečný prostor, včetně návrhu možné terapie. Autoři zde opakovaně upozorňují na skutečnost, že podmínky úhrady moderních léků zaměřených na klonální populaci plazmatických buněk (etiologický podklad popisovaných abnormalit) neumožňují v popisovaných případech jejich běžné užití a ošetřující lékař je nucen žádat o mimořádnou úhradu léčivého přípravku. Praxe ukazuje, že se jedná o zdoluhavou a značně nejistou cestu k poskytnutí účinné léčby. Používáním pojmu „monoklonální gamapatie klinického významu“ monografie upozorňuje na tuto situaci i na skutečnost, že existuje celá řada pacientů, kteří by jednoznačně profitovali z mož-

ností podstoupit účinnou léčbu včas a bez zbytečných administrativních okolků.

Publikace je navíc doplněna souhrnnými přehledy, které se dané problematiky bezprostředně týkají, jako např. léčba renálního selhání u monoklonálních gamapatií či shrnutí možností laboratorní diagnostiky. Další kapitoly se věnují kazuistickým popisům některých vzácných jednotek, např. SAPHO syndromu nebo aktualizaci seznamu histiocytárních nemocí podle nejnovější WHO klasifikace z roku 2022.

Problematika, kterou si tato publikace dala za úkol zmapovat, leží na hraničním pomezí mnoha odborností. Z tohoto úhlu pohledu tedy není překvapivé, že poslední kapitola se věnuje empatii a jejímu významu v práci lékaře. Skutečnost, že činnost imunitního systému je úzce provázána mimo jiné s psychikou pacientů, je zejména v poslední době prokazována nejen výsledky odborných studií, ale i zkušeností těch, kteří se dané problematice dlouhodobě věnují. Komunikace mezi lékařem a pacientem má klíčovou roli v celém léčebném procesu. Přesto tato stránka práce lékaře, která je nedílnou součástí jeho denní praxe, zůstává leckdy stranou odborného zájmu. Je proto velmi dobře, že autoři upozorňují na význam této problematiky.

Závěrem této recenze mi dovolu-
te jedno doporučení, které si může



čtenář přečíst na str. 88 této publikace v rámci souhrnu diagnostického postupu: „Alternativa je poslat pacienta za hematologem, o němž víte, že hledání souvislostí a diagnóz je pro něj zábavnější a přitažlivější než čtení detektivky.“ Jako čtenáři můžeme být vděční za to, že se na pulty knihkupectví dostává kniha, která za svůj vznik vděčí právě takovým autorům, kterým se podařilo stát se úspěšnými detektivy v odlehlých a opomíjených zákoutích hematologie.

MUDr. Petr Pavlíček
Hematologická klinika
3. LF UK a FN Královské Vinohrady

TTERAPIE

AKTUÁLNÍ ODBORNÉ I PROFESNÍ INFORMACE PRO LÉKAŘE

PODROBNÉ ON-LINE ZPRAVODAJSTVÍ Z DOMÁCÍCH
I ZAHRANIČNÍCH MEDICÍNSKÝCH KONGRESŮ

WWW.TERAPIE.DIGITAL



**REDAKČNÍ
ZPRACOVÁNÍ
ROZHOVORŮ A ZPRÁV
V MÍSTĚ KONÁNÍ
KONGRESU**



**VIDEOZÁZNAMY
Z PŘEDNÁŠEK
A WORKSHOPŮ**



**PUBLIKOVÁNÍ
SOUHRNNÝCH ZPRÁV
V ODBORNÝCH
ČASOPISECH**

KLINICKÁ ONKOLOGIE

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

REDAKČNÍ RADA

Výkonná redakční rada (Brno)

vedoucí redaktor

doc. MUDr. Vuk Fait, CSc.

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

výkonný redaktor

prof. MUDr. Marek Svoboda, Ph.D.

doc. MUDr. Lumír Kunovský, Ph.D.
MUDr. Rudolf Nenutil, CSc.
MUDr. Jiří Novák
PharmDr. Roman Goněc

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

Širší redakční rada

prof. MUDr. Zdeněk Adam, CSc., Brno
doc. MUDr. Igor Andrašina, CSc., Košice
doc. MUDr. Soňa Balogová, Ph.D., Bratislava
prof. MUDr. Tomáš Büchler, Ph.D., Praha
MUDr. Karel Cwiertka, Ph.D., Olomouc
doc. MUDr. Martin Doležal, Ph.D., Olomouc
doc. MUDr. Luboš Drgoňa, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Ladislav Dušek, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Praha
prof. MUDr. Jindřich Fínek, Ph.D., MHA, Plzeň
doc. MUDr. Lenka Foretová, Ph.D., Brno
doc. MUDr. Marián Hajdúch, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., Ostrava
MUDr. Jana Halámková, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Igor Kiss, Ph.D., MBA, Brno
prof. MUDr. Alexandra Kolenová, Ph.D., Bratislava
doc. MUDr. Jiří Kubeš, Ph.D., Praha
Andrea Lancia, M.D., Rome
assoc. prof. Jeong Eon Lee, M.D., Ph.D., Seoul
prof. MUDr. Michal Mego, DrSc., Bratislava
prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D., Olomouc
prof. MUDr. Beata Mladosičiová, CSc., Bratislava
doc. MUDr. Jan Novotný, Ph.D., Praha
prof. MUDr. Dalibor Ondruš, DrSc., Bratislava
doc. RNDr. Martina Ondrušová, Ph.D., MPH, Bratislava
prof. Yeon Hee Park, M.D., Ph.D., Seoul
prof. MUDr. Luboš Petruželka, CSc., Praha
prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Luděk Pour, Ph.D., Brno

doc. MUDr. Jana Prausová, Ph.D., MBA, Praha
doc. MUDr. Igor Pužanov, Nashville
prof. MUDr. Lukáš Rob, CSc., Praha
prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D., Hradec Králové
prof. MUDr. Jana Skříčková, CSc., Brno
prof. MUDr. Martin Smrčka, Ph.D., Brno
MUDr. Tomáš Svoboda, Ph.D., Plzeň
doc. MUDr. Michal Staník, Ph.D., Brno
MUDr. Tomáš Šálek, Ph.D., Bratislava
prof. MUDr. Pavel Šlampa, CSc., Brno
prof. MUDr. Jaroslav Štěrba, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Dalibor Valík, Ph.D., Brno
prof. MUDr. Anna Vašků, CSc., Brno
doc. MUDr. Mária Wagnerová, CSc., Košice
prof. MUDr. Stanislav Špánek, CSc., Bratislava

Čestní členové redakční rady

doc. MUDr. Juraj Kaušitz, CSc., Bratislava
prof. MUDr. Jan Klášterský, Ph.D., Brusel
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc., Praha

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

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

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2024

KLINICKÁ ONKOLOGIE

Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně.

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

On-line verze je přístupná na adrese www.linkos.cz.

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

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

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

Vychází 6x ročně. Předplatné na rok 2024 činí 540 Kč (22 eur) Objednávka předplatného ČR i SK na adrese: předplatne@carecom.cz.

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

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

Redakce časopisu Klinická onkologie, Masarykův onkologický ústav, Žlutý kopec 7, 656 53 Brno.

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

Toto číslo vychází 15. 4. 2024



Váš partner
v personalizované léčbě
onkologických pacientů

AstraZeneca 

PHESGO® je první subkutánní léčba dvěma protilátkami v jedné dávce u HER2 pozitivního karcinomu prsu^{1,2}

- ▶ Snadná aplikace během ~ 5 minut*^{1,2}
- ▶ Výrazně zkrácená doba podání a následného sledování pacienta¹⁻³
- ▶ Rychlé a pohodlné podání pro pacienty^{1,4}



* ~ 5 minut odpovídá času podání pro udržovací dávku.
Nasycovací dávka je ~ 8 minut.

PHESGO® 
PERTUZUMAB-TRASTUZUMAB

Zkrácená informace o přípravku • Phesgo 1200 mg/ 600 mg injekční roztok. Registrační číslo: EU/1/20/1497/001. **Phesgo 600 mg/600 mg injekční roztok.** Registrační číslo: EU/1/20/1497/002. **Účinná látka:** pertuzumabum a trastuzumabum. **Držitel registračního rozhodnutí:** Roche Registration GmbH, Grenzach-Wyhlen, Německo. **Indikace:** Časný karcinom prsu: Přípravek Phesgo je indikován k použití v kombinaci s chemoterapií; k neoadjuvantní léčbě dospělých pacientů s HER2-pozitivním, lokálně pokročilým, infiltrativním nebo časným karcinomem prsu s vysokým rizikem recidivy; k adjuvantní léčbě dospělých pacientů s HER2-pozitivním časným karcinomem prsu s vysokým rizikem recidivy. Metastazující karcinom prsu: Přípravek Phesgo je indikován k použití v kombinaci s docetaxelem u dospělých pacientů s HER2-pozitivním metastazujícím nebo lokálně rekurentním neresekovatelným karcinomem prsu, kteří dosud nebyli léčeni anti-HER2 léky nebo chemoterapií pro metastazující onemocnění. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivé látky nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Upozornění:** Aby se zlepšila sledovatelnost biologických léčivých přípravků, má se předléhnutí zaznamenat název podávaného přípravku a číslo šarže. Pacienti léčení v současnosti intravenózním pertuzumabem a trastuzumabem mohou být převedeni na přípravek PHESGO (a naopak). Při použití léčivých přípravků blokujících aktivitu HER2, včetně pertuzumabu a trastuzumabu, byl hlášen pokles ejekční frakce levé srdeční komory (LVEF). Pacienti po předchozí léčbě antracykliny nebo po předchozí radioterapii hrudníku mohou mít zvýšené riziko poklesu LVEF. Přípravek Phesgo nebyl studován u pacientů s hodnotou LVEF < 50 % (časný karcinom prsu) nebo < 50 % (metastazující karcinom prsu) před léčbou, s anamnézou místního srdečního selhání; s poruchami, které mohou negativně ovlivnit činnost levé srdeční komory, jako jsou nekompenzovaná hypertenze, nedávný infarkt myokardu, těžká srdeční arytmie vyžadující léčbu nebo předchozí kumulativní expozice antracyklinům odpovídající > 360 mg/m² doxorubicinu nebo jeho ekvivalentu; dále nebyl studován u pacientů s poklesem ejekční frakce levé srdeční komory na < 50 % během předchozí adjuvantní léčby trastuzumabem. LVEF má být kontrolována před zahájením léčby přípravkem Phesgo a v pravidelných intervalech během léčby. Při poklesu LVEF má být postupováno dle doporučení v Souhrnu údajů o přípravku. Podání přípravku Phesgo bylo spojeno s reakcemi souvisejícími s injekcí definovanými jako jakákoliv systémová reakce s příznaky, mezi které patří horečka, třesavka, zimnice a bolest hlavy. Při léčbě pertuzumabem v kombinaci s taxanem a chemoterapií byly zjištěny i těžké hypersenzitivní reakce včetně anafylaxe a fatálních příhod. Je třeba mít k okamžité dispozici přípravky k léčbě takových reakcí a vybavení pro akutní péči. Pacienti léčení přípravkem Phesgo v kombinaci s taxanem mají zvýšené riziko febrilní neutropenie. Přípravek Phesgo může vyvolat těžký průjem. Při užívání trastuzumabu po uvedení na trh byly hlášeny těžké plicní příhody; dále byly hlášeny případy intersticiálního plicního onemocnění. **Klinicky významné interakce:** Nebyly provedeny žádné formální studie léčivých interakcí. V předchozích studiích s intravenózním podáním obou účinných látek nebyly zjištěny žádné známky jakékoli farmakokinetické interakce mezi pertuzumabem a trastuzumabem, docetaxelem nebo dalšími cytostatiky. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejčastější (> 30 %) nežádoucí účinky hlášenými u pacientů léčených přípravkem Phesgo nebo intravenózním pertuzumabem v kombinaci s trastuzumabem a chemoterapií byly alopecie, průjem, nauzea, anémie, astenie a bolest kloubů; dále nejčastějšími závažnými nežádoucími příhodami (≥ 1 %) byly febrilní neutropenie, srdeční selhání, pyrexie, neutropenie, neutropenická seps, pokles počtu neutrofilů a pneumonie. **Dávkování a způsob podání:** Přípravek Phesgo se podává pouze subkutánní injekcí. Místo vpichu je třeba volit střídavě pouze na levém a na pravém stehnu. Doporučená nasycovací dávka je 1 200 mg pertuzumabu/600 mg trastuzumabu aplikovaná po dobu 5 minut a s následným sledováním po dobu 15 minut. Při podávání pacientům léčeným taxanem má být přípravek Phesgo podán před taxanem. Při podávání pacientům léčeným režimem s antracykliny má být přípravek Phesgo podán až po dokončení celého režimu s antracyklinem. **Metastazující karcinom prsu:** Přípravek Phesgo má být podáván v kombinaci s docetaxelem. Léčba přípravkem Phesgo může pokračovat do progresu nemoci nebo do nepříjatelné toxicity i po ukončení léčby docetaxelem. **Časný karcinom prsu:** Při neoadjuvantní léčbě má být přípravek Phesgo podáván ve třech až šesti cyklech v kombinaci s chemoterapií; při adjuvantní léčbě má být přípravek Phesgo podáván po dobu celkem jednoho roku (až 18 cyklů nebo do recidivy onemocnění nebo nepříjatelné toxicity podle toho, co nastane dříve) jako součást kompletního režimu léčby časného karcinomu prsu bez ohledu na termin operace. Součástí léčby má být standardní chemoterapie obsahující antracykliny a/nebo taxany. Léčba přípravkem Phesgo má být zahájena v den 1 prvního cyklu taxanem a podáváni se má pokračovat i v případě ukončení chemoterapie. Při převedení z intravenózní aplikace pertuzumabu a trastuzumabu na přípravek Phesgo je třeba postupovat dle doporučení v Souhrnu údajů o přípravku. **Dostupná balení přípravku:** Phesgo 1 200 mg/600 mg – jedna injekční lahvička obsahuje pertuzumabum 1 200 mg a trastuzumabum 600 mg v 15 ml roztoku. Phesgo 600 mg/600 mg injekční roztok – jedna injekční lahvička obsahuje pertuzumabum 600 mg a trastuzumabum 600 mg v 10 ml roztoku. **Podmínky uchování:** Přípravek je nutné uchovávat v chladničce (2 °C–8 °C), chránit před mrazem a světlem. Léčivý přípravek natežený z injekční lahvičky do injekční stříkačky je fyzikálně a chemicky stabilní po dobu 28 dnů při teplotě od 2 °C do 8 °C v temnu a po dobu 24 hodin při okolní teplotě (maximálně 30 °C) v rozptýleném denním světle. Z mikrobiologického hlediska má být přípravek Phesgo použit okamžitě, protože neobsahuje žádnou antimikrobiální konzervační látku. Není-li použit okamžitě, doba a podmínky uchování přípravku po otevření před použitím jsou v odpovědnosti uživatele a normálně by doba neměla být delší než 24 hodin při teplotě od 2 °C do 8 °C, pokud příprava injekční stříkačky a natežení přípravku do injekční stříkačky neproběhlo za kontrolovaných a validovaných aseptických podmínek. **Datum registrace:** 21. 12. 2020 **Datum poslední úpravy textu Zkrácené informace o přípravku:** 21. 02. 2023 **Aktuální verze Souhrnu údajů o přípravku je dostupná na <https://www.sukl.cz>.** **Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis.** **Léčivý přípravek má k 1. 4. 2023 stanovenou úhradu z prostředků veřejného zdravotního pojištění v indikacích HER2-pozitivního metastazujícího karcinomu prsu a neoadjuvantní a adjuvantní léčby HER2-pozitivního časného karcinomu prsu.** Další informace naleznete na www.sukl.cz. **Varování pro těhotné a potenciálně těhotné ženy:** Ženy ve fertilním věku mají během léčby přípravkem Phesgo a 7 měsíců po poslední dávce používat účinnou antikoncepci. Používání přípravku Phesgo se nedoporučuje během těhotenství, pokud možný přínos pro matku nepřevyšuje možné riziko pro plod. Pacientky, které otěhotní, je třeba poučit o možnosti poškození plodu. V případě léčby těhotné pacientky přípravkem Phesgo nebo otěhotnění pacientky během léčby přípravkem Phesgo nebo do 7 měsíců od poslední dávky přípravku Phesgo je žádoucí, aby pacientku pečlivě sledoval multidisciplinární tým. Jestliže byl přípravek Phesgo užíván během těhotenství nebo pacientka během léčby nebo 7 měsíců od poslední dávky otěhotněla, je nutné bezprostředně ohlásit expozici na Roche linku +420 602 298 181. Budou požadovány další informace v souvislosti s expozicí přípravku Phesgo během těhotenství a dále v prvním roce života kojenice. To umožní společnosti Roche lépe porozumět bezpečnostnímu profilu přípravku Phesgo a poskytovat náležitě informace zdravotnickým orgánům, poskytovatelům zdravotnické péče a pacientům. **Další informace o přípravku** získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku Phesgo nebo na adrese: Roche s.r.o., Futurama Business Park Bld F, Sokolovská 685/136f, 186 00 Praha 8, telefon 220 382 111. Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu/>.

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

Reference: 1. SPC Phesgo v aktuálním znění na www.sukl.cz. 2. SPC Perjeta v aktuálním znění na www.sukl.cz. 3. SPC Herceptin v aktuálním znění na www.sukl.cz. 4. Tan AR et al. The Lancet Oncology, 2021, 22(1): p. 85-97.

Roche s.r.o., Futurama Business Park Bld F,
Sokolovská 685/136f, 186 00 Praha 8,
tel.: +420 220 383 111, www.roche.cz

M-CZ-00001813

