

ISSN 1213-810X

Indexed in EMBASE /Excerpta Medica

STUDIA

77

3

ČERVEN

2017

PNEUMOLOGICA

ET PHTHISEOLOGICA



Časopis

*České pneumologické a ftizeologické společnosti
a Slovenskej pneumologickej a ftizeologickej
spoločnosti*



Vydává

Česká pneumologická a ftizeologická společnost



ISSN 1213-810X
ČÍSLO 3

STUDIA

ČERVEN 2017
ROČNÍK 77

PNEUMOLOGICA
ET PHTHISEOLOGICA

Redakční rada

Šéfredaktor: Prof. MUDr. Miloslav Marel, CSc.

Zástupce šéfredaktora: Doc. MUDr. Ivan Solovič, CSc.

Členové:

Prof. MUDr. Jiří Homolka, DrSc.
As. MUDr. Vladimír Koblížek, Ph.D.
Prof. MUDr. Vítězslav Kolek, DrSc.
Prof. MUDr. Peter Krištůfek, CSc.
Doc. MUDr. Ivan Majer, CSc.
Doc. MUDr. Jaromír Musil, Ph.D.
Prof. MUDr. Miloš Pešek, CSc.
Doc. MUDr. Ján Plutinský, CSc.
Doc. MUDr. Vladimír Pohanka, CSc.
Prof. MUDr. Eva Rozborilová, CSc.
Prof. MUDr. Jana Skříčková, CSc.
Doc. MUDr. Milan Teřl, Ph.D.
Prof. MUDr. Ružena Tkáčová, DrSc.
Doc. MUDr. Martina Vašáková, Ph.D.
Doc. MUDr. Robert Vyšehradský, PhD.

STUDIA PNEUMOLOGICA ET PHTHISEOLOGICA

Vydavatel: TRIOS, s. r. o., Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4

Vydává Česká pneumologická a ftizeologická společnost

Jazykový a technický redaktor:

Mgr. Sabina Janovicová, DiS.

Vychází šestkrát ročně. Předplatné na rok 240,- Kč/9,- €

Povoleno Ministerstvem kultury ČR pod číslem MK ČR E 786

Sazba: Silva, s. r. o., Táborská 31, 140 16 Praha 4

Tisk: GRAFOTECHNA Plus, s. r. o., Lýskova 1594/33, 155 00 Praha 13-Stodůlky

Objednávky předplatného přijímá redakce časopisu

Studia pneumologica et phthiseologica, Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4

RUKOPISY ZASÍLEJTE NA ADRESU REDAKCE
NEVYŽÁDANÉ RUKOPISY SE NEVRACEJÍ

Obsah

P. Beržinec: Pokročilý karcinóm pľúc – nedocenené či precenené pokroky?	91
M. Svatoň, V. Kulda, P. Mukenšnabl, O. Topolčan, M. Pešek, P. Dvořák, O. Fiala, M. Roušarová, K. Hrdá, M. Pešta: Vliv exprese vybraných protein kódujících genů a mikroRNA na riziko relapsu plicních adenokarcinomů stadia I	93
K. Trhanová: Cirkulující nádorové bunky v krvi pacienta s pľúcnym adenokarcinómom v štádiu IB – kazuistika	104
K. Neumannová, Z. Svoboda, J. Zatloukal, V. Sedlák, M. Plutinský, L. Bizovská, M. Janura, V. Koblížek: Poruchy rovnováhy u nemocných s chronickou obstrukční plicní nemocí	110
M. Doubková, S. Richter: Běžná intersticiální pneumonie nemusí být jen idiopatickou plicní fibrózou	115
J. Wallenfels: Epidemiologická situace TBC v České republice v roce 2016	127

Contents

P. Beržinec: Advanced lung cancer – underrated or overrated advances?	91
M. Svatoň, V. Kulda, P. Mukenšnabl, O. Topolčan, M. Pešek, P. Dvořák, O. Fiala, M. Roušarová, K. Hrdá, M. Pešta: Effect of expression of selected protein-coding genes and microRNAs on the risk of recurrence of stage I lung adenocarcinoma	93
K. Trhanová: Circulating tumor cells in the blood of a patient with stage IB pulmonary adenocarcinoma	104
K. Neumannová, Z. Svoboda, J. Zatloukal, V. Sedlák, M. Plutinský, L. Bizovská, M. Janura, V. Koblížek: Balance disorders in patients with chronic obstructive pulmonary disease	110
M. Doubková, S. Richter: Usual interstitial pneumonia may not only be idiopathic pulmonary fibrosis	115
J. Wallenfels: Epidemiological situation of tuberculosis in the Czech Republic in 2016	127

Pokročilý karcinóm pľúc – nedocenené či precenené pokroky?

P. Beržinec

Špecializovaná nemocnica sv. Svorada Zobor, Nitra

Pred desiatimi rokmi som v úvodníku v časopise *Studia pneumologica et phtiseologica* prirovnal karcinóm pľúc k Šípkovej Ruženke [1]. Vtedy Šípková Ruženka tvrdo spala a bolo veľa princov, ktorí o ňu mali záujem. Dnes sa zdá, že Šípková Ruženka sa rýchlo preberá. Princov je dosť, ale okrem Šípkovej Ruženky spala aj celá krajina a jej bohatstvo akosi nestačí... A vlastne nestačí ani to, ktoré majú väčší susedia, a ani to, čo majú v kráľovstve ďaleko za oceánom...

Fascinujúce pokroky, ku ktorým došlo v liečbe pokročilého (t.j. lokálne pokročilého a metastatického) nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC), postupne menia toto snáď najobávanejšie onkologické ochorenie na ochorenie dlhodobo liečiteľné, a podľa definície WHO chronické, t.j. ochorenie vyžadujúce pokračujúci manažment počas rokov [2]. Zmenu priniesli zvlášť cielené lieky a najnovšie imunoterapia. Skutočnosť, že približne 15 % pacientov s pokročilým karcinómom pľúc (v absolútnej prevahe s adenokarcinómom) má mutácie či už génov EGFR (receptor epidermového rastového faktoru), alebo ALK (kináza anaplastického lymfómu) senzitivizujúce k liečbe tyrozínkinázovými inhibítormi (TKI), je dnes dobre známa. Prvogeneračné a druholgeneračné EGFR-TKI (erlotinib, gefitinib a afatinib) použité v prvej línii liečby dávajú šancu na plnohodnotný život v trvaní v mediáne 2–3 roky [3–6]. Prvogeneračný ALK-TKI krizotinib, ak je použitý v prvej línii liečby, dáva šancu na celkové prežitie v mediáne viac ako 35 mesiacov [7]. Nedávne pokroky ďalej zlepšujú vyhliadky chorých v tejto skupine pacientov. Tretogeneračný inhibítor EGFR-TKI osimertinib predlžuje prežitie bez progresie ochorenia u približne 50 % pacientov, ktorí progredujú na prvolíniovej liečbe s EGFR-TKI a majú rezistentnú mutáciu EGFR T790M. Predĺženie je v mediáne o viac ako 10 mesiacov [8]. Druholgeneračné ALK-TKI ceritinib a alektinib, ak sú použité po progresii ochorenia liečeného krizotinibom, vedú k prežitiu bez progresie ochorenia v mediánoch približne 7 a 9 mesiacov [9,10]. Krizotinib bol nedávno schválený k používaniu v EÚ aj pre pacientov s ROS1 (ROS protoonkogén 1) mutáciou, s aktivujúcou prestavbou génu, ktorá sa vyskytuje približne u 1–2 % NSCLC. Medián prežitia

bez progresie ochorenia ROS1 pozitívnych pacientov pri liečbe krizotinibom presahuje 19 mesiacov [11]. Najnovšie EMA (European Medicines Agency) schválila kombináciu cielennej liečby pri NSCLC s BRAF mutáciou (BRAFFV600E), ktorá sa vyskytuje približne u 1 % NSCLC. Dabrafenib a trametinib tu majú synergický účinok. Odpoveď na liečbu (kompletná, alebo parciálna regresia nádoru – CR alebo PR) u pacientov, ktorí zlyhali na chemoterapiu, presahuje 60 %, kontrola ochorenia (CR, PR a stabilizácia ochorenia) 80 %, čas do progresie ochorenia je približne 10 mesiacov [12]. Prevratné výsledky boli docielené imunoterapeutikami zameranými na inhibíciu kontrolných bodov imunity, ako sú monoklonové protilátky proti receptoru PD-1 (programovanej bunkovej smrti 1) – nivolumab a pembrolizumab, alebo proti PD-L1 (ligand PD-1) – atezolizumab [13–16]. Aj keď otázka optimálneho biomarkeru tu nie je celkom jednoznačne zodpovedaná, je zrejmé, že tieto lieky dokážu zlepšiť prežitie docieľované chemoterapiou a navodiť dlhodobé prežitie (viac ako 2 roky) približne jednej tretiny pacientov, u ktorých zlyhala predchádzajúca chemoterapia. Navyše, približne 10 % pacientov s pokročilým NSCLC s vysokou expresiou PD-L1 je vhodných k liečbe pembrolizumabom v prvej línii. V štúdií fázy III pembrolizumab docieľil prežitie bez progresie ochorenia 10,3 mesiaca a znížil riziko progresie ochorenia oproti chemoterapii o 50 % (HR: 0,50, 95%CI: 0,37–0,68). Medián celkového prežitia pri liečbe pembrolizumabom pri sledovaní 18 mesiacov nebol docieľený, 1 rok prežilo 70 % pacientov [17]. Prebieha rozsiahly výskum celej rady nových imunoterapeutík, ich kombinácií a kombinácií s chemoterapiou, alebo cielenou liečbou. ASCO (American Society of Clinical Oncology) zaradila dva roky po sebe (2015, 2016) pokroky v imunoterapii nádorových ochorení docielené inhibítormi PD-1, PD-L1 medzi hlavné pokroky v klinickej onkológii [18,19]. Pravdepodobne v roku 2017 sa tak stane tretí krát. Moderné protinádorové lieky však nie sú lacné a nie sú vždy a všade dostupné. Z pohľadu platcov zdravotnej starostlivosti sa zdajú byť precenené, z pohľadu výrobcov liekov platcami nedocenené. Ceny moderných onkologických liekov vyvolávajú

diskusie na celom svete. Možná cesta k riešeniu je zrýchlená registrácia nových liekov regulačnými úradmi a zvýšenie konkurencie. Čo dovtedy? Myslí, že je morálnou povinnosťou platcov zdravotnej starostlivosti a výrobcov liekov rokovať a hľadať kompromisy. Na druhej strane je, myslím, morálnou povinnosťou lekárov urobiť pre pacienta všetko, čo sa dá.

LITERATÚRA

- Beržinec P. Karcinóm pľúc – od Popolušky k Šípkovej Ruženke. *Stud Pneumol Phthiseol* 2007; 67(5):183–184.
- Nolte E, MacKee M. *Caring for people with chronic conditions*. Open University Press, McGraw-Hill, Berkshire, England. Copyright ©World Health Organization 2008.
- Mok TS, Wu YL, Thongprasert S et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 2009; 361(10):947–957.
- Rosell R, Carcereny E, Gervais R et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012; 13(3):239–246.
- Sequist LV, Yang JC, Yamamoto N et al. Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol* 2013; 31(27):3327–3334.
- Yang JC, Wu YL, Schuler M et al. Afatinib versus cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol* 2015; 16(2):141–151.
- Solomon BJ, Mok T, Kim DW et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014; 371(23):2167–2177.
- Mok TS, Wu Y-L, Ahn M-J et al. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017; 376(7):629–640.
- Shaw AT, Gandhi L, Gadgeel S et al. Alectinib in ALK-positive, crizotinib-resistant, non-small cell lung cancer: a single-group, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(2):234–242.
- Barlesi F, Dingemans A-MC, Yang JC-H et al. Updated efficacy and safety from the global phase II NP28673 study of alectinib in patients (pts) with previously treated ALK+ non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol* 2016; 27(suppl.6): 1263P.
- Scagliotti G, Kim TM, Crino L et al. Ceritinib vs chemotherapy (CT) in patients (pts) with advanced anaplastic lymphoma kinase (ALK)-rearranged (ALK+) non-small cell lung cancer (NSCLC) previously treated with CT and crizotinib (CRZ): results from the confirmatory phase 3 ASCEND-5 study. *Ann Oncol* 2016; 27 (suppl. 6):LBA42.
- Planchard D, Besse B, Groen HJ et al. Dabrafenib plus trametinib in patients with previously treated BRAF(V600E) – mutant metastatic non-small cell lung cancer: an open-label, multicentre phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(7):984–993.
- Brahmer J, Reckamp KL, Baas P et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2015; 373(2):123–135.
- Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015; 373(17):1627–1639.
- Herbst RS, Baas P, Kim DW et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet* 2016; 387(10027):1540–1550.
- Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2017; 389(10066):255–265.
- Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2016; 375(19):1823–1833.
- Dizon DS, Krilov L, Cohen E et al. *Clinical Cancer Advances 2016: Annual Report on Progress Against Cancer From the American Society of Clinical Oncology*. *J Clin Oncol* 2016; 34(9) 987–1011.
- Burstein HJ, Krilov L, Aragon-Ching JB et al. *Clinical Cancer Advances 2017: Annual Report on Progress Against Cancer From the American Society of Clinical Oncology*. *J Clin Oncol* 2017; 35(12):1341–1367.

Vliv exprese vybraných protein kódujících genů a mikroRNA na riziko relapsu plicních adenokarcinomů stadia 1

M. Svatoň¹, V. Kulda², P. Mukenšnabl³, O. Topolčan⁴, M. Pešek¹,
P. Dvořák⁵, O. Fiala⁶, M. Roušarová⁷, K. Hrdá^{1,2}, M. Pešta^{5,6}

¹Klinika pneumologie a ftizeologie, ²Ústav lékařské chemie a biochemie, ³Šiklův ústav patologie, ⁴Oddělení nukleární medicíny – imunoanalytická laboratoř, ⁵Ústav biologie, ⁶Biomedicínské centrum, ⁷NOR, LF a FN Plzeň, UK Praha

SUMMARY

Advanced lung cancer – underrated or overrated advances?

Introduction: Adjuvant chemotherapy has become an integral part of treatment of radically operated patients with lung cancer stages 2, 3 and 1B larger than 4 cm. For smaller tumors (stages 1B and 1A), the benefits of this treatment have not been demonstrated for the overall patient population. However, it is known that the risk of disease recurrence following surgical removal of the tumor is not negligible. The aims were to assess the relationship between expression of selected protein-coding genes and microRNAs and disease-free interval (DFI) and overall survival (OS) in patients with early-stage lung adenocarcinoma and to try to find a possible marker of risk of disease recurrence and thus identify the patient population that might benefit from adjuvant chemotherapy.

Patients and Methods: The study included 42 patients (31 males and 11 females; all but 4 patients were smokers or ex-smokers) with radically operated stage 1A and 1B lung adenocarcinoma not receiving adjuvant chemotherapy. Expression of selected mRNAs and miRNAs was measured by quantitative RT-PCR in tumor tissues obtained by macrodissection from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue biopsies. The relationships between gene expression levels of selected mRNAs and miRNAs and DFI and OS was analyzed.

Results: In the entire set of mRNAs and microRNAs of interest, no statistically significant relationship was found between their expression and DFI or OS. In the subgroup of smokers or ex-smokers only, a significant relationship was demonstrated between the mRNA level of BRCA1 and OS.

Conclusion: Using routinely prepared FFPE tumor samples, a relationship between shorter OS and the level of BRCA1 was demonstrated in the subgroup of smokers or ex-smokers. Given the small sample size, however, the results need to be confirmed by further studies.

Keywords: NSCLC, adenocarcinoma, stage 1, prognostic factor, mRNA, miRNA

SOUHRN

Úvod: Adjuvantní chemoterapie se stala nedílnou součástí radikálně operovaných pacientů s plicními karcinomy stadií 2, 3 a dále pak i 1B větších než 4 cm. Pro menší nálezy stadií 1B a stádium 1A nebyl pro celkovou populaci pacientů prokázán přínos této léčby. Nicméně je známo, že i zde není riziko recidivy onemocnění po chirurgickém odstranění nádoru zanedbatelné. Naším cílem bylo posoudit vztah exprese vybraných protein kódujících genů a mikroRNA k době do progresu onemocnění (DFI) a celkovému přežití (OS) pacientů s plicními adenokarcinomy nízkých stadií, a pokusit se tak najít možný marker rizika recidivy onemocnění a identifikovat pacienty, kteří by mohli mít prospěch z podání adjuvantní chemoterapie.

Pacienti a metody: Naše studie zahrnovala 42 pacientů (31 mužů a 11 žen, vyjma 4 nemocných byli všichni kuřáci či bývalí kuřáci) s radikálně operovaným plicním adenokarcinomem stadií 1A a 1B bez adjuvantně podávané chemoterapie. Exprese vybraných mRNA a miRNA byla měřena pomocí kvantitativní RT-PCR v nádorové tkáni, získané makrodisekcí z formalinem fixovaných parafinových bločků (FFPE) biopsované tkáně. Byl analyzován vztah mezi hladinou genové exprese vybraných mRNA a miRNA a DFI a OS.

Výsledky: Z celkového setu mRNA a mikroRNA našeho zájmu jsme neprokázali žádný statisticky významný vztah mezi jejich expresí a DFI/OS. Pouze u podskupiny kuřáků/exkuřáků byl prokázán signifikantní vztah mezi hladinou mRNA BRCA1 a OS.

Závěr: V rutinně připravovaných FFPE nádorových vzorcích jsme prokázali vztah mezi kratším OS a hladinou BRCA1 u podskupiny kuřáků/exkuřáků. Tento výsledek je však vzhledem k malé skupině souboru nutné potvrdit dalšími studii.

Klíčová slova: NSCLC, adenokarcinom, stádium 1, prognostický faktor, mRNA, miRNA

ÚVOD

Plicní karcinom patří mezi nejčastější příčiny úmrtí na nádorová onemocnění na světě, kdy dominantní roli zaujímá nemalobuněčný plicní karcinom (NSCLC) [1]. Chirurgická resekce je zlatý standard léčby pacientů stadia 1A a 1B (dle 7. TNM klasifikace), kdy následně pětileté přežití je uváděno v rozmezí 60 až 90 %, část nemocných umírá v důsledku recidivy tumoru [1,2]. Adjuvantní léčba se v současné době řídí stadiem nemoci. Pro pacienty stadií 2–2A je doporučována adjuvantní chemoterapie (CHT) platinovým doubletem (obvykle 4 cykly cisplatiny a vinorelbinu), pro pacienty s pozitivními N2 uzlinami je možné též doplnění o postoperační radioterapii (PORT) s cílem snížit riziko lokální recidivy tumoru [3,4]. Adjuvantní CHT u těchto nemocných vedla dle dat z velkých randomizovaných studií (IALT, JBR10, ANITA, BLT) k prodloužení pětiletého přežití o 4–15 %, metaanalýza (LACE) uvádí prodloužení pětiletého přežití 5,4 % [5,6]. Ačkoliv existují práce, dokládající přínos adjuvantní CHT i u pacientů stadia 1B (někteří autoři doporučují navýšit léčbu na 6 cyklů) [7,8], v nejrespektovanější studii CALGB nebyl obecný benefit pro tyto nemocné prokázán [5]. Post-hoc analýza prokázala význam pouze u nemocných s tumorem větším než 4 cm [3]. Další snahy se proto logicky upíraly k nalezení dalších klinických (udáván vliv pohlaví, buněčné diferenciace, vaskularizace nádoru nebo výkonnostního stavu), či biologických (stanovení exprese samotných genů nebo vybraného panelu genů) parametrů, které by pomohly lépe definovat prospěch adjuvantní chemoterapie, a případně ji tak nabídnout i některým nemocným stadia 1 [1,2,9,10]. Jiné práce posuzují použití cílené léčby u vybraných nemocných místo standardní CHT – např. nadějná studie ALCHEMIST, zkoumající cílené užití tyrozinkinázových inhibitorů u pacientů s prokázanými senzitivními mutacemi genu EGFR či ALK translokacemi [11,12]. Dosud však žádný z těchto postupů nevedl k užití v klinické praxi. Naším cílem bylo zjistit možný vztah exprese některých

DNA opravných genů, ABC transportérů a vybraných mikroRNA k období bez recidivy onemocnění (DFI) a celkovému přežití (OS) u pacientů s radikálně resekovánými adenokarcinomy stadia 1 bez následně podávané adjuvantní chemoterapie, a tím najít kandidátní biomarker, který nám umožní určit skupinu pacientů, pro které může být podání adjuvantní CHT přínosné.

PACIENTI A METODY

Design studie

Retrospektivní studie zahrnovala 42 pacientů stadia 1A a 1B s histologicky ověřeným plicním adenokarcinomem s radikálním operačním řešením bez adjuvantně podávané chemoterapie, léčených na Klinice pneumologie a ftizeologie, FN Plzeň. Pacienti podstoupili operační výkon v letech 2003–2011, stadium bylo potvrzené histologickým vyšetřením plicního resekatu (včetně disekovaných lymfatických uzlin hilu a mediastina). Naším cílem bylo stanovení exprese vybraných mRNA a mikroRNA, zjištění jejich vztahu k DFI a OS, a tak se pokusit najít možný marker rizika recidivy onemocnění, který by umožnil identifikovat pacienty s horší prognózou nemoci, a ti by mohli mít prospěch z podání adjuvantní chemoterapie.

Pacienti byli pooperačně standardně sledováni, první rok byl prováděn kontrolní skiagram plic každé 3 měsíce, 2. rok každého půl roku, každý rok až do 5 let od výkonu pak standardně probíhalo CT plic+mediastina jedenkrát ročně, po 5. roce od doby resekce byl prováděn pouze skiagram plic 1x ročně, v prvních 5 letech pak u většiny nemocných (pokud nevyjádřili svůj nesouhlas) probíhala bronchoskopická kontrola s cílem vyloučit recidivu v místě pahýlu operační rány. OS bylo stanoveno jako doba přežití od operačního výkonu do úmrtí/konce sledování. DFI bylo definováno jako doba od operačního výkonu do recidivy, resp. konce sledovaného období.

Soubor pacientů

Náš soubor zahrnoval celkem 42 pacientů s mediánem věku 65 let (rozmezí 48–77 let). 31 (74 %) pacientů představovali muži, 11 (26 %) pak ženy; kuřáků bylo 18 (42,9 %), exkuřáků 20 (47,6 %) a nekuřáci 4 (9,5 %); 27 nemocných mělo stadium 1A (64 %), 15 (36 %) stadium 1B (shrnuje tabulka 1). Recidiva se objevila u 19 nemocných, 23 pacientů v době sledování recidivu nemělo. V době vyhodnocování (únor 2016) přežívalo celkem 20 pacientů (5 s recidivou a 15 bez recidivy), přičemž 8 pacientů bez recidivy zemřelo z jiného důvodu než plicního karcinomu, ve skupině s recidivou zemřelo všech 14 nemocných v souvislosti s plicním karcinomem.

Vzorky tkáně a izolace RNA

Bioptické vzorky byly odebrány během chirurgické resekce tumoru (lobektomie) a zpracovány standardními laboratorními metodami na Šiklově ústavu patologie Fakultní nemocnice Plzeň, s cílem diagnostiky tumorů – barvení hematoxylinem a eozinem (HĚ) a imunohistochemické vyšetření (pomocí p63 a TTF1). FFPE (formalinem fixované parafínové bločky) tkáňových vzorků byly skladovány při pokojové teplotě do doby analýzy. Parafínové řezy použité pro další zpracová-

Tabulka 1: Soubor pacientů

Pohlaví	muži 31 (74 %)	ženy 11 (26 %)
Kuřácký statut	ex/kuřáci 38 (90 %)	nekuřáci 4 (10 %)
Stadium	1A 27 (64 %)	1B 15 (36 %)
Recidiva	ano 19 (45 %)	ne 23 (55 %)
Přežívání 2/2016	ano 20 (48 %)	ne 22 (52 %)

ní byly opět barveny HE s cílem mikroskopicky verifikovat nádorové buňky, a jejich okrsky byly patologem vyznačeny pro následnou makrodisekci pro získání RNA. Celková RNA (včetně mikroRNA) byla extrahována soupravou miRNeasy FFPE Kit (Qiagen, Hilden, Germany) z 15 µm širokých FFPE řezů, získaných makrodisekcí dle korespondujících HE barvených sklíček, na kterých patolog vyznačil nádorovou tkáň.

Stanovení exprese vybraných protein kódujících genů

Kvantitativní stanovení mRNA vybraných genů (ABCC1, ABCC10, ABCG2, ATP7B, SLC22A1, SLC29A1, ERCC1, BRCA1) byla uskutečněna pomocí real-time RT-PCR s užitím Universal Probe Library (UPL) sond (Roche, Mannheim, Germany) v technických duplikátech na přístroji Stratagene Mx3005P (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), jak bylo publikováno dříve [163].

Stanovení exprese vybraných mikroRNA

Kvantitativní stanovení vybraných 17 mikroRNA (miR-15b, miR-21, miR-27a, miR34a, miR-99a, miR-106a, miR-107, miR-143, miR-150, miR-192, miR-211, miR-218, miR-221, miR-224, miR-342 a miR-375) bylo provedeno pomocí real-time RT-PCR metody za užití TaqMan® MicroRNA Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) v technických duplikátech na přístroji Stratagene Mx3005P (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) podle instrukcí výrobce sond. Expres RNU6B (U6snRNA) byla užitá jako normalizátor za užití tzv. Δ Ct přístupu ($2^{-\Delta$ Ct algoritmus).

Statistická analýza

Statistický software SAS verze 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) byl užit pro všechny statistické výpočty. Zhodnocení prognostické signifikance (vztah markerů k DFI a OS) bylo provedeno analýzou maximální věrohodnosti (Coxův regresní model), Kaplan-Meierovy distribuční funkce byly generovány pro signifikantní markery z Coxova modelu. Výsledky s hodnotou $p < 0,05$ byly považovány za statisticky významné.

VÝSLEDKY

Z celkového panelu protein kódujících genů a mikroRNA, které jsme stanovovali, jsme neprokázali žádný statisticky významný vztah mezi jejich expresí a DFI/OS v celkovém souboru. Pouze u podskupiny kuřáků/exkuřáků byl prokázán signifikantní vztah mezi hladinou mRNA BRCA1 a OS ($p = 0,0415$, HR = 2,23).

DISKUZE

Znalost individuálního průběhu karcinogeneze, kterou můžeme hodnotit dle konkrétních de novo mutací, nebo dle změn expresního profilu vybraných genů, by měla pomoci nejen cílit moderní léčbu, ale dle již publikovaných výsledků je nadějná i pro nádorovou diagnostiku a výběr chemoterapie [1,9,13].

Naším cílem bylo posoudit vztah exprese některých DNA opravných genů, ABC transportérů a vybraných mikroRNA k DFI a OS a pomocí nich identifikovat nemocné, kteří by mohli mít na základě tohoto vyšetření prospěch z adjuvantní chemoterapie i ve stadiu 1.

Lidský genom obsahuje geny pro 48 ABC (ATB binding cassette) transportérů, které se dělí do 7 rodin (ABCA, ABCB, ABCC, ABCD, ABCE, ABCF, ABCG). Přestože se jedná o různorodou skupinu proteinů, jejich společnou vlastností je schopnost aktivně přenášet různé látky přes membránu za spotřeby ATP. Z hlediska protinádorové léčby je významné, že některé z těchto proteinů mají schopnost exkrece toxických látek z buňky [14,15]. Na základě rešerše literatury jsme vybrali 6 genů z této skupiny ve vztahu k nádorům plic (ABCC1, ABCC10, ABCG2, ATP7B, Slc22a1, Slc29a).

ABCC1 (190 kDa) je efluxní pumpou, která patří do skupiny C transmembránových genů ABC [16]. U NSCLC byl zkoumán její vliv na rezistenci na léčbu taxany či etoposidem [17,18]. Její zvýšená exprese byla popsána na hematoencefalické bariéře, ve střevech a sliznici úst [18]. Byla pozorována její zvýšená exprese v plicích, což zřejmě souvisí s její úlohou protektivního faktoru před znečištěním ovzduší a inhalačními toxiny [18]. Její zvýšená exprese je popisována některými autory jako negativní faktor pro OS i PFS u některých druhů CHT, a dokonce i u TKI [17,18]. Roli mohou hrát i „varianty“ tohoto proteinu způsobené polymorfismy, např. SNP (single nucleotide polymorphisms) [17]. Její exprese se zdá být vyšší u dlaždicových karcinomů a stadia 1 [19]. V naší studii jsme žádný vztah k DFI či OS nezaznamenali.

ABCC10 (171 kDa) je dalším transmembránovým transportérem z rodiny C skupiny ABC efluxních pump [16,20]. Normálně je exprimována v řadě tkání, zejména v kůži, tlustém střevě a varlatech [21]. U NSCLC je pak popisována větší exprese ve srovnání s normální plicní tkání, což může mít vliv na rezistenci např. k taxanům, vinca alkaloidům či TKI [16,20,22]. Je tedy možným prognostickým/prediktivním faktorem u NSCLC. V naší studii jsme však toto neprokázali.

ABCG2 je další z rodiny ABC transportérů, který vytváří transmembránové homodimery či tetramery [23]. Tento gen, nalézající se na 4. chromozomu, je exprimován v řadě tkání, např. placentě, tenkém střevě, játrech, ledvinách, mozku či hematopoetických kmenových buňkách [24,25]. Jeho zvýšená exprese, popř. některé z polymorfismů, se dávají do souvislosti nejen s rezistencí na topotecan či platinu, ale též byl popsán vztah k EGFR-TKI i ALK inhibitorům [23,26,27,28,29,30,31]. Jinde je naopak udáván vliv gefitinibu na jeho inhibici [23,32,33]. Navíc je popisován i jeho vztah k některým nežádoucím účinkům CHT [34] či TKI [35,36]. ABCG2 protein je považován za marker kmenových buněk, které se podílejí na proliferativní aktivitě tumoru [37,38]. Proto nepřekvapí, že řada pra-

cí udává jeho vztah k prognóze pacientů s NSCLC [38,39,40,41]. U raných stadií je jeho vztah k OS sporný [42], možná v důsledku spolupůsobení dalších faktorů – udáván např. vliv CD133 [43]. Naše práce žádný vliv mezi expresí mRNA tohoto genu a DFI či OS neprokázala.

ATP7B patří do rodiny ATPáz transportujících těžké kovy – mimo jiné i měď [44]. Gen je exprimovaný především v ledvinách a játrech, kde má za úkol odstraňovat přílišné množství mědi z buněk, v játrech tak jeho mutace může vést ke vzniku Wilsonovy choroby [44]. Jeho zvýšená exprese je dávana do souvislosti s rezistencí k cisplatině u řady nádorů, včetně NSCLC, tyto vztahy jsou ale možná komplexní a nezávislé na samotné expresi ATP7B [45,46]. U NSCLC byla popsána zvýšená exprese tohoto genu, která byla spojená se sníženou diferenciací nádorových buněk [47] a horší prognózou nemocných [45,47]. Naše práce tuto asociaci neprokázala, což mohlo být způsobeno i nízkým stadiem onemocnění (publikované práce se zaměřovaly na pokročilá stadia).

Slc22a1 je transmembránový transportér exprimovaný především v játrech, ledvinách a střevě. Je spojen s efluxem řady léků a toxinů [48]. Je exprimován u řady nádorů, včetně NSCLC, kdy může souviset s chemorezistencí na některé druhy CHT a nepříznivou prognózou [49,50]. Vliv tohoto genu je u NSCLC prozatím málo prozkoumán – v jedné práci byly dávány do souvislosti jeho SNP se stupněm vyrážky u pacientů léčených EGFR-TKI [51]. V naší práci jsme pak nezaznamenali jeho vztah k prognóze.

Slc29a1 je transmembránový transportér nukleosidů a nukleosidových analog, lokalizovaný na 6. chromozomu [52]. U NSCLC byla popsána jeho deregulovaná exprese, která se může měnit i v závislosti na některých SNP [52,53,54]. Jeho zvýšená exprese je spojována s horší léčebnou odpovědí na gemcitabin [55,56]. Nebyl prokázán rozdíl mezi expresí u adenokarcinomu a dlaždicového karcinomu [57]. U pacientů léčených gemcitabinem je popisován jeho vliv na OS, nikoliv na PFS (čas do progresu). U naší skupiny pacientů nebyl žádný vztah k prognóze prokázán.

Funkcí genů ERCC1 a BRCA1, stejně jako jejich možným prognostickým/prediktivním významem u pokročilých tumorů, se zabývá náš předchozí článek [58]. Řada autorů se pak zabývala i vztahem k možné predikci odpovědi na adjuvantní chemoterapii, resp. prognóze radikálně operovaných pacientů s NSCLC, kdy některé práce naznačují možný prognostický a prediktivní potenciál, ale definitivní závěr prozatím nebyl stanoven [5,9,10]. V naší práci jsme vztah ERCC1 a BRCA1 k DFI či OS u celkového souboru nezaznamenali, ovšem v podskupině kuřáků/exkuřáků jsme prokázali signifikantní vztah exprese BRCA1 k OS. Je tedy možné, že expresí BRCA1 v nádorové tkáni ovlivňuje i kuřácký statut. Toto tvrzení je ale nutné potvrdit dalšími studiemi. BRCA1 přispívá

k opravě dvojitého zlomu DNA a dále funguje jako regulátor chemoterapií indukované apoptózy – především u antimikrotubulóznicích látek (taxany, vinca alkaloidy) [9,10]. Na toto téma vzniklo několik prací, kdy část publikací se zabývala pacienty s adjuvantní či neoadjuvantní léčbou a některé pak, stejně jako naše práce, i pacienty bez adjuvantní léčby. Taron et al. prokázali lepší efekt neoadjuvantní CHT (cisplatin + gemcitabin) u 55 pacientů s nízkou expresí BRCA1 [59]. V naší práci jsme obdobný vztah nezaznamenali, BRCA1 měla vztah pouze k OS u dlaždicových karcinomů [58]. Studie fáze III SCAT pak u 500 pacientů adjuvantně léčených v jednom rameni cisplatinou s docetaxelem a v druhém dle exprese BRCA1, buď cisplatinou + gemcitabinem (při nízké expresi BRCA1), nebo cisplatinou + docetaxelem (při střední expresi BRCA1), případně jen docetaxelem (při vysoké expresi BRCA1) nezaznamenala rozdíl v OS mezi oběma rameny [60]. Rossel et al. pak prokázali u 126 pacientů bez adjuvantní léčby (stadia 1–3) horší přežití u 40 pacientů s vyšší expresí BRCA1 (medián OS 29 měsíců) oproti 83 nemocným s nízkou expresí BRCA1 (medián OS v době vydání studie nedosažen) [61]. Další studie potvrdzovala tyto závěry u pacientů se stadii 1B–2B [62]. Sanchis et al. se pak věnovali výlučně stadiu 1, kde u 64 pacientů též neprokázali vliv exprese BRCA1 na OS, avšak vyšší exprese BRCA1 měla vztah k nižšímu DFI [63].

MikroRNA (miRNA) jsou krátké (22–24 nukleotidů), jednovláknové, nekódující RNA molekuly, které negativně regulují genovou expresi na posttranskripční úrovni prostřednictvím inhibice translace a/nebo snížením stability cílové mRNA. Tento základní biologický proces byl objeven teprve nedávno a je intenzivně studován (Andrew Fire, Craig Mello – Nobelova cena za rok 2006). Odhaduje se, že exprese až 50 % genů je ovlivněna touto cestou. Bylo identifikováno už více než 2 500 lidských miRNA (databáze miRBase). Konkrétní mikroRNA se označuje předponou miR- následovanou číslem. Jedna konkrétní miRNA může cílit stovky různých RNA transkriptů, ale i obráceně, jedna konkrétní mRNA může být cílem pro mnoho různých miRNA. Z uvedeného je tedy zřejmé, o jak komplexní regulační síť se jedná. Řada miRNA se účastní karcinogeneze, a to ovlivněním exprese tumorsupresorových genů nebo onkogenů. Tzn. některé miRNA vykazují tumorsupresorový nebo onkogenní efekt a jsou typické pro nádorové buňky. V současnosti je pro většinu onkologických onemocnění, resp. typů nádorové tkáně, znám charakteristický profil exprese molekul miRNA a je vkládána naděje, že některé najdou využití jako nádorové markery. V našem případě jsme se zajímali o mikroRNA, které hrají roli v patogenezi nádorů [64].

miR-15b byla v souvislosti s NSCLC zkoumána především jako součást možného diagnostického molekulárního panelu [13,65]. U NSCLC je popsána její zvýšená exprese [65] a korelace se stupněm

diferenciace (grade) nádoru [66]. Proto by její exprese mohla mít souvislost i s prognózou nemocných [13]. To se však u našeho souboru pacientů nepotvrdilo.

Mezi mikroRNA s onkogenním efektem patří u řady nádorů (včetně NSCLC) intenzivně studovaná miR-21, jejíž gen se nachází na 17. chromozomu [67]. Podílí se na řízení proliferace, angiogeneze, invazivity a migrace nádorových buněk, kdy je mimo jiné dávána do souvislosti s regulací EGFR, PTEN, BCL-2 či KRAS [68,69,70,71,72,73,74]. Byl popsán vztah miR-21 k odpovědi na chemoterapii jak platinovými deriváty [69,70,75,76], tak i na radioterapii [77,78]. U NSCLC je popisována její zvýšená exprese v tkáni, plazmě i séru [67,79,80,81,82,83,84], a to zejména u adenokarcinomů [68], vyšších TNM stadií [86,87] a při nižším stupni diferenciace (vyšší grade) tumoru [67]. Uplatňuje se i jako součást diagnostických panelů NSCLC včetně raných stadií [72,85,87,88,89]. Rovněž je poukazováno na její prognostický význam v jednotlivých studiích [67,75,76,81] i v metaanalýze [90]. Prognostický význam (signifikantní vztah k DFI i OS) byl popsán i u stadia I [91]. Naše práce pro tyto nemocné žádný vztah k prognóze nezaznamenala.

miR-27a se podílí na regulaci proliferace a apoptózy u řady nádorů [92]. U NSCLC je udávána její snížená koncentrace v séru a v plazmě [92,93]. V pre-miRNA i samotné miRNA bylo nalezeno několik polymorfismů, u kterých někteří autoři uvádějí vliv na OS, některé práce tento vztah neprokázaly [94,95]. V souvislosti s miR-27a je u NSCLC věnován zájem především možnému vlivu na rezistenci k EGFR-TKI cestou MET (snížená exprese miR vede ke zvýšené expresi MET) a případně SPROUTY7 (ovlivňujícího též MET) [92,96]. Ale byl zkoumán i možný vliv miR-27a na angiogenезi a rezistenci k platinovým derivátům [94]. V naší práci jsme však žádný vliv na prognózu nemocných neprokázali.

miR-34a je tumor supresorová mikroRNA, lokalizovaná na 1. chromozomu [97]. Je deregulovaná u řady tumorů – karcinomu prsu, prostaty, osteosarkomu i NSCLC [98]. K jejímu snížení může docházet jednak vlivem některých mutací, ale zejména pak epigeneticky pomocí metylace jejího promotoru [99,100]. Ovlivněním procesu reparace DNA se miR-34a podílí na citlivosti nádorové tkáně k radioterapii [96,100], dále je uváděn její vliv na účinnost EGFR-TKI díky ovlivňování drah MET a KRAS onkogenů [101,102,103,104], ale vztah je popisován i k imunitě skrze působení na NK buňky či TGFβ [105]. Rovněž se podílí na řízení apoptózy – cestou bcl2 a p53 – a proliferace nádorových buněk – cestou Rb, TGF či PDGFR [97,106,107]. Jedna práce pak, v kontrastu k předchozím publikacím, uvádí zvýšenou expresi u NSCLC [108]. U tumorů nízkých stadií je popisováno snížení u dlaždicových forem (SCC) a naopak zvýšení u adenokarcinomů [101,109]. Odlišné složení souboru pacientů tak může být vysvětlením pro zvýše-

nou expresi miR-34a u výše zmíněné práce. U NSCLC nízkých stadií byl též zmiňován vliv na prognózu pacientů [109,110]. My jsme však, podobně jako Wang et al. [111], takovýto vztah neprokázali.

miR-99a je mikroRNA s tumor supresorovým efektem, jejíž gen je lokalizován na 22. chromozomu. Je uváděna její snížená exprese ve tkáni NSCLC (ACC i SCC) [112]. Díky cílení na mTOR a řadu genů podílejících se na epiteliálně mezenchymální přeměně (EMT) inhibuje proliferaci, migraci a invazivitu NSCLC [113,114]. Lze tedy předpokládat působení této miRNA na prognózu nemocných. Takovýto závěr jsme ale v naší práci nepotvrdili.

miR-106a byla původně považována za onkogenní se zvýšenou expresí u NSCLC s vlivem na proliferaci, invazivitu a migraci nádorových buněk [115,116]. Rovněž byla její zvýšená exprese dávána do souvislosti s rezistencí na cisplatinu díky vlivu na efluxní pumpu ABCA1 [114]. Novější práce pak ukazuje i na její možný tumorsupresorový potenciál díky vlivu na autofagii tumorózních buněk [117]. Dle našich znalostí vliv na prognózu u pacientů ve stadiu I nebyl dosud zkoumán, a naše práce tuto možnou korelaci nepotvrdila.

miR-107 má tumor supresorový efekt u řady nádorů (např. karcinom žaludku, nádory hlavy a krku), kdy se podílí na řízení buněčné proliferace a apoptózy [118]. U NSCLC byla popsána též snížená exprese této mikroRNA s vlivem na buněčný cyklus a možným navozením rezistence k cisplatině [119,120]. Snížená exprese byla v práci Zhonga et al. ve vztahu ke kratšímu OS [121]. V naší práci jsme tento vztah na našem souboru pacientů stadia I nepotvrdili, což může být způsobeno odlišným vlivem této mikroRNA u různých TNM stadií NSCLC [121].

miR-143 je mikroRNA s tumor supresorovým působením, jejíž gen je lokalizován na 5. chromozomu. Hraje významnou úlohu u řady karcinomů včetně NSCLC [122,123]. Díky působení na některé onkogeny (např. KRAS, MMP-13) se podílí na regulaci buněčné proliferace, apoptózy, migrace a metastázování u NSCLC [123,124,125]. Dále je dáván vztah miR-143 do souvislosti s řízením autofagie a glykolýzy [122]. miR-143 byla rovněž zkoumána jako potenciální diagnostický marker pro NSCLC [126]. Její snížená exprese u NSCLC byla spojena s kuřáckým statutem [127], což podobně jako u našeho výsledku u BRCA1 podporuje vliv kuřáckého návyku na některé molekuly spjaté s rozvojem NSCLC. I přes značný zásah miR-143 do onkogeneze NSCLC a převahu kuřáků v našem souboru jsme nezaznamenali vztah této mikroRNA k prognóze.

Gen pro onkogenní miR-150 se nalézá na chromozomu 19. Tato mikroRNA je zvýšeně exprimována u řady nádorů včetně NSCLC (ačkoliv lze najít i práci dokládající snížení její exprese u NSCLC) [128,129]. Toho lze potenciálně využít též při

diagnostice nízkých stadií NSCLC [130]. Nicméně exprese miR-150 se zvyšuje se stoupajícím stadiem [128,131]. Mezi funkce miR-150 patří regulace apoptózy (spjata s p53) a buněčné proliferace [132,133]. Rovněž je dávana do souvislosti s toxicitou radioterapie díky ovlivňování zánětlivých cest [134]. Ačkoliv byl popsán její vztah k prognóze NSCLC [128], v našem souboru pacientů jsme tento vztah neprokázali.

Onkogenní miR-192 je zvýšeně exprimována v NSCLC [135]. Podílí se na řízení proliferace (cestou PIK3-AKT-mTOR) a apoptózy (ovlivňuje bcl-2 a p53) [136,137]. Její zvýšená exprese je uváděna jako jedna z cest rezistence k chemoterapii (zkoumán režim cisplatina-gemcitabin) [135]. V našem souboru jsme neprokázali její vztah k prognóze pacientů.

Další onkogenní mikroRNA se zvýšenou expresí u NSCLC je miR-211. Tato mikroRNA ovlivňuje buněčnou proliferaci a invazivitu nádorových buněk [138]. Je uváděna jako jeden z možných biomarkerů dlaždicového karcinomu [139], obdobný vztah u adenokarcinomu nebyl dosud zkoumán. V našem souboru jsme neprokázali její vztah k prognóze pacientů.

Tumor supresorová miR-218 vykazuje sníženou expresi ve tkáni NSCLC [140]. Její snížení může být způsobeno jednak polymorfismy genu (SNP), nebo hypermetylací jejího promotoru. Tato hypermetylace může mít souvislost s kouřením [141,142,143]. Funkčně se tato mikroRNA podílí na buněčné migraci a invazivitě [142,144]. Je udávána souvislost mezi její sníženou expresí a rezistencí na léčbu EGFR-TKI [140,145], a díky regulaci apoptózy i platinovým derivátům [146,147]. Tento tumorsupresor je dáván do souvislosti s horší prognózou pacientů s NSCLC [141,144]. Tento vztah však naše studie u souboru pacientů stadia 1 nepotvrdila.

miR-221 byla původně považována za onkogen aktivovaný pomocí MET [148]. Její zvýšená exprese u NSCLC negativně ovlivňuje inhibitory proliferace a migrace (PTEN, TIMP-3, MMP, AKT) [149]. Následně byl popsán i tumorsupresorový efekt této mikroRNA [150], přesný vliv na NSCLC tedy není dostatečně znám a patrně závisí na místním kontextu. V naší studii jsme neprokázali vliv miR-221 na prognózu našeho souboru pacientů.

miR-224 byla popisována u různých tumorů jako tumorsupresor i onkogen [151]. U NSCLC je dávana do souvislosti spíše s tumorsupresorovým efektem, tzn. její snížená exprese je spojena s horší prognózou pacientů v pokročilých stadiích [152]. Jiná práce pak dokládá vliv na OS jen u nemocných s mutací p53/KRAS [151]. Funkčně se podílí na ovlivňování proliferace, apoptózy, invazivity a migrace nádorových buněk [152,153]. Naše práce vztah miR-224 k prognóze u časných stadií tumorů neprokázala.

miR-342 vykazuje sníženou expresi v tkáni NSCLC s vlivem na proliferaci a invazivitu tumoru patrně

díky ovlivnění exprese RAP2B [154]. V naší studii jsme neprokázali vliv této mikroRNA na prognózu nemocných.

miR-375 se podílí na řízení proliferace, migrace a invazivity u řady karcinomů, vykazuje tumorsupresorový efekt [155]. Snížení exprese miR-375 může být navozeno metylací jejího promotoru [156]. U NSCLC je uváděn podíl miR-375 na rezistenci vůči CHT (cisplatina-vinorelbin), což může být způsobeno vlivem na DNA opravný gen ERCC1 [157,158]. U NSCLC je popisována snížená exprese miR-375 u ACC ve srovnání s SCC, což může být potencionálně i diagnosticky využitelné [158,159,160]. Její snížená exprese je spojena s kratším OS v několika studiích i jedné metaanalýze [155,156,161], jedna studie naopak uvádí opačnou souvislost [162]. Naše studie žádný vztah k prognóze neprokázala.

Rozdílné výsledky mezi různými studii mohou záviset jednak na rozdílné metodice stanovení a použitých cut-off pro dané markery a dále zřejmě na rozdílném zastoupení klinických skupin (stadium, pohlaví, věk, kuřácký status, PS, etnikum) pacientů v jednotlivých studiích [9]. Proto jsme se snažili v naší pilotní studii provést měření na homogenním souboru pacientů, odrážejícím reálné klinické podmínky. To však mělo za následek výrazné snížení velikosti souboru nemocných, kdy jsme nemuseli mít dostatečně velký soubor pro prokázání menších odchylek. Byla by tedy vhodná validace našich výsledků na větší multicentrické studii.

ZÁVĚR

Naším cílem bylo pokusit se najít možný marker rizika recidivy onemocnění u pacientů s plicními adenokarcinomy nízkých stadií, kteří podstoupili pouze radikální chirurgickou léčbu. Tento marker by mohl být následně využitelný pro identifikaci pacientů s nepříznivou prognózou, tzn. těch, kteří by mohli mít prospěch z podání adjuvantní chemoterapie.

V rutinních FFPE nádorových vzorcích jsme prokázali vztah mezi kratším OS a hladinou BRCA1 u podskupiny kuřáků/exkuřáků. Tento výsledek je však vzhledem k malé skupině souboru nutné potvrdit dalšími studii. V celkové skupině pacientů jsme vztah mezi expresí námi vybraných genů a DFI/OS neprokázali. V tomto kontextu tedy, dle výsledků naší studie, nelze žádný ze zkoumaných markerů považovat za vhodný indikátor podání či nepodání adjuvantní chemoterapie u resekovaných nemocných s adenokarcinomem stadia 1.

Poděkování: Tato studie byla podpořena projektem SVV-2016-260283.

LITERATURA

1. Liu CH, Peng YJ, Wang HH et al. Heterogeneous prognosis and adjuvant chemotherapy in pathological stage I non-small cell lung cancer patients. *Thorac Cancer* 2015; 6(5):620–628.
2. Kratz JR, Mann MJ, Jablons DM. International trial of adjuvant therapy in high risk stage I non-squamous cell carcinoma identified by a 14-gene prognostic signature. *Transl Lung Cancer Res* 2013; 2(3):222–225.
3. Artal Cortés Á, Calera Urquizu L, Hernando Cubero J. Adjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: state-of-the-art. *Transl Lung Cancer Res* 2015; 4(2):191–197.
4. Péchoux CL, Mercier O, Belemsagha D et al. Role of adjuvant radiotherapy in completely resected non-small cell lung cancer. *EJC Suppl* 2013; 11(2):123–130.
5. Buffoni L, Vavalà T, Novello S. Adjuvant Therapy of Resected Non-Small Cell Lung Cancer: Can We Move Forward? *Curr Treat Options Oncol* 2016; 17(10):54.
6. Pirker R. Adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res* 2014; 3(5):305–310.
7. He J, Shen J, Yang C et al. Adjuvant Chemotherapy for the Completely Resected Stage IB Non-Small Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(22):e903.
8. Morgensztern D, Du L, Waqar SN et al. Adjuvant Chemotherapy for Patients with T2N0M0 Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). *J Thorac Oncol* 2016; 8, pii: S1556-0864(16)30497-X.
9. Walleræk S, Sørensen JB. Biomarkers for efficacy of adjuvant chemotherapy following complete resection in NSCLC stages I-IIIa. *Eur Respir Rev* 2015; 24(136):340–355.
10. Massuti B, Sanchez JM, Hernando-Trancho F et al. Are we ready to use biomarkers for staging, prognosis and treatment selection in early-stage non-small cell lung cancer? *Transl Lung Cancer Res* 2013; 2(3):208–221.
11. Alden RS, Mandrekar SJ, Oxnard GR. Designing a definitive trial for adjuvant targeted therapy in genotype defined lung cancer: the ALCHEMIST trials. *Chin Clin Oncol* 2015; 4(3):37.
12. Chuang JC, Neal JW, Niu XM, Wakelee HA. Adjuvant therapy for EGFR mutant and ALK positive NSCLC: Current data and future prospects. *Lung Cancer* 2015; 90(1):1–7.
13. Hennessey PT, Sanford T, Choudhary A et al. Serum microRNA biomarkers for detection of non-small cell lung cancer. *PLoS One* 2012; 7(2):e32307.
14. Theodoulou FL, Kerr ID. ABC transporter research: going strong 40 years on. *Biochem Soc Trans* 2015; 43(5):1033–1040.
15. Hopfner KP. Invited review: Architectures and mechanisms of ATP binding cassette proteins. *Biopolymers*. 2016; 105(8):492–504.
16. Zhang H, Kathawala RJ, Wang YJ et al. Linsitinib (OSI-906) antagonizes ATP-binding cassette subfamily G member 2 and subfamily C member 10-mediated drug resistance. *Int J Biochem Cell Biol* 2014; 51:111–119.
17. Lamba JK, Fridley BL, Ghosh TM et al. Genetic variation in platinating agent and taxane pathway genes as predictors of outcome and toxicity in advanced non-small cell lung cancer. *Pharmacogenomics* 2014; 15(12):1565–1574.
18. Wangari-Talbot J, Hopper-Borge E. Drug Resistance Mechanisms in Non-Small Cell Lung Carcinoma. *J Can Res Updates* 2013; 2(4):265–282.
19. Amoêdo ND, Castelo-Branco MT, Paschoal ME et al. Expression of ABC transporters, p53, Bax, Bcl-2 in an archival sample of non-small cell lung cancer bearing a deletion in the EGFR gene. *Int J Mol Med* 2009; 23(5):609–614.
20. Huang L, Fu L. Mechanisms of resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Acta Pharm Sin B* 2015; 5(5):390–401.
21. Oguri T, Ozasa H, Uemura T et al. MRP7/ABCC10 expression is a predictive biomarker for the resistance to paclitaxel in non-small cell lung cancer. *Mol Cancer Ther* 2008; 7(5):1150–1155.
22. Anreddy N, Patel A, Sodani K et al. PD173074, a selective FGFR inhibitor, reverses MRP7 (ABCC10)-mediated MDR. *Acta Pharm Sin B* 2014; 4(3):202–207.
23. Galetti M, Petronini PG, Fumarola C et al. Effect of ABCG2/BCRP Expression on Efflux and Uptake of Gefitinib in NSCLC Cell Lines. *PLoS One* 2015; 10(11):e0141795.
24. Akasaka K, Kaburagi T, Yasuda S et al. Impact of functional ABCG2 polymorphisms on the adverse effects of gefitinib in Japanese patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66(4):691–698.
25. Han JY, Lim HS, Yoo YK et al. Associations of ABCB1, ABCG2, and ABCG2 polymorphisms with irinotecan-pharmacokinetics and clinical outcome in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Cancer* 2007; 110(1):138–147.
26. Su J, Wu S, Tang W et al. Reduced SLC27A2 induces cisplatin resistance in lung cancer stem cells by negatively regulating Bmi1-ABCG2 signaling. *Mol Carcinog* 2016; 55(11):1822–1832.
27. Kort A, Sparidans RW, Wagenaar E et al. Brain accumulation of the EML4-ALK inhibitor ceritinib is restricted by P-glycoprotein (P-GP/ABCB1) and breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2). *Pharmacol Res* 2015; 102:200–207.
28. Chen X, Chen D, Yang S et al. Impact of ABCG2 polymorphisms on the clinical outcome of TKIs therapy in Chinese advanced non-small cell lung cancer patients. *Cancer Cell Int* 2015; 15:43.
29. Chen YJ, Huang WC, Wei YL et al. Elevated BCRP/ABCG2 expression confers acquired resistance to gefitinib in wild-type EGFR-expressing cells. *PLoS One* 2011; 6(6):e21428.
30. Ohtsuka K, Ohnishi H, Morii T et al. Downregulated ABCG2 enhances sensitivity to topoisomerase I inhibitor in epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-resistant non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2010; 5(11):1726–1733.
31. Kawabata S, Oka M, Soda H Y et al. Expression and functional analyses of breast cancer resistance protein in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9(8):3052–3057.
32. Nagashima S, Soda H, Oka M et al. BCRP/ABCG2 levels account for the resistance to topoisomerase I inhibitors and reversal effects by gefitinib in non-small cell lung cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 58(5):594–600.
33. Yanase K, Tsukahara S, Mitsuhashi J, Sugimoto Y. Functional SNPs of the breast cancer resistance protein-therapeutic effects and inhibitor development. *Cancer Lett* 2006; 234(1):73–80.
34. Lamba JK, Fridley BL, Ghosh TM et al. Genetic variation in platinating agent and taxane pathway genes as predictors of outcome and toxicity in advanced non-small cell lung cancer. *Pharmacogenomics* 2014; 15(12):1565–1574.
35. Tamura M, Kondo M, Horio M et al. Genetic polymorphisms of the adenosine triphosphate-binding cassette transporters (ABCG2, ABCB1) and gefitinib toxicity. *Nagoya J Med Sci* 2012; 74(1–2):133–140.
36. Lemos C, Giovannetti E, Zucali PA et al. Impact of ABCG2 polymorphisms on the clinical outcome and toxicity of gefitinib in non-small cell lung cancer patients. *Pharmacogenomics* 2011; 12(2):159–170.
37. Phiboonchaiyanan PP, Kiratipaiboon C, Chanvorachote P. Ciprofloxacin mediates cancer stem cell phenotypes in lung cancer cells through caveolin-1-dependent mechanism. *Chem Biol Interact* 2016; 250:1–11.
38. Tang Y, Hou J, Li G et al. ABCG2 regulates the pattern of self-renewing divisions in cisplatin-resistant non-small cell lung cancer cell lines. *Oncol Rep* 2014; 32(5):2168–2174.
39. Sun J, Zhu M, Shen W et al. A potentially functional polymorphism in ABCG2 predicts clinical outcome of non-small cell lung cancer in a Chinese population. *Pharmacogenomics J* 2016; epub.

40. Kim SH, Kim MJ, Cho YJ et al. Clinical Significance of ABCG2 Haplotype-tagging Single Nucleotide Polymorphisms in Patients with Unresectable Non-Small Cell Lung Cancer Treated with First-line Platinum-based Chemotherapy. *Am J Clin Oncol* 2015; 38(3):294–299.
41. Galvani E, Peters GJ, Giovannetti E. EGF receptor-targeted therapy in non-small cell lung cancer: role of germline polymorphisms in outcome and toxicity. *Future Oncol* 2012; 8(8):1015–1029.
42. Herpel E, Jensen K, Muley T et al. The cancer stem cell antigens CD133, BCRP1/ABCG2 and CD117/c-KIT are not associated with prognosis in resected early-stage non-small cell lung cancer. *Anticancer Res* 2011; 31(12):4491–4500.
43. Li F, Zeng H, Ying K. The combination of stem cell markers CD133 and ABCG2 predicts relapse in stage I non-small cell lung carcinomas. *Med Oncol* 2011; 28(4):1458–1462.
44. Inoue Y, Matsumoto H, Yamada S et al. ATP7B expression is associated with in vitro sensitivity to cisplatin in non-small cell lung cancer. *Oncol Lett* 2010; 1(2):279–282.
45. Chen HH, Yan JJ, Chen WC et al. Predictive and prognostic value of human copper transporter 1 (hCtr1) in patients with stage III non-small cell lung cancer receiving first-line platinum-based doublet chemotherapy. *Lung Cancer* 2012; 75(2):228–234.
46. Nakagawa T, Inoue Y, Kodama H et al. Expression of copper-transporting P-type adenosine triphosphatase (ATP7B) correlates with cisplatin resistance in human non-small cell lung cancer xenografts. *Oncol Rep* 2008; 20(2):265–270.
47. Yang T, Chen M, Chen T, Thakur A. Expression of the copper transporters hCtr1, ATP7A and ATP7B is associated with the response to chemotherapy and survival time in patients with resected non-small cell lung cancer. *Oncol Lett* 2015; 10(4):2584–2590.
48. Jonker JW1, Schinkel AH. Pharmacological and physiological functions of the polyspecific organic cation transporters: OCT1, 2, and 3 (SLC22A1-3). *J Pharmacol Exp Ther* 2004; 308(1):2–9.
49. Wang Y, Yin JY, Li XP et al. The association of transporter genes polymorphisms and lung cancer chemotherapy response. *PLoS One* 2014; 9(3):e91967.
50. Lautem A, Heise M, Gräsel A et al. Downregulation of organic cation transporter 1 (SLC22A1) is associated with tumor progression and reduced patient survival in human cholangiocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2013; 42(4):1297–1304.
51. Arbitrio M, Di Martino MT, Barbieri V et al. Identification of polymorphic variants associated with erlotinib-related skin toxicity in advanced non-small cell lung cancer patients by DMET microarray analysis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2016; 77(1):205–209.
52. Wu F, Zhang J, Hu N et al. Effect of hENT1 polymorphism G-706C on clinical outcomes of gemcitabine-containing chemotherapy for Chinese non-small cell lung cancer patients. *Cancer Epidemiol* 2014; 38(6):728–732.
53. Wu JJ, Jiao SC. Expression of hENT1 and ERCC1 genes in tumor tissues non-small cell lung cancer. *Asian Pac J Trop Med* 2013; 6(11):908–911.
54. Li L, Schaid DJ, Fridley BL et al. Gemcitabine metabolic pathway genetic polymorphisms and response in patients with non-small cell lung cancer. *Pharmacogenet Genomics* 2012; 22(2):105–116.
55. De Pas TM, Toffalorio F, Giovannetti E et al. Optimizing pemetrexed-gemcitabine combination in patients with advanced non-small cell lung cancer: a pharmacogenetic approach. *J Thorac Oncol* 2011; 6(4):768–773.
56. Oguri T, Achiwa H, Muramatsu H et al. The absence of human equilibrative nucleoside transporter 1 expression predicts nonresponse to gemcitabine-containing chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett* 2007; 256(1):112–119.
57. Toffalorio F, Giovannetti E, De Pas T et al. Expression of gemcitabine- and cisplatin-related genes in non-small cell lung cancer. *Pharmacogenomics J* 2010; 10(3):180–190.
58. Svatoň M, Pešek M, Krákorová G et al. Prognostický význam ERCC1, RRM1 a BRCA1 u chirurgicky léčených pacientů s nemalobuněčným plicním karcinomem. *Studia pneumologica et phthiseologica* 2014; 74(3):85–92.
59. Taron M, Rosell R, Felip E et al. BRCA1 mRNA expression levels as an indicator of chemoresistance in lung cancer. *Hum Mol Genet* 2004; 13(20):2443–2449.
60. Massuti B, Rodriguez-Paniagua JM, Cobo Dols M et al. Results phase III trial customized adjuvant CT after resection of NSCLC with lymph node metastases SCAT: a Spanish lung cancer group trial. *J Thorac Oncol* 2015; 10(9):Supplement 2:180.
61. Rosell R, Skrzypski M, Jassem E et al. BRCA1: a novel prognostic factor in resected non-small cell lung cancer. *PLoS One* 2007; 2(11):e1129.
62. Bartolucci R, Wei J, Sanchez JJ et al. XPG mRNA expression levels modulate prognosis in resected non-small cell lung cancer in conjunction with BRCA1 and ERCC1 expression. *Clin Lung Cancer* 2009; 10(1):47–52.
63. Lafuente-Sanchis A, Zúñiga Á, Galbis JM et al. Prognostic value of ERCC1, RRM1, BRCA1 and SETDB1 in early stage of non-small cell lung cancer. *Clin Transl Oncol* 2016; 18(8):798–804.
64. Slabý O et al. *MikroRNA v onkologii*. 1. vyd. Praha: Galén 2012, s. 324.
65. Fan L, Qi H, Teng J et al. Identification of serum miRNAs by nano-quantum dots microarray as diagnostic biomarkers for early detection of non-small cell lung cancer. *Tumour Biol* 2016; 37(6):7777–7784.
66. Mairinger FD, Ting S, Werner R et al. Different micro-RNA expression profiles distinguish subtypes of neuroendocrine tumors of the lung: results of a profiling study. *Mod Pathol* 2014; 27(12):1632–1640.
67. Tian L, Shan W, Zhang Y et al. Up-Regulation of miR-21 Expression Predicate Advanced Clinicopathological Features and Poor Prognosis in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Pathol Oncol Res* 2016; 22(1):161–167.
68. Tian F, Li R, Chen Z et al. Differentially Expressed miRNAs in Tumor, Adjacent, and Normal Tissues of Lung Adenocarcinoma. *Biomed Res Int* 2016; 2016:1428271.
69. Lin L, Tu HB, Wu L et al. MicroRNA-21 Regulates Non-Small Cell Lung Cancer Cell Invasion and Chemo-Sensitivity through SMAD7. *Cell Physiol Biochem* 2016; 38(6):2152–2162.
70. Yang Y, Meng H, Peng Q et al. Downregulation of micro RNA-21 expression restrains non-small cell lung cancer proliferation and migration through upregulation of programmed cell death 4. *Cancer Gene Ther* 2015; 22(1): 23–29.
71. Xu L, Huang Y, Chen D et al. Downregulation of miR-21 increases cisplatin sensitivity of non-small cell lung cancer. *Cancer Genet* 2014; 207(5):214–220.
72. Capodanno A, Boldrini L, Proietti A et al. Let-7g and miR-21 expression in non-small cell lung cancer: correlation with clinicopathological and molecular features. *Int J Oncol* 2013; 43(3):765–774.
73. Stenvold H, Donnem T, Andersen S et al. High tumor cell expression of microRNA-21 in node positive non-small cell lung cancer predicts a favorable clinical outcome. *BMC Clin Pathol* 2014; 14(1):9.
74. Donnem T, Fenton CG, Lonvik K et al. MicroRNA signatures in tumor tissue related to angiogenesis in non-small cell lung cancer. *PLoS One* 2012; 7(1):e29671.
75. Yang Z, Fang S, Di Y et al. Modulation of NF- B/miR-21/PTEN pathway sensitizes non-small cell lung cancer to cisplatin. *PLoS One* 2015; 10(3):e0121547.
76. Wang ZX, Bian HB, Wang JR et al. Prognostic significance of serum miRNA-21 expression in human non-small cell lung cancer. *J Surg Oncol* 2011; 104(7):847–851.
77. Zhang J, Zhang C, Hu L et al. Abnormal Expression of miR-21 and miR-95 in Cancer Stem-Like Cells is Associated with Radioresistance of Lung Cancer. *Cancer Invest* 2015; 33(5):165–171.
78. Liu ZL, Wang H, Liu J et al. MicroRNA-21 (miR-21) expression promotes growth, metastasis, and chemo- or radio-

- resistance in non-small cell lung cancer cells by targeting PTEN. *Mol Cell Biochem* 2013; 372(1–2):35–45.
79. Yang C, Sun C, Liang X et al. Integrative analysis of microRNA and mRNA expression profiles in non-small cell lung cancer. *Cancer Gene Ther* 2016; 23(4):90–97.
 80. Wang Y, Chen J, Lin Z et al. Role of deregulated microRNAs in non-small cell lung cancer progression using fresh-frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded samples. *Oncol Lett* 2016; 11(1):801–808.
 81. Zhao W, Zhao JJ, Zhang L et al. Serum miR-21 level: a potential diagnostic and prognostic biomarker for non-small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(9):14759–14763.
 82. Tafsiiri E, Darbouy M, Shadmehr MB et al. Expression of miRNAs in non-small cell lung carcinomas and their association with clinicopathological features. *Tumour Biol* 2015; 36(3):1603–1612.
 83. Jiang M, Zhang P, Hu G et al. Relative expressions of miR-205-5p, miR-205-3p, and miR-21 in tissues and serum of non-small cell lung cancer patients. *Mol Cell Biochem* 2013; 383(1–2):67–75.
 84. Markou A, Sourvinou I, Vorkas PA et al. Clinical evaluation of microRNA expression profiling in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2013; 81(3):388–396.
 85. Wei J, Gao W, Zhu CJ et al. Identification of plasma microRNA-21 as a biomarker for early detection and chemosensitivity of non-small cell lung cancer. *Chin J Cancer* 2011; 30(6):407–414.
 86. Zhang JG, Wang JJ, Zhao F et al. MicroRNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Clin Chim Acta* 2010; 411(11–12):846–852.
 87. Kim JO, Gazala S, Razzak R et al. Non-small cell lung cancer detection using microRNA expression profiling of bronchoalveolar lavage fluid and sputum. *Anticancer Res* 2015; 35(4):1873–1880.
 88. Yang JS, Li BJ, Lu HW et al. Serum miR-152, miR-148a, miR-148b, and miR-21 as novel biomarkers in non-small cell lung cancer screening. *Tumour Biol* 2015; 36(4):3035–3042.
 89. Geng Q, Fan T, Zhang B et al. Five microRNAs in plasma as novel biomarkers for screening of early-stage non-small cell lung cancer. *Respir Res* 2014; 15:149.
 90. Yang M, Shen H, Qiu C et al. High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 2013; 49(3):604–615.
 91. Saito M, Schetter AJ, Mollerup S et al. The association of microRNA expression with prognosis and progression in early-stage, non-small cell lung adenocarcinoma: a retrospective analysis of three cohorts. *Clin Cancer Res* 2011; 17(7):1875–1882.
 92. Acunzo M, Romano G, Palmieri D et al. Cross-talk between MET and EGFR in non-small cell lung cancer involves miR-27a and Sprouty2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110(21):8573–8578.
 93. Heegaard NH, Schetter AJ, Welsh JA et al. Circulating micro-RNA expression profiles in early stage non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2012; 130(6):1378–1386.
 94. Xu J, Yin Z, Shen H et al. A genetic polymorphism in premiR-27a confers clinical outcome of non-small cell lung cancer in a Chinese population. *PLoS One* 2013; 8(11):e79135.
 95. Yoon KA, Yoon H, Park S et al. The prognostic impact of microRNA sequence polymorphisms on the recurrence of patients with completely resected non-small cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012; 144(4):794–807.
 96. Wang S, Su X, Bai H et al. Identification of plasma microRNA profiles for primary resistance to EGFR-TKIs in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients with EGFR activating mutation. *J Hematol Oncol* 2015; 8:127.
 97. Chakraborty S, Mazumdar M, Mukherjee S et al. Restoration of p53/miR-34a regulatory axis decreases survival advantage and ensures Bax-dependent apoptosis of non-small cell lung carcinoma cells. *FEBS Lett* 2014; 588(4):549–559.
 98. Shi Y, Liu C, Liu X et al. The microRNA miR-34a inhibits non-small cell lung cancer (NSCLC) growth and the CD44hi stem-like NSCLC cells. *PLoS One* 2014; 9(3):e90022.
 99. Zhou JY, Chen X, Zhao J et al. MicroRNA-34a overcomes HGF-mediated gefitinib resistance in EGFR mutant lung cancer cells partly by targeting MET. *Cancer Lett* 2014; 351(2):265–271.
 100. Duan W, Xu Y, Dong Y et al. Ectopic expression of miR-34a enhances radiosensitivity of non-small cell lung cancer cells, partly by suppressing the LyGDI signaling pathway. *J Radiat Res* 2013; 54(4):611–619.
 101. Hong JH, Roh KS, Suh SS et al. The expression of microRNA-34a is inversely correlated with c-MET and CDK6 and has a prognostic significance in lung adenocarcinoma patients. *Tumour Biol* 2015; 36(12):9327–9337.
 102. Zhou JY, Chen X, Zhao J et al. MicroRNA-34a overcomes HGF-mediated gefitinib resistance in EGFR mutant lung cancer cells partly by targeting MET. *Cancer Lett* 2014; 351(2):265–71.8.
 103. Zhao J, Kelnar K, Bader AG. In-depth analysis shows synergy between erlotinib and miR-34a. *PLoS One* 2014; 9(2):e89105.
 104. Stahlhut C, Slack FJ. Combinatorial Action of MicroRNAs let-7 and miR-34 Effectively Synergizes with Erlotinib to Suppress Non-Small Cell Lung Cancer Cell Proliferation. *Cell Cycle* 2015; 14(13):2171–2180.
 105. Cortez MA, Ivan C, Valdecanas D et al. PDL1 Regulation by p53 via miR-34. *J Natl Cancer Inst* 2015; 108(1). pii: djv303.
 106. Ma ZL, Hou PP, Li YL et al. MicroRNA-34a inhibits the proliferation and promotes the apoptosis of non-small cell lung cancer H1299 cell line by targeting TGF R2. *Tumour Biol* 2015; 36(4):2481–2490.
 107. Garofalo M, Jeon YJ, Nuovo GJ et al. MiR-34a/c-Dependent PDGFR- α/β Downregulation Inhibits Tumorigenesis and Enhances TRAIL-Induced Apoptosis in Lung Cancer. *PLoS One* 2013; 8(6):e67581.
 108. Franchina T, Amodeo V, Bronte G et al. Circulating miR-22, miR-24 and miR-34a as novel predictive biomarkers to pemetrexed-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer. *J Cell Physiol* 2014; 229(1):97–99.
 109. Mudduluru G, Ceppi P, Kumarswamy R et al. Regulation of Axl receptor tyrosine kinase expression by miR-34a and miR-199a/b in solid cancer. *Oncogene*. 2011 Jun 23;30(25):2888–2899.
 110. Gallardo E, Navarro A, Viñolas N et al. miR-34a as a prognostic marker of relapse in surgically resected non-small cell lung cancer. *Carcinogenesis* 2009; 30(11):1903–1909.
 111. Wang Z, Chen Z, Gao Y et al. DNA hypermethylation of microRNA-34b/c has prognostic value for stage I non-small cell lung cancer. *Cancer Biol Ther* 2011; 11(5):490–496.
 112. Chen C, Zhao Z, Liu Y, Mu D. microRNA-99a is downregulated and promotes proliferation, migration and invasion in non-small cell lung cancer A549 and H1299 cells. *Oncol Lett* 2015; 9(3):1128–1134.
 113. Yu SH, Zhang CL, Dong FS et al. miR-99a suppresses the metastasis of human non-small cell lung cancer cells by targeting AKT1 signaling pathway. *J Cell Biochem* 2015; 116(2):268–276.
 114. Song Y, Dou H, Wang P et al. A novel small-molecule compound diaporine A inhibits non-small cell lung cancer growth by regulating miR-99a/mTOR signaling. *Cancer Biol Ther* 2014; 15(10):1423–1430.
 115. Xie X, Liu HT, Mei J et al. miR-106a promotes growth and metastasis of non-small cell lung cancer by targeting PTEN. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(4):3827–3834.
 116. Ma Y, Li X, Cheng S et al. MicroRNA-106a confers cisplatin resistance in non-small cell lung cancer A549 cells

- by targeting adenosine triphosphatase-binding cassette A1. *Mol Med Rep* 2015; 11(1):625–632.
117. Rothschild SI, Gautschi O, Batliner J et al. MicroRNA-106a targets autophagy and enhances sensitivity of lung cancer cells to Src inhibitors. *Lung Cancer* 2016; pii: S0169-5002(16)30362-2.
 118. Cui J, Mo J, Luo M et al. c-Myc-activated long non-coding RNA H19 downregulates miR-107 and promotes cell cycle progression of non-small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(10):12400–12409.
 119. Zhang Z, Zhang L, Yin ZY et al. miR-107 regulates cisplatin chemosensitivity of A549 non small cell lung cancer cell line by targeting cyclin dependent kinase 8. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(10):7236–7241.
 120. Takahashi Y, Forrest AR, Maeno E et al. MiR-107 and MiR-185 can induce cell cycle arrest in human non small cell lung cancer cell lines. *PLoS One* 2009; 4(8):e6677.
 121. Zhong KZ, Chen WW, Hu XY et al. Clinicopathological and prognostic significance of microRNA-107 in human non small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(7):4545–4551.
 122. Wei J, Ma Z, Li Y et al. miR-143 inhibits cell proliferation by targeting autophagy-related 2B in non-small cell lung cancer H1299 cells. *Mol Med Rep* 2015; 11(1):571–576.
 123. Zhang N, Su Y, Xu L. Targeting PKC by miR-143 regulates cell apoptosis in lung cancer. *FEBS Lett* 2013; 587(22):3661–3667.
 124. Xia H, Sun S, Wang B et al. miR-143 inhibits NSCLC cell growth and metastasis by targeting Limk1. *Int J Mol Sci* 2014; 15(7):11973–11983.
 125. Ma Q, Jiang Q, Pu Q et al. MicroRNA-143 inhibits migration and invasion of human non-small cell lung cancer and its relative mechanism. *Int J Biol Sci* 2013; 9(7):680–692.
 126. Zeng XL, Zhang SY et al. Altered miR-143 and miR-150 expressions in peripheral blood mononuclear cells for diagnosis of non-small cell lung cancer. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126(23):4510–4516.
 127. Gao W, Yu Y, Cao H et al. Deregulated expression of miR-21, miR-143 and miR-181a in non-small cell lung cancer is related to clinicopathologic characteristics or patient prognosis. *Biomed Pharmacother* 2010; 64(6):399–408.
 128. Yin QW, Sun XF, Yang GT et al. Increased expression of microRNA-150 is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8(1):842–846.
 129. Sun Y, Su B, Zhang P et al. Expression of miR-150 and miR-3940-5p is reduced in non-small cell lung carcinoma and correlates with clinicopathological features. *Oncol Rep* 2013; 29(2):704–712.
 130. Li W, Wang Y, Zhang Q et al. MicroRNA-486 as a Biomarker for Early Diagnosis and Recurrence of Non-Small Cell Lung Cancer. *PLoS One* 2015; 10(8):e0134220.
 131. Wang DT, Ma ZL, Li YL et al. miR-150, p53 protein and relevant miRNAs consist of a regulatory network in NSCLC tumorigenesis. *Oncol Rep* 2013; 30(1):492–498.
 132. Gu XY, Wang J, Luo YZ et al. Down-regulation of miR-150 induces cell proliferation inhibition and apoptosis in non-small cell lung cancer by targeting BAK1 in vitro. *Tumour Biol* 2014; 35(6):5287–5293.
 133. Zhang N, Wei X, Xu L. miR-150 promotes the proliferation of lung cancer cells by targeting P53. *FEBS Lett* 2013; 587(15):2346–2351.
 134. Dinh TK, Fendler W, Chalubinska-Fendler J et al. Circulating miR-29a and miR-150 correlate with delivered dose during thoracic radiation therapy for non-small cell lung cancer. *Radiat Oncol* 2016; 11(1):61.
 135. Cao J, He Y, Liu HQ et al. MicroRNA 192 regulates chemo-resistance of lung adenocarcinoma for gemcitabine and cisplatin combined therapy by targeting Bcl-2. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(8):12397–12403.
 136. Jin H, Qiao F, Wang Y et al. Curcumin inhibits cell proliferation and induces apoptosis of human non-small cell lung cancer cells through the upregulation of miR-192-5p and suppression of PI3K/Akt signaling pathway. *Oncol Rep* 2015; 34(5):2782–2789.
 137. Ye M, Zhang J, Zhang J et al. Curcumin promotes apoptosis by activating the p53-miR-192-5p/215-XIAP pathway in non-small cell lung cancer. *Cancer Lett* 2015; 357(1):196–205.
 138. Ye L, Wang H, Liu B. miR-211 promotes non-small cell lung cancer proliferation by targeting SRCIN1. *Tumour Biol* 2016; 37(1):1151–1157.
 139. Pu Q, Huang Y, Lu Y et al. Tissue-specific and plasma microRNA profiles could be promising biomarkers of histological classification and TNM stage in non-small cell lung cancer. *Thorac Cancer* 2016; 7(3):348–354.
 140. Zhu K, Ding H, Wang W et al. Tumor-suppressive miR-218-5p inhibits cancer cell proliferation and migration via EGFR in non-small cell lung cancer. *Oncotarget* 2016; 7(19):28075–85.3.
 141. Wu S, Shen W, Pan Y et al. Genetic Variations in Key MicroRNAs are Associated With the Survival of Non-small Cell Lung Cancer. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94(47): e2084.
 142. Zhang C, Ge S, Hu C et al. MiRNA-218, a new regulator of HMGB1, suppresses cell migration and invasion in non-small cell lung cancer. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2013; 45(12):1055–1061.
 143. Davidson MR, Larsen JE, Yang IA et al. MicroRNA-218 is deleted and downregulated in lung squamous cell carcinoma. *PLoS One* 2010; 5(9):e12560.
 144. Hu L, Ai J, Long H et al. Integrative microRNA and gene profiling data analysis reveals novel biomarkers and mechanisms for lung cancer. *Oncotarget* 2016; 7(8):8441–8454.
 145. Wang S, Su X, Bai H et al. Identification of plasma microRNA profiles for primary resistance to EGFR-TKIs in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patients with EGFR activating mutation. *J Hematol Oncol* 2015; 8:127.
 146. Xie J, Yu F, Li D et al. MicroRNA-218 regulates cisplatin (DPP) chemosensitivity in non-small cell lung cancer by targeting RUNX2. *Tumour Biol* 2016; 37(1):1197–1204.
 147. Zarogoulidis P, Petanidis S, Kioseoglou E et al. MiR-205 and miR-218 expression is associated with carboplatin chemoresistance and regulation of apoptosis via Mcl-1 and Survivin in lung cancer cells. *Cell Signal* 2015; 27(8):1576–1588.
 148. Acunzo M, Visone R, Romano G et al. miR-130a targets MET and induces TRAIL-sensitivity in NSCLC by down-regulating miR-221 and 222. *Oncogene* 2012; 31(5):634–642.
 149. Garofalo M, Di Leva G, Romano G et al. miR-221&222 regulate TRAIL resistance and enhance tumorigenicity through PTEN and TIMP3 downregulation. *Cancer Cell* 2009; 16(6):498–509.
 150. Yamashita R, Sato M, Kakumu T et al. Growth inhibitory effects of miR-221 and miR-222 in non-small cell lung cancer cells. *Cancer Med* 2015; 4(4):551–564.
 151. Cui R, Meng W, Sun HL et al. MicroRNA-224 promotes tumor progression in nonsmall cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015; 112(31):E4288–97.
 152. Zhu D, Chen H, Yang X et al. Decreased microRNA-224 and its clinical significance in non-small cell lung cancer patients. *Diagn Pathol* 2014; 9:198.
 153. Cui R, Kim T, Fassan M et al. MicroRNA-224 is implicated in lung cancer pathogenesis through targeting caspase-3 and caspase-7. *Oncotarget* 2015; 6(26):21802–21815.
 154. Xie X, Liu H, Wang M et al. miR-342-3p targets RAP2B to suppress proliferation and invasion of non-small cell lung cancer cells. *Tumour Biol* 2015; 36(7):5031–5038.
 155. Li Y, Jiang Q, Xia N et al. Decreased expression of microRNA-375 in nonsmall cell lung cancer and its clinical significance. *J Int Med Res* 2012; 40(5):1662–1669.
 156. Yu H, Jiang L, Sun C et al. Decreased circulating miR-375: A potential biomarker for patients with non-

- small cell lung cancer. *Gene* 2013; pii: S0378-1119(13)01419-4.
157. Berghmans T, Ameye L, Willems L et al. Identification of microRNA-based signatures for response and survival for non-small cell lung cancer treated with cisplatin-vinorelbine A ELCWP prospective study. *Lung Cancer* 2013; 82(2):340-345.
158. Friboulet L, Barrios-Gonzales D, Commo F et al. Molecular Characteristics of ERCC1-Negative versus ERCC1-Positive Tumors in Resected NSCLC. *Clin Cancer Res* 2011; 17(17):5562-5572.
159. Patnaik S, Mallick R, Kannisto E et al. MiR-205 and MiR-375 microRNA assays to distinguish squamous cell carcinoma from adenocarcinoma in lung cancer biopsies. *J Thorac Oncol* 2015; 10(3):446-453.
160. Hamamoto J, Soejima K, Yoda S et al. Identification of microRNAs differentially expressed between lung squamous cell carcinoma and lung adenocarcinoma. *Mol Med Rep* 2013; 8(2):456-462.
161. Shao Y, Geng Y, Gu W et al. Prognostic significance of microRNA-375 downregulation in solid tumors: a meta-analysis. *Dis Markers* 2014; 2014:626185.
162. Yoda S, Soejima K, Hamamoto J et al. Claudin-1 is a novel target of miR-375 in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2014; 85(3):366-372.
163. Kalfert D, Pesta M, Kulda V et al. MicroRNA profile in site-specific head and neck squamous cell cancer. *Anti-cancer Res* 2015; 35(4):2455-2463.

Došlo: 27. 11. 2016

Adresa:

MUDr. Martin Svatoň
Klinika pneumologie, FN a LF UK Plzeň
dr. E. Beneše 13
305 99 Plzeň
Česká republika
e-mail: svatonm@fnplzen.cz

Cirkulujúce nádorové bunky v krvi pacienta s pľúcnym adenokarcinómom v štádiu IB – kazuistika

K. Trhanová

Oddělení patologie Krajské zdravotní, a. s., Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

SUMMARY

Circulating tumor cells in the blood of a patient with stage IB pulmonary adenocarcinoma

Lower respiratory tract cancers are the most common fatal malignancies worldwide. Despite advances in the diagnosis, surgery and therapy, further management of patients after the initial surgical removal of the tumor and adjuvant therapy is, in the context of evidence-based medicine, constantly based on detecting relapse of the disease. To monitor cancer during a period without clinically evident metastases, biological samples very likely to contain tumor cells should be repeatedly obtained. For that, peripheral blood is most suitable. A case of a 68-year-old patient with stage IB pulmonary adenocarcinoma is presented to demonstrate an experimental approach to isolation and detection of circulating tumor cells, as used in NSCLC patients at the Department of Pathology of Masaryk Hospital in Ústí nad Labem. The method is used to isolate tumor cells from the peripheral blood applying the size criterion and to culture them. The obtained cells are typed using a combination of morphometric, immunocytochemical and cytological methods routinely used in pathology centers. The survival of cells in a passage cell culture allows to maintain a good quality of the material for subsequent molecular genetic tests.

Keywords: circulating tumor cells (CTCs), minimal residual disease (MRD), pulmonary adenocarcinoma, NSCLC, morphometrics, vimentin, cytokeratins

SÚHRN

Nádorové ochorenia dolných ciest dýchacích sú celosvetovo najčastejšou smrteľnou malígnou diagnózou. Napriek pokrokom v ich diagnostike, operatívne a terapii je ďalší manažment pacientov po iniciálnom chirurgickom odstránení nádorového ložiska a adjuvantnej terapii neustále – v kontexte medicíny založenej na dôkazoch – viazaný na preukázanie relapsu ochorenia. Pre sledovanie nádorového ochorenia v období bez klinicky zrejmej metastázy je vhodný opakovane získateľný biologický materiál s vysokou pravdepodobnosťou prítomnosti nádorových buniek. Tieto podmienky najlepšie splňuje periférna krv. Na príklade 68-ročného pacienta s pulmonálnym adenokarcinómom v štádiu IB demonštrujeme experimentálny prístup k izolácii a detekcii cirkulujúcich nádorových buniek, ktorý je využívaný u pacientov s NSCLC na Oddelení patológie Masarykovej nemocnice v Ústí nad Labem. Popisovanou metodikou izolujeme nádorové bunky z periférnej krvi podľa veľkostného kritéria s následnou kultiváciou. Získané bunky sú typizované kombináciou morfometrických, imunocytochemických a cytologických metód, ktoré sa rutinne využívajú na pracoviskách patologickej anatómie. Prežívanie buniek v pasážovanej bunkovej kultúre umožňuje zachovanie dobrej kvality vstupného materiálu pre následné molekulárne-genetické vyšetrenie.

Kľúčové slová: cirkulujúce nádorové bunky (CTC), minimálne reziduálne ochorenie (MRD), pľúcný adenokarcinóm, NSCLC, morfometria, vimentín, cytokeratíny

ÚVOD

Nádorové ochorenia dolných ciest dýchacích sú celosvetovo najčastejšou smrteľnou nádorovou diagnózou [1]. Napriek pokrokom v ich diagnostike, operatívne a terapii je ďalší manažment pacientov po iniciálnom chirurgickom odstránení nádoru

a adjuvantnej terapii neustále – v kontexte medicíny založenej na dôkazoch – viazaný na preukázanie relapsu ochorenia. Cieľom kazuistiky je na prípade 68-ročného muža s pulmonálnym adenokarcinómom veľkosti 1,5 cm (klinické štádium IB) poukázať na v praxi využiteľný postup k detekcii minimálneho reziduálneho nádorového ochorenia

(minimal residual disease, MRD). V tejto fáze ochorenia perzistuje epiteliálny nádorový proces v niektorých tkanivách, či telesných tekutinách v podobe jednotlivých buniek či bunkových klastrov s rôznym potenciálom k vytvoreniu metastázy a súčasne nie je detekovateľný zobrazovacími metódami. Pred vznikom metastatického ochorenia môže dôjsť k vzostupu počtu cirkulujúcich nádorových buniek (circulating tumor cells, CTC) v krvi [2]. Demonstrujeme experimentálny prístup, ktorým boli vo vzorke periférnej krvi po separácii založenej na veľkosti buniek s využitím rutinných cytologických a imunocytochemických metód diagnostikované CTC. CTC vznikajú pasívnym odlúčením z primárneho nádoru, alebo aktívnym procesom epiteliálne-mezenchymálnej tranzície (EMT), ktorý im umožňuje správať sa podobne ako bunky mezenchymálne – pohybovať sa a prestupovať cez fyziologické bariéry (bazálne membrány, väzivové interstícium, cievna stena) [3,4].

METODIKA VYŠETRENIA CIRKULUJÚCICH NÁDOROVÝCH BUNIEK

Pacient podstúpil pľúcnu lobektómiu s regionálnou lymfadenektómiou a predoperačným odberom 8 ml nezrážanlivej krvi (skúmavky BD Vacutainer K2 EDTA). Nádorové tkanivo bolo spracované parafínovou metódou a vyhodnotené biopsie s použitím základného farbenia hematoxylinom-eozínom a imunohistochemického vyšetrenia. Krv sme filtrovali v separačnom sete MetaCell® na perforovanú polykarbonátovú membránu s pórmí priemeru 8 mikrometrov. Membrána bola uložená po dobu 10 dní v živnom médiu s obsahom fetálneho bovinného séra, roztoku kultivačného média RPMI s prídavkom penicilínu-streptomycínu a amfotericínu B. Bunková kultúra sa v priebehu kultivácie pravidelne mikroskopicky hodnotila a po dosiahnutí uspokojivej celularity sme k potvrdeniu vitality buniek aplikovali fluorescenčné farbenie (NucBlue, CellTracker), výsledok sme zhodnotili vo fluorescenčnom mikroskope. Nakoniec sme membránu ofarbili metódou DiffQuik (modifikácia metódy May-Grünwald-Giemsa) a vybranými imunocytochemickými protilátkami, ktoré sú rutinne používané k diagnostike na pracoviskách patologických a cytologických laboratórií, trvalý preparát sme cytologicky vyšetrili a 50 vitálnych buniek bolo vyhodnotených morfometricky v programe QuickPHOTO MICRO 2.3.

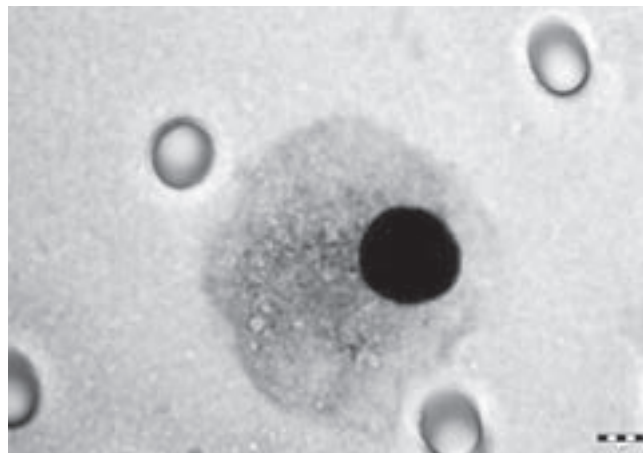
KAZUISTIKA

Prezentujeme prípad 68-ročného muža s nádorovým ložiskom veľkosti 1,5 cm v pravom dolnom pľúcnom laloku. Histologicky sa jednalo o primárne pľúcny adenokarcinóm, grade 3, so solídnym (50 %)

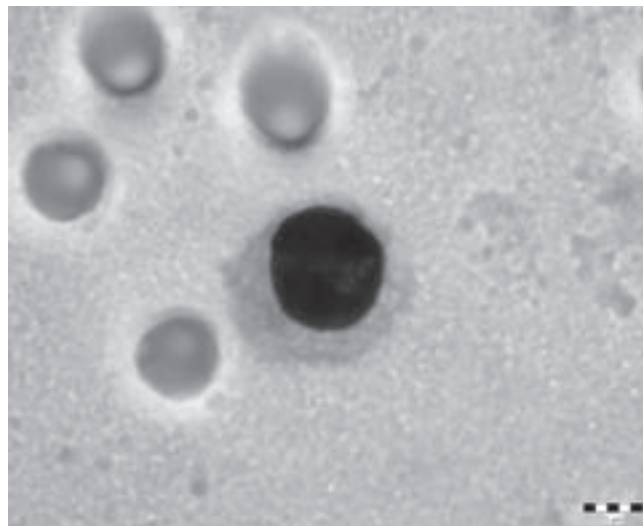
a papilárnym rastom (50 %), ktorý tvorili objemnejšie bunky so svetlou cytoplazmou, rôznou mierou posunu nukleocytoplazmatického pomeru v prospech jadra, jadernou hyperchromáziou a nerovnou nukleárnou membránou. Nádor invadoval viscerálnu pleuru, známky angio- a neuroinvázie neboli zistené. Imunohistochemický profil potvrdil diagnózu pozitívitou cytokeratínu 7, TTF-1 a napsínu A. Protilátka ALK bola negatívna. V žiadnej zo 14-tich vyšetrených regionálnych uzlín z oblastí stagingu N1 a N2 nebola zistená metastáza. Patologické štádium pacienta je pT2a N0, klinické štádium IB podľa TNM klasifikácie z r. 2011.

V kultúre filtrátu periférnej krvi sme od 2. dňa kultivácie pri natívnom pozorovaní zaznamenali

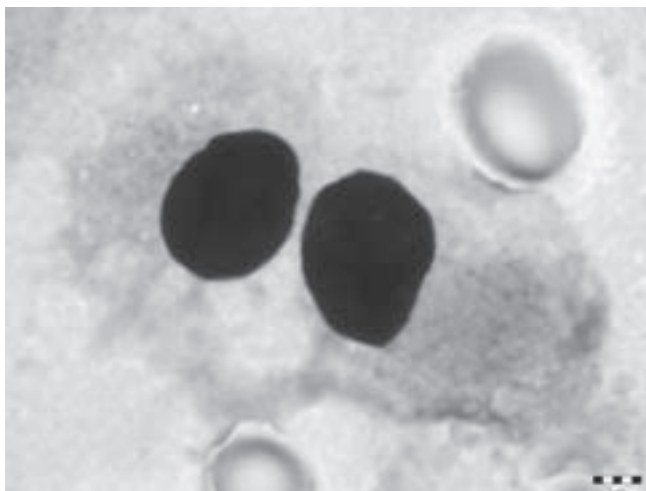
Obrázok 1: Cirkulujúca nádorová bunka z bunkovej kultúry s objemnou cytoplazmou (DiffQuik, zv. 1 000x)



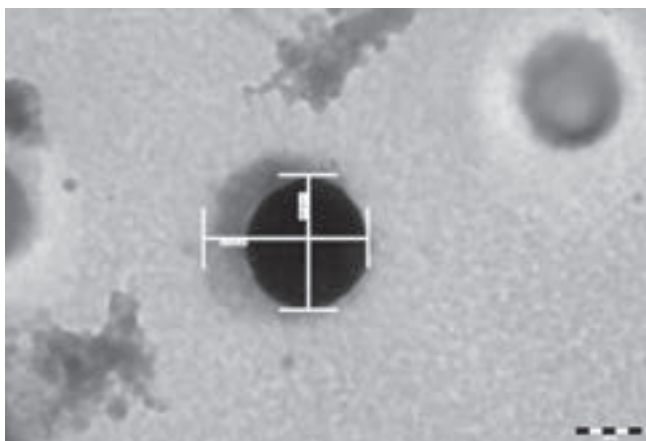
Obrázok 2: Cirkulujúca nádorová bunka z bunkovej kultúry s redukovaným objemom cytoplazmy a markantným posunom N/C pomeru v prospech jadra (DiffQuik, zv. 1 000x)



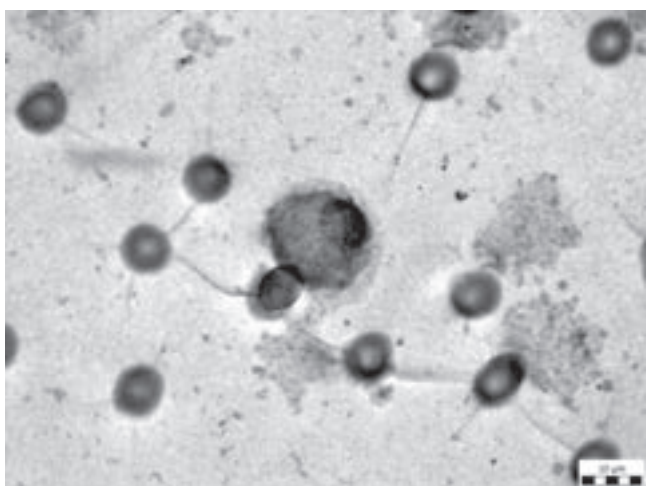
Obrázok 3: Postmitotický duplex nádorových buniek v bunkovej kultúre (DiffQuik, zv. 1 000×)



Obrázok 4: Morfometrické hodnotenie CTC. Jadro nádorovej bunky je vo svojom priemere väčšie ako 8 μm (DiffQuik, zv. 1 000×)



Obrázok 5: Imunocytochemické farbenie s CKAE1/3 je negatívne (CKAE1/3, zv. 600×)



nárast počtu buniek väčších než sú bunky fyziologicky prítomné v krvi. Po 10. dni kultivácie sme vo fluorescenčnom farbení pre vitálne bunky pozorovali početné viabilné bunky na povrchu membrány. Cytologicky sa vo farbení DiffQuik jednalo o bunečnú populáciu dvojakej morfológie.

Prvá skupina buniek mala pomerne objemnú cytoplazmu a oproti zdravým epiteliálnym bunkám i zväčšené hyperchromatické jadrá so zvlhnutou nukleárnou membránou a hrudkovitým chromatinom (obr. 1).

Druhá skupina buniek má rovnaké nukleárne kvality ako skupina prvá, líši sa v množstve cytoplazmy, ktorá je podstatne menej objemná (obr. 2). Toto má za následok cytologicky i morfometricky markantný posun nukleoplazmatického pomeru (tzv. N/C pomer; N/C ratio), ktorý je všeobecne jednou z kľúčových diagnostických známkou malígnych buniek. V preparáte neboli krvné bunky, pretože erytrocyty a časť leukocytov prestúpili pórmí membrány, kým leukocyty väčšie ako 8 μm v priebehu niekoľkých dní kultivácie prekročili dobu fyziologického prežívania, čo viedlo k bunčnej smrti. Fokálne sme zaznamenali mitózy, postmitotické celularné duplexy a apoptotické telieska (obr. 3).

Morfometrické parametre v rozsahu od najmenšieho po najväčší pre každú meranú veličinu vybraného súboru buniek a priemerná hodnota veličiny sú nasledovné: priemer jadra 8–13 μm (9,8 μm); priemer bunky 12–29 μm (19,2 μm); plocha jadra 39–100 μm² (64,4 μm²) a plocha bunky 89–516 μm² (259 μm²); nukleocytoplazmatický pomer 0,12–1,15 (0,46). Všetky hodnotené bunky mali priemer jadra ≥ 8 μm. 36 % hodnôt N/C pomerov je ≥ 0,5 a 10 % N/C pomerov je ≥ 1,00 t.j. 10 % buniek s nukleárnymi znakmi malignity spĺňa i všeobecne prijímanú morfometrickú dogmu cytologickej diagnózy malignity – veľkosť jadra presahuje veľkosť cytoplazmy (obr. 4).

Po zhodnotení morfometrických parametrov sme membránu rozdelili a ofarbili bunky v každom segmente imunocytochemicky. Žiadna z buniek nebola pozitívna vo farbení s cytokeratínmi AE1/AE3 (klon AE1/AE3, 1 : 50, Dako) (obr. 5), ale zaznamenali sme pozitívny výsledok s vimentínom (klon Vim 3B4, 1 : 200, Dako) (obr. 6). Všetky ďalšie vyšetrené markery t.j. CD68 (klon KP1, 1 : 100, Dako), CK7 (klon OV-TL12/30, 1 : 100, Dako), TTF-1 (klon SPT24, 1 : 100, Leica), napsín A (MRQ60, pripravené k použitiu bez riedenia, Cell Marque), CD34 (QBEnd10, 1 : 100, Dako) a p63 (4A4, 1 : 50, Zytomed) boli negatívne.

DISKUSIA

Nádorové ochorenia dolných ciest dýchacích sú celosvetovo najčastejšou smrteľnou nádorovou diagnózou [1]. Napriek pokrokom v ich diagnostike, operatívne a terapii je ďalší manažment pacientov po iniciálnom chirurgickom odstránení nádoru

a adjuvantnej terapii neustále – v kontexte medicíny založenej na dôkazoch – viazaný na preukázanie relapsu ochorenia. Na premetastatickej úrovni sa nástrojom rutinného sledovania minimálneho reziduálneho ochorenia (MRD) môže v budúcnosti stať diagnostika cirkulujúcich nádorových buniek (CTC), t.j. nádorových buniek v periférnej krvi. V tejto fáze ochorenia perzistuje epiteliálny nádorový proces v niektorých tkanivách či telesných tekutinách v podobe jednotlivých buniek, či bunkových klastrov s rôznym potenciálom k vytvoreniu metastázy a súčasne nie je detekovateľný zobrazovacími metódami. Pred vznikom metastatického ochorenia môže dôjsť k vzostupu počtu CTC v krvi [2]. Na blížiaci sa relaps tak môže poukázať zvýšený počet CTC v jednotke vyšetrenej krvi, ktorý sa stanovuje kvantitatívne, alebo dôkaz nádorových buniek v krvi pacienta, ktorému po predchádzajúcej terapii žiadne nádorové bunky v periférnej krvi diagnostikované neboli.

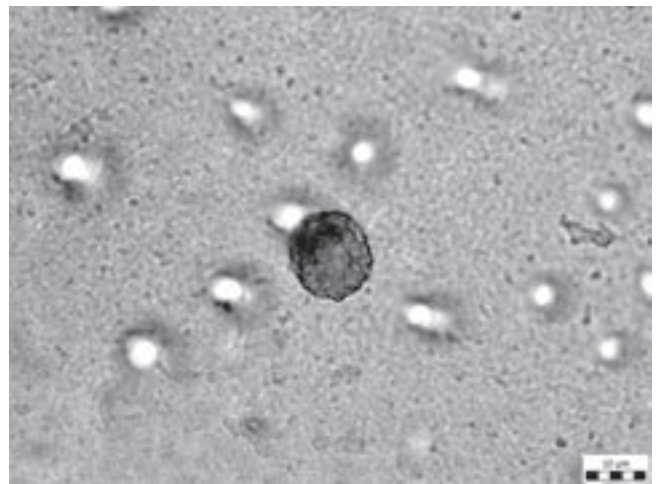
Pre sledovanie nádorového ochorenia v období bez klinicky zrejmej metastázy je vhodný opakovane získateľný biologický materiál s vysokou pravdepodobnosťou prítomnosti nádorových buniek. Tieto podmienky najlepšie splňuje periférna krv. CTC vznikajú pasívnym odlúčením z primárneho nádoru, alebo aktívnym procesom epiteliálne-mezenchymálnej tranzície (EMT), ktorý im umožňuje správať sa podobne ako bunky mezenchymálne – pohybovať sa a prestupovať cez fyziologické bariéry (bazálne membrány, väzivové interstícium, cievná stena) [3,4]. Po EMT strácajú CTC úplne, alebo čiastočne expresiu cytokeratínov a EpCAM, objavuje sa u nich expresia vimentínu [3,5]. Bunky, ktoré podstúpili EMT, sú na rozdiel od pasívne odlúčených nádorových epitelových buniek prispôbené na prežitie a delenie v krvnom prostredí a predstavujú bunkový korelát MRD v krvi.

Izolácia CTC z periférnej krvi je dnes možná mnohými spôsobmi. Väčšina z nich má spoločné, že bunky izolovaný proces neprežívajú. V súčasnosti jediný prístroj na izoláciu CTC, schválený i americkým úradom FDA (Food and Drug Administration) pre klinické použitie u karcinómov prsníka, čreva a prostaty je CellSearch® (Veridex) [6]. Prístroj izoluje bunky, ktoré na svojom povrchu exprimujú antigén EpCAM, cytokeratíny 8, 18 a/alebo 19 a neexprimujú antigén CD45, typický pre bunky bielej krvnej rady [7]. Detekcia je nezávislá na veľkosti buniek a dokáže vyhodnotiť ich počet [8]. S použitím prístroja boli publikované práce o meniacom sa počte nádorových buniek v krvi v súvislosti s nasadením chemoterapie, či jej zlyhaním ako i o celkovom prežívaní a prežívaní bez známok progresie u nemalobunkového i malobunkového karcinómu pľúc [2,9], ale i karcinómu mliečnej žľazy, hrubého čreva a prostaty [10,11, 12]. V porovnávacej štúdií s izolačnou metódou ISET®, u ktorej je separácia buniek založená na veľkostnom kritériu a následnom potvrdení pôvodu buniek imunohistochemicky, alebo metódami

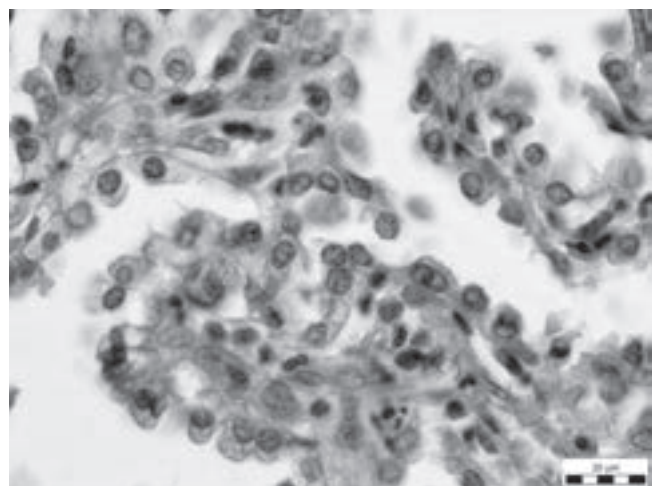
molekulárnej biológie a genetiky, sa zistilo, že CellSearch® zachytí v krvi pacienta s NSCLC štádia III a IV menej nádorových buniek, pretože nedetekuje bunky s dokonanou epiteliálne-mezenchymálnou premenou, ktoré neexprimujú EpCAM či cytokeratíny, ale len vimentín. Počet vimentín-pozitívnych a zároveň cytokeratín-negatívnych buniek pritom u niektorých pacientov prevyšoval počet buniek diagnostikovaných prístrojom CellSearch® [8]. Detekcia CTC podľa veľkostného kritéria sa tak u NSCLC zdá byť výhodnejšia pre možnosť zachytu väčšieho počtu buniek.

Separácia CTC použitím MetaCell® je založená na veľkostnom kritériu a následne umožňuje hodnotiť bunky cytologicky, imunocytochemicky alebo molekulárnymi metódami. Prežívanie a množenie pa-

Obrázok 6: Pozitívny výsledok imunocytochémie s vimentínom (vimentín, zv. 600x)



Obrázok 7: Morfológia buniek v primárnom papilárnom adenokarcinóme pľúc je obdobná ako v bunkovej kultúre (HE, zv. 400x)



sážovaných buniek poskytuje dostatok opakovane použiteľného materiálu pre ďalšie vyšetrenia a výskum CTC.

Cytologickým vyšetrením charakterizujeme mieru nukleárných atypií a posudzujeme možnú malignitu bunky. U dobre diferencovaných adenokarcinómov pľúc sú CTC často i po niekoľkých rokoch trvania ochorenia morfológicky podobné bunkám v primárnom nádore [13]. I v popisovanej kazuistike vykazovala hodnotená bunečná populácia cytologické znaky obdobné ako v primárnom adenokarcinóme, pre ktorý je typický vyšší podiel cytoplazmy (obr. 7). V kombinácii s výsledkami morfometrického hodnotenia umožňuje tento detekčný prístup detekovať CTC i u pľúcneho adenokarcinómu v klinickom štádiu IB. Medzi ukazatele predikujúce rekurenciu v tomto štádiu ochorenia patrí i invázia nádoru do viscerálnej pleury, ktorá bola v tomto prípade zaznamenaná [14]. Pacient po resekcii primárneho nádoru nebol indikovaný k adjuvantnej liečbe a v súčasnosti prežíva dva roky bez klinických známk relapsu ochorenia. Keďže sa v jeho krvi už predoperačne vyskytovali nádorové bunky s dokonanou EMT schopné proliferovať i ex vivo v neprítomnosti primárneho nádoru, nie je možné v tomto prípade považovať lobektómiu s lymfadenektómiou za kurabilný výkon. 5-ročné prežívanie je pre NSCLC štádia I dokumentované medzi 58–73 % [15], rekurencia sa pohybuje medzi 25–40 % prípadov [6].

Diagnostika prítomnosti CTC je potenciálnym zdrojom informácií pre modifikáciu stratégie onkologickej terapie. Včasnejšia detekcia a eliminácia metastatických buniek môže viesť k zníženiu mortality na nádorové ochorenia [16]. Efektívne využitie detekcie CTC však vyžaduje znalosť limitov výsledkov vyšetrenia. Používané metódy v závislosti od detekčného prístupu môžu slúžiť k sledovaniu MRD alebo upozorniť na blížiaci sa relaps ochorenia. Molekulárne-genetické metódy dnes umožňujú u nukleových kyselín izolovaných z CTC stanoviť expresiu génov chemorezistencie [17] či v prípade adenokarcinómu pľúc mutácie génu EGFR [18] s cieľom optimalizovať terapiu. Výsledok analýzy prezentuje mutačný profil časti klonálnych komponent nádoru a neposkytuje informáciu o celej heterológnej nádorovej populácii, preto ho nie je možné považovať za adekvátnu náhradu vyšetrenia z bioptického/cytologického materiálu. Keďže rekurencia u štádií IA NSCLC, ktoré všeobecne nie sú indikované k pooperačnej adjuvantnej chemoterapii a rádioterapii [19], sa pohybuje medzi 25–40 %, Crosbie et al. sa domnievajú, že sú potrebné prognostické markery k stratifikácii high-risk pacientov IA štádia, potenciálne profitujúcich z adjuvantnej liečby [6]. Možnosť, že by sa týmto markerom mohli stať CTC, si však vyžaduje ďalšie overenie na štatisticky relevantnom súbore pacientov. V neposlednom rade je izolácia CTC cenným nástrojom výskumu biológie nádorových chorôb.

ZÁVER

Použitím separačného setu MetaCell® je možné detekovať CTC pľúcneho adenokarcinómu štádia IB v periférnej krvi. Detekcia CTC podľa veľkostného kritéria sa u NSCLC zdá byť výhodnejšia než detekcia závislá na expresii epiteliálnych markerov pre možnosť záchytu väčšieho počtu buniek. Autorka sa domnieva, že v súčasnosti je najväčším limitom rutinného využitia detekcie CTC v praxi efektivita dostupných chemoterapeutických prípravkov a biologickej liečby. Diagnostika prítomnosti CTC je potenciálnym zdrojom informácií pre modifikáciu stratégie onkologickej terapie.

LITERATÚRA

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013. <http://globocan.iarc.fr>.
2. Krebs MG, Sloane R, Priest L et al. Evaluation and Prognostic Significance of Circulating Tumor Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29(12):1556–1563.
3. Joosse SA, Gorges TM, Pantel K. Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells. *EMBO Mol Med* 2014; 7(1):1–11.
4. Boyer B, Thiery JP. Epithelium-mesenchym interconversion as example of epithelial plasticity. *APMIS* 1993; 101(4): 257–268.
5. Joosse SA, Hannemann J, Spotter J et al. Changes in keratin expression during metastatic progression of breast cancer: impact on the detection of the circulating tumor cells. *Clin Cancer Res* 2012; 18:993–1003.
6. Crosbie PAJ, Shah R, Summers Y et al. Prognostic and predictive biomarkers in early stage NSCLC: CTCs and serum/plasma markers. *Transl Lung Cancer Res* 2013; 2(5): 382–397.
7. CELLSEARCH® Circulating Tumor Cell Kit (Epithelial) Instructions for Use. Janssen Diagnostics, LLC [Internet]; 2015. <https://www.cellsearchctc.com/sites/default/files/docs/JDXUSA-CSH-1014-0002c-CELLSEARCH-CTC-Test-Brochure.pdf>.
8. Krebs MG, Hou J, Sloane R. et al. Analysis of Circulating Tumor Cells in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Using Epithelial Marker Dependent and -Independent Approaches. *Journal of Thoracic Oncology* 2012; 7(2): 306–315.
9. Hou JM, Krebs MG, Lancashire L et al. Clinical Significance and Molecular Characteristics of Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor Microemboli in Patients with Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30:525–532.
10. Smerage JB, Barlow WE, Hortobagay GN et al. Circulating Tumor Cells and Response to Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer: SWOG S0500. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3483–3489.
11. Cohen SJ, Punt CJA, Iannotti N et al. Relationship of Circulating Tumor Cells to Tumor Response, Progression-Free Survival, and Overall Survival in Patients with Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 26:3213–3221.
12. de Bono JS, Scher HI, Montgomery RB et al. Circulating Tumor Cells Predict Survival Benefit from Treatment in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14(19).
13. Marrinucci D, Bethel K, Lutgen M et al. Circulating Tumor Cells from Well-Differentiated Lung Adenocarcinoma

- Retain Cytomorphologic Features of Primary Tumor Type. Arch Pathol Lab Med 2009; 133(9):1468–1471.
14. Uramoto H, Tanaka F. Recurrence after surgery in patients with NSCLC. Transl Lung Cancer Res 2014; 3(4): 242–249.
15. Goldstraw P, Crowley J, Chansky K et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM Classification of malignant tumours. J Thorac Oncol 2007; 2:706–714.
16. Alix-Panabie C, Pantel K. Circulating Tumor Cells: Liquid Biopsy of Cancer. Clin Chem 2013; 59:1110–1118.
17. Kolostova K, Pinkas M, Jakabova A et al. Molecular characterization of circulating tumor cells in ovarian cancer. Am J Cancer Res 2016; 6(5):973–980.
18. Sundaresan TK, Sequist LV, Heymach JV et al. Detection of T790M, the Acquired Resistance EGFR Mutation, by Tumor Biopsy versus Noninvasive Blood-Based Analyses. Clin Cancer Res 2016; 22(5).
19. Skříčková J, Pešek M, Kolek V, Šlampa P, Zatloukal P, Peštal A et al. Klinický standard komplexní péče o pacienty s bronchogenním nemalobuněčným karcinomem plic 2016; <http://www.pneumologie.cz/guidelines/>

Došlo: 12. 1. 2017

Adresa:

MUDr. Kristína Trhanová

Oddělení patologie Krajské zdravotní, a. s.

Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

Sociální péče 3316/12A

40113 Ústí nad Labem

Česká republika

e-mail: kristina.trhanova@seznam.cz

Poruchy rovnováhy u nemocných s chronickou obstrukční plicní nemocí

K. Neumannová¹, Z. Svoboda², J. Zatloukal³, V. Sedlák⁴, M. Plutinský⁵,
L. Bizovská², M. Janura², V. Koblížek⁴

¹Katedra fyzioterapie, Fakulta tělesné kultury, Univerzita Palackého, Olomouc;

²Katedra přírodních věd v kinantropologii, Fakulta tělesné kultury, Univerzita Palackého, Olomouc;

³Klinika plicních nemocí a tuberkulózy, Fakultní nemocnice, Olomouc;

⁴Plicní klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové;

⁵Klinika nemocí plicních a tuberkulózy, Fakultní nemocnice, Brno

SUMMARY

Balance disorders in patients with chronic obstructive pulmonary disease

There is emerging evidence showing that patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) have a significant deficit in postural control which may negatively influence a patient's ability to maintain stability and balance. It is important to note that this ability is critical for a patient's functional independence in the activities of daily living and for avoiding falls. Balance impairments in patients with COPD may increase the risk of falls. The increased number of falls in these patients may result in serious health complications. Impaired postural control and low levels of physical activity pose an increased risk for hospital admissions. For these reasons, it is very important to recognize balance impairments as soon as possible to reduce the risk of falls and other serious health complications. It is necessary to increase the awareness of postural deficits in COPD patients for extending the standard evaluation and include postural training into comprehensive treatment of these patients to decrease the risk of falls.

Keywords: balance, postural stability, fall

SOUHRN

Nedostatečná posturální kontrola stoje může u nemocných s chronickou obstrukční plicní nemocí (CHOPN) negativně ovlivnit pacientovu schopnost udržet stabilitu a rovnováhu. Udržení rovnováhy je klíčové pro nezávislost vykonávání aktivit denního života a pro předcházení pádů. Poruchy rovnováhy u nemocných s CHOPN zvyšují riziko pádů. Pády a nedostatečná úroveň pohybových aktivit mohou mít vliv na další závažné zdravotní komplikace, které mohou způsobovat zvýšený počet hospitalizací takto nemocných. Proto je důležité rozpoznat poruchy rovnováhy včas, aby riziko pádů a dalších zdravotních komplikací bylo co nejvíce sníženo. Je nezbytné, aby se na možný výskyt poruch rovnováhy u takto nemocných myslelo a poruchy rovnováhy u nich byly cíleně vyšetřovány. Pro snížení rizika pádů by bylo vhodné rozšířit komplexní léčbu také o posturální trénink.

Klíčová slova: rovnováha, posturální stabilita, pád

ÚVOD

Chronická obstrukční plicní nemoc (CHOPN) je spojená nejen s postižením dýchacího systému, ale způsobuje i další orgánové postižení [1]. Mimo plicní projevy CHOPN postihují také pohybový systém. Dochází ke změně typu svalových vláken, hypotrofii svalů, snížené svalové kapilaritě, sníženému počtu mitochondrií a k redukované kapacitě oxidativních enzymů [2,3]. Tyto změny postihují končetinové a trupové svaly i svaly dýchací, což může mít negativní vliv na vykonávání pohybových aktivit z důvodu snížené svalové síly, vyššího vý-

skytu svalové únavy a bolestí v pohybovém systému [4]. U pacientů s CHOPN byla také potvrzena dysfunkce somatosenzorických receptorů trupového svalstva, které neposkytují dostatečné informace pro udržování stability. To vše pak může nepříznivě ovlivnit výskyt poruch rovnováhy a zvýšit riziko pádu u takto nemocných osob [5,6,7,8].

CÍL

Cílem naší studie bylo zjistit výskyt subjektivních poruch rovnováhy u nemocných s CHOPN

a posoudit, zda subjektivní poruchy rovnováhy mají vliv na posturální stabilitu jejich stoje.

MATERIÁL A METODIKA

Do studie byli zařazeni náhodně vybraní pacienti s CHOPN z České multicentrické výzkumné databáze CHOPN z registru České pneumologické a ftizeologické společnosti ČLS JEP. Jednalo se o pacienty, kteří byli léčeni ve Fakultních nemocnicích Hradec Králové, Olomouc a Brno a kteří souhlasili se zařazením do studie. Studie byla schválena jednotlivými etickými komisemi participujících center.

Kritériem pro výběr byla stabilní fáze CHOPN bez exacerbace v posledních šesti týdnech. Vylučovacím kritériem bylo: dekompenzované kardiovaskulární onemocnění, přítomnost závažných bronchiectázií, poruchy mobility, onemocnění pohybového systému a ostatní mimoplicní onemocnění, která by mohla ovlivnit vyšetření rovnováhy.

U všech probandů byly nejprve vyšetřeny plicní funkce (spirometrie a bodyplety smografie) a bylo provedeno klidové EKG. Dále byla zaznamenána klidová hodnota saturace hemoglobinu kyslíkem (SpO_2). Následovalo odebrání základní anamnézy, během které byl u probandů zjišťován subjektivní výskyt poruch rovnováhy. Pacienti byli dotázáni, zda se u nich vyskytl v posledních třech měsících pád nebo časté zakopávání ($> 3 \times$ týdně). Posturální stabilita stoje o úzké bázi se zrakovou kontrolou byla vyšetřena pomocí dvou tenzometrických plošin Kistler 9286AA (Kistler Instrumente AG, Winterthur, Švýcarsko). Stoj o úzké bázi byl měřen v délce trvání 30 sekund a celkem bylo testování provedeno třikrát. Pacienti byli instruováni, aby stáli s chodidly co nejbližší u sebe a aby sledovali během měření značku umístěnou na stěně před sebou a udrželi stoj co nejvíce stabilní. Pro hodnocení stability byly použity parametry pohybu působící reakční síly (COP), charakterizované velikostí směrodatné odchylky v mediolaterálním (SD X) a anteroposteriorním směru (SD Y), rychlost COP v obou směrech (vX a vY), celková rychlost COP (v) a celková plocha výchylek (COParea). Pro sledované proměnné byly vypočítány základní statistické charakteristiky. K porovnání proměnných mezi skupinami jsme použili nepárový t-test. Statisticky významné rozdíly u jednotlivých sledovaných proměnných byly hodnoceny na hladině statistické významnosti $\alpha = 0,05$.

VÝSLEDKY

Poruchy rovnováhy a posturální stabilita stoje byly vyšetřeny u 22 osob s CHOPN (tabulka 1). U devíti pacientů se vyskytovalo stadium nemoci 2 dle GOLD, u jedenácti pacientů stadium 3 a u dvou pacientů stadium 4. Osm pacientů mělo kategorii

nemoci B, tři pacienti měli kategorii C a u jedenácti pacientů byla stanovena kategorie D. U třinácti pacientů se vyskytoval bronchitický fenotyp a devět pacientů mělo potvrzený emfyzematický fenotyp CHOPN.

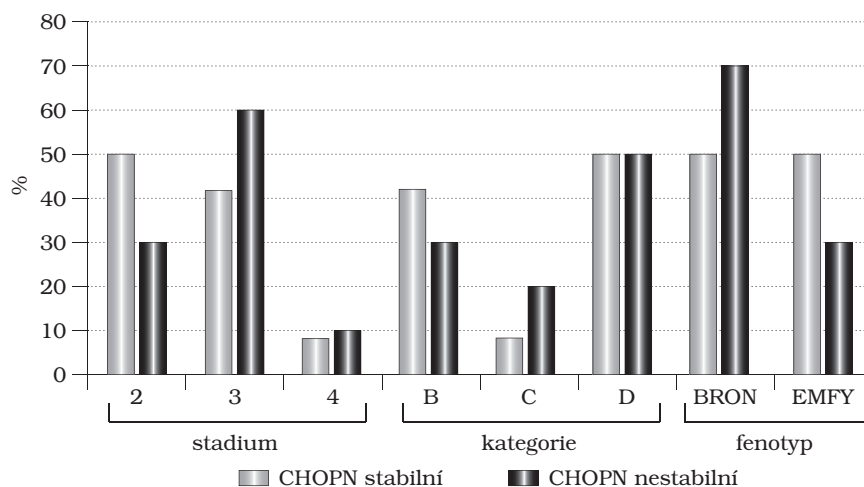
U 12 osob s CHOPN se v posledních třech měsících nevyskytl pád ani časté zakopávání. U 10 osob se vyskytly subjektivní poruchy rovnováhy spojené s častým zakopáváním. U tří z těchto pa-

Tabulka 1: Charakteristika souboru (průměr \pm směrodatná odchylka)

Proměnná	CHOPN (n = 22)
věk (roky)	65,9 \pm 5,9
pohlaví	7 žen, 15 mužů
Body mass index	29,5 \pm 5,8
FVC (l)	2,5 \pm 0,7
FVC (% n.h.)	71,2 \pm 13,5
FEV ₁ (l/s)	1,4 \pm 0,5
FEV ₁ (% n. h.)	49,5 \pm 14,8
FEV ₁ /VC	50,9 \pm 10,6
SpO ₂ (%)	93,3 \pm 1,6

Vysvětlivky: FVC – usilovná vitální kapacita, FEV₁ – usilovně vydechnutý objem za 1 s, n. h. – náležitá hodnota normy, SpO₂ – saturace hemoglobinu kyslíkem

Obrázek 1: Stadium, kategorie a fenotyp CHOPN u skupiny CHOPN stabilní a CHOPN nestabilní



Vysvětlivky: BRON – bronchitický fenotyp, EMFY – emfyzematický fenotyp

Tabulka 2: Porovnání základních parametrů skupiny CHOPN stabilní a skupiny CHOPN nestabilní (průměr ± směrodatná odchylka)

Proměnná	CHOPN stabilní (n = 12)	CHOPN nestabilní (n = 10)	p
věk	65,3 ± 5,7	66,6 ± 6,5	0,632
pohlaví	4 ženy, 8 mužů	3 ženy, 7 mužů	–
Body mass index	27,9 ± 5,7	31,5 ± 5,3	0,145
FVC (l)	2,6 ± 0,7	2,3 ± 0,6	0,405
FVC (% n. h.)	75,4 ± 15,7	66,2 ± 8,3	0,111
FEV ₁ (l/s)	1,4 ± 0,6	1,3 ± 0,4	0,615
FEV ₁ (% n. h.)	50,6 ± 16,8	48,2 ± 12,8	0,718
FEV ₁ /VC	49,7 ± 11,6	52,5 ± 9,75	0,555
SpO ₂ (%)	93,7 ± 1,8	92,9 ± 1,3	0,278

Vysvětlivky: FVC – usilovná vitální kapacita, FEV₁ – usilovně vydechnutý objem za 1 s, n. h. – náležitá hodnota normy, SpO₂ – saturace hemoglobinu kyslíkem, p – hladina statistické významnosti

Tabulka 3: Posturální stabilita ve stoji o úzké bázi u skupin CHOPN stabilní a CHOPN nestabilní

Proměnná	CHOPN stabilní	CHOPN nestabilní	p
SD X (cm)	0,38 ± 0,11	0,48 ± 0,09	0,028
SD Y (cm)	0,42 ± 0,14	0,52 ± 0,13	0,095
vX (cm/s)	1,09 ± 0,40	1,30 ± 0,31	0,193
vY (cm/s)	1,19 ± 0,31	1,72 ± 0,96	0,089
v (cm/s)	1,81 ± 0,45	2,41 ± 0,94	0,064
COP _{area} (cm ²)	1,91 ± 0,81	3,02 ± 1,17	0,015

Vysvětlivky: SD X – velikost směrodatné odchylky COP v mediolaterálním směru, SD Y – velikost směrodatné odchylky COP v anteroposteriorním směru, vX – rychlost COP v mediolaterálním směru, vY – rychlost COP v anteroposteriorním směru, v – celková rychlost COP, COP_{area} – celková plocha výchylek COP

cientů byl v posledních třech měsících zaznamenán pád.

Pro podrobnější možnost analýzy, zda subjektivní poruchy rovnováhy ovlivňují posturální stabilitu stoje, byl soubor CHOPN pacientů rozdělen na dvě skupiny (tabulka 2, obrázek 1). Do první skupiny byli zařazeni nemocní s CHOPN, kteří neudávali subjektivní poruchy rovnováhy. Tato skupina byla označena jako CHOPN stabilní. Skupina nemocných s CHOPN, u které se vyskytl během posledních tří měsíců pád a zakopávání, tvořila druhou skupinu, označenou jako CHOPN nestabilní.

Z výsledků měření na silových plošinách vyplývá, že posturální stabilita stoje o úzké bázi byla

horší u skupiny CHOPN nestabilní než u skupiny CHOPN stabilní. Při porovnání skupiny CHOPN nestabilní se skupinou CHOPN stabilní byly všechny sledované parametry u skupiny CHOPN nestabilní horší. Hodnoty výchylek COP v mediolaterálním směru a celková plocha výchylek COP byly u této skupiny významně vyšší (tabulka 3).

DISKUZE

Při hodnocení subjektivních poruch rovnováhy jsme u pacientů s CHOPN zjistili, že se u 45,5 % pacientů vyskytovalo časté zakopávání. U 13,6 % pacientů se vyskytl v předchozích třech měsících také pád. Výsledky naší studie potvrzují významně horší posturální stabilitu u pacientů, u kterých byly popisovány subjektivní poruchy rovnováhy. Obdobné závěry popisuje studie autorů Ozalevli et al. [9]. Autoři této studie potvrdili, že poruchy rovnováhy jsou častější u osob, u kterých se v předchozím období vyskytoval pád. V naší studii byla potvrzena u skupiny CHOPN nestabilní významně horší stabilita v mediolaterálním směru a významně větší celková plocha výchylek COP. Toto zjištění je důležité pro klinickou praxi, neboť zhoršená mediolaterální stabilita může mít vliv na zvýšené riziko pádu. Vzhledem k tomu, že CHOPN je onemocnění vyskytující se zejména ve vyšším věku, jsou často pády spojené se zlomeninou (fraktura femuru, fraktura obratlů) a častější nutností hospitalizace. Zvýšené riziko fraktury při pádu může být u takto nemocných spojené i s vyšším výskytem osteoporózy [10]. Je důležité si uvědomit, že imobilizace nemocných s CHOPN, snížení úrovně pohybových aktivit a jejich deondice zvyšují riziko exacerbace onemocnění a riziko mortality [11]. Z tohoto důvodu je velmi žádoucí co nejvíce riziko pádu u nemocných s CHOPN minimalizovat. Včasné odhalení poruch rovnováhy může minimalizovat výskyt pádů a snížit riziko zranění spojené s pádem. Proto by u nemocných s CHOPN mělo být v rámci odebírání anamnézy zjišťováno, zda se u nich poruchy rovnováhy již vyskytují. Je důležité se ptát pacientů, zda se u nich vyskytl pád, zda je

talizace. Zvýšené riziko fraktury při pádu může být u takto nemocných spojené i s vyšším výskytem osteoporózy [10]. Je důležité si uvědomit, že imobilizace nemocných s CHOPN, snížení úrovně pohybových aktivit a jejich deondice zvyšují riziko exacerbace onemocnění a riziko mortality [11]. Z tohoto důvodu je velmi žádoucí co nejvíce riziko pádu u nemocných s CHOPN minimalizovat. Včasné odhalení poruch rovnováhy může minimalizovat výskyt pádů a snížit riziko zranění spojené s pádem. Proto by u nemocných s CHOPN mělo být v rámci odebírání anamnézy zjišťováno, zda se u nich poruchy rovnováhy již vyskytují. Je důležité se ptát pacientů, zda se u nich vyskytl pád, zda je

u nich časté zakopávání, pocit nejistoty při stoji, při změně polohy a během chůze. Součástí klinického vyšetření by mělo být provedení testů na vyšetření rovnováhy – např. Rombergova zkouška (Romberg I-III), motorické testy (Functional reach test, Timed up and go test), vyšetření stoje na jedné dolní končetině se zrakovou kontrolou a bez ní.

I když je výskyt subjektivních poruch u nemocných s CHOPN vysoký, nejsou v současné klinické praxi poruchy rovnováhy běžně vyšetřovány. V předchozích studiích je zvýšené riziko pádu popisováno u 25–40 % nemocných s CHOPN [12,13,14]. Obdobně tomu tak bylo i v naší studii, ve které jsme potvrdili výskyt subjektivních poruch rovnováhy u 45,5 % pacientů. Zařazení jednoduchých testů hodnotících rovnováhu může napomoci k včasnému zahájení cílené rehabilitační léčby, která kromě plicní rehabilitace, zaměřené na zvýšení tolerance zátěže, podpory dechového vzoru a usnadnění expektorace může být zaměřena také na trénink rovnováhy pomocí různých fyzioterapeutických konceptů [15]. Mezi nejčastěji používané postupy pro ovlivnění rovnováhy patří senzomotorická stimulace, která zahrnuje nejen rovnovážná cvičení v korigovaném stoji, ve stoji na jedné dolní končetině, ale také cvičení na balančních pomůckách. Také je vhodné využít techniky pro reedukaci chůze, trénink chůze s využitím nestabilních pomůcek a trénink chůze během běžných denních činností, a zejména trénink chůze ve spojení s další činností (tzv. dual tasks). Efekt senzomotorického tréninku na zlepšení rovnováhy byl potvrzen ve studii autorů Beauchamp et al. [16], kteří zjistili, že kombinace plicní rehabilitace a senzomotorického tréninku měla vliv na zlepšení rovnováhy, hodnocené pomocí motorických testů. Cílená a včasné zvolená léčba na podkladě obtíží pacienta a výsledků klinických vyšetření může předcházet nežádoucímu negativnímu dopadu poruch rovnováhy na kvalitu života pacientů s CHOPN.

ZÁVĚR

U nemocných s CHOPN byl potvrzen vyšší výskyt subjektivních poruch rovnováhy. U pacientů, kteří v předchozích třech měsících popisovali pád a časté zakopávání, byla zhoršena stabilita stoje oproti pacientům, u kterých se subjektivní poruchy v posledních třech měsících nevyskytovaly. Zhoršená mediolaterální stabilita u této skupiny může představovat vyšší riziko pádu v budoucnosti. Na podkladě těchto zjištění i závěrů zahraničních studií by bylo vhodné rozšířit stávající vyšetřující postupy u nemocných s CHOPN. Hodnocení poruch rovnováhy by mělo přispět k včasnému odhalení rizika pádů a vést u takto nemocných k včasné indikaci komplexní rehabilitační léčby, zahrnující plicní rehabilitaci a senzomotorický trénink. Pro udržení co nejlepší kvality života nemocných s CHOPN je nezbytná včasná mezioborová spolu-

práce, na jejímž podkladě bude indikována ucelená, komprehensivní léčba takto nemocných.

Tato práce byla podpořena projektem grantem IGA_FTK_2015_006 Hodnocení posturální stability jako základního faktoru pro prevenci a vědeckým grantem společnosti Novartis, s. r. o. Phaeton – Vliv fyzické zátěže na oxidativní stres, funkci krevních destiček, dynamické parametry chůze a stabilitu stoje u pacientů s CHOPN.

LITERATURA

1. Koblizek V, Chlumsky J, Zindr V et al. Chronic obstructive pulmonary disease: Official diagnosis and treatment guidelines of the Czech Pneumological and Phthisiological society; a novel phenotypic approach to COPD with patient-oriented care. *Biomedical Papers* 2013; 157(2):189–201.
2. Yentes JM, Schmid KK, Blanke D, Romberger DJ, Renard SI, Stergiou N. Gait mechanics in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Research* 2015; 16(1):187–187.
3. Gosker HR, van Mameren H, van Dijk PJ, Engelen M, van der Vusse GJ, Wouters EF M, Schols A. Skeletal muscle fibre-type shifting and metabolic profile in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal* 2002; 19(4):617–625.
4. Mador MJ, Deniz O, Aggarwal A, Kufel TJ. Quadriceps fatigability after single muscle exercise in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2003; 168(1):102–108.
5. Crişan AF, Oancea C, Timar B, Fira-Mladinescu O, Tudorache V. Balance impairment in patients with COPD. *PLoS One* 2015; 10(3):e0120573.
6. Cruz J, Marques A, Jacome C, Gabriel R, Figueiredo D. Global functioning of COPD patients with and without functional balance impairment: An exploratory analysis based on the ICF framework. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease* 2014; 12(2):207–216.
7. Janssens L, Brumagne S, McConnell et al. Proprioceptive changes impair balance control in individuals with chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One* 2013; 8(3):e57949.
8. Beauchamp MK, Brooks D, Goldstein RS. Deficits in postural control in individuals with COPD – Emerging evidence for an important secondary impairment. *Multidisciplinary Respiratory Medicine* 2010; 5(6):417–421.
9. Ozalevli S, Ilgin D, Narin S, Akkoçlu A. Association between disease-related factors and balance and falls among the elderly with COPD: a cross-sectional study. *Aging Clinical and Experimental Research* 2011; 23(5–6):372–377.
10. Lehouck A, Boonen S, Decramer M, Janssens W. COPD, bone metabolism, and osteoporosis. *Chest* 2011; 139(3):648–657.
11. Waschki B, Kirsten A, Holz O, Müller KC, Meyer T, Watz H, Magnussen H. Physical activity is the strongest predictor of all-cause mortality in patients with COPD: A prospective cohort study. *Chest* 2011; 140(2):331–342.
12. Lawlor DA, Patel R, Ebrahim S. Association between falls in elderly women and chronic diseases and drug use: cross sectional study. *British Medical Journal* 2003; 327(7417):712–715.
13. Hellstrom K, Vahlberg B, Urell C, Emtner M. Fear of falling, fall-related self-efficacy, anxiety and depression in individuals with chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical Rehabilitation* 2009; 23(12):1136–1144.
14. Beauchamp MK, Hill K, Goldstein RS, Janaudis-Ferreira T, Brooks D. Impairments in balance discriminate fallers

- from non-fallers in COPD. *Respiratory Medicine* 2009; 103(12):1885–1891.
15. Neumannová K, Zatloukal J, Koblížek V. Doporučený postup plicní rehabilitace. Dostupné na <http://www.pneumologie.cz/guidelines/>
16. Beauchamp MK, Janaudis-Ferreira T, Parreira V, Romano JM, Woon L, Goldstein RS, Brooks D. A randomized controlled trial of balance training during pulmonary rehabilitation for individuals with COPD. *Chest* 2013; 144(6): 1803–1810.

Došlo: 19. 1. 2017

Adresa:
Mgr. Kateřina Neumannová, Ph.D.
Katedra fyzioterapie,
Fakulta tělesné kultury,
Univerzita Palackého,
Třída Míru 117
771 11 Olomouc
Česká republika
e-mail: kacaneumannova@gmail.com

Běžná intersticiální pneumonie nemusí být jen idiopatickou plicní fibrózou

M. Doubková¹, S. Richter²

¹Klinika nemocí plicních a TBC, Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno;

²Klinika radiologie a nukleární medicíny, Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno

SUMMARY

Usual interstitial pneumonia may not only be idiopathic pulmonary fibrosis

Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is characterized by radiological and histopathological findings of usual interstitial pneumonia (UIP). However, the presence UIP does not always mean a diagnosis of IPF. The aim of this paper is to focus on the differential diagnosis of diseases associated with the radiological picture of UIP.

Key words: differential diagnosis, HRCT of the chest, usual interstitial pneumonia

SOUHRN

Idiopatická plicní fibróza (IPF) je charakterizována radiologickým a histopatologickým nálezem běžné intersticiální pneumonie (usual interstitial pneumonia). Nicméně přítomnost UIP neznamená vždy diagnózu IPF. Cílem práce je zaměřit se na diferenciaci diagnostiku nemocí spojených s radiologickým obrazem UIP.

Klíčová slova: běžná intersticiální pneumonie, diferenciaci diagnostika, HRCT hrudníku

ÚVOD

Běžná intersticiální pneumonie (UIP – usual interstitial pneumonia) v histopatologickém nálezu patří mezi idiopatické intersticiální pneumonie (IIP – idiopathic interstitial pneumonia). IIP prošly mnoha děleními (klasifikacemi) od Liebowa a Carringtona až po současné dělení na hlavní, vzácné a neklasifikovatelné [1,2]. UIP je ale termín jak histologický, tak radiologický. UIP v HRCT nálezu neznamená vždy jen diagnózu idiopatické plicní fibrózy (IPF). Diferenciaci diagnostika je široká a zahrnuje chronickou exogenní alergickou alveolitidu, plicní postižení u nemocných se systémovými chorobami pojiva, poléková plicní postižení, azbestózu, familiární IPF, sarkoidózu IV. stadia, syndrom kombinace plicní fibrózy a emfyzému.

Diferenciaci diagnostika UIP

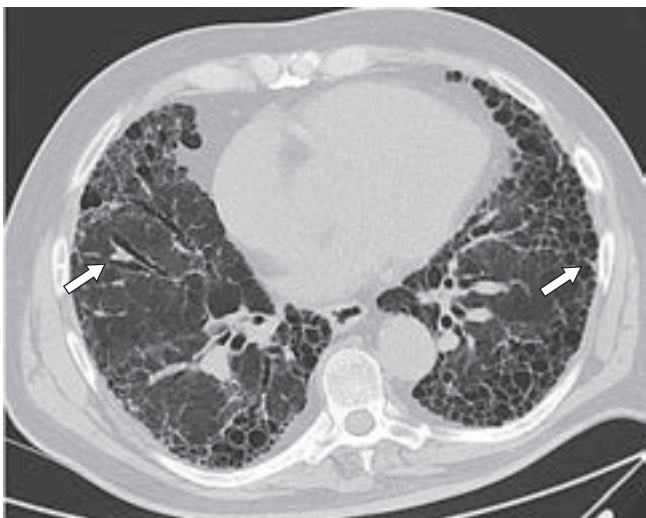
Idiopatická plicní fibróza

IPF je specifická forma chronické progredující fibrotizující intersticiální pneumonie, postihující pouze plíce a spojená s histopatologickým a/nebo

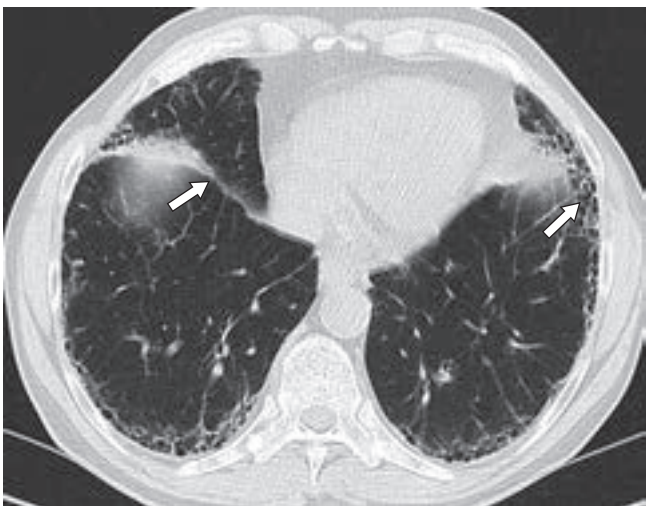
radiologickým obrazem UIP. IPF trpí kolem 5 milionů lidí na celém světě [2,3]. V ČR není aktuální

Tabulka 1: Běžná intersticiální pneumonie v HRCT nálezu. Podle Raghua a kol. [3]

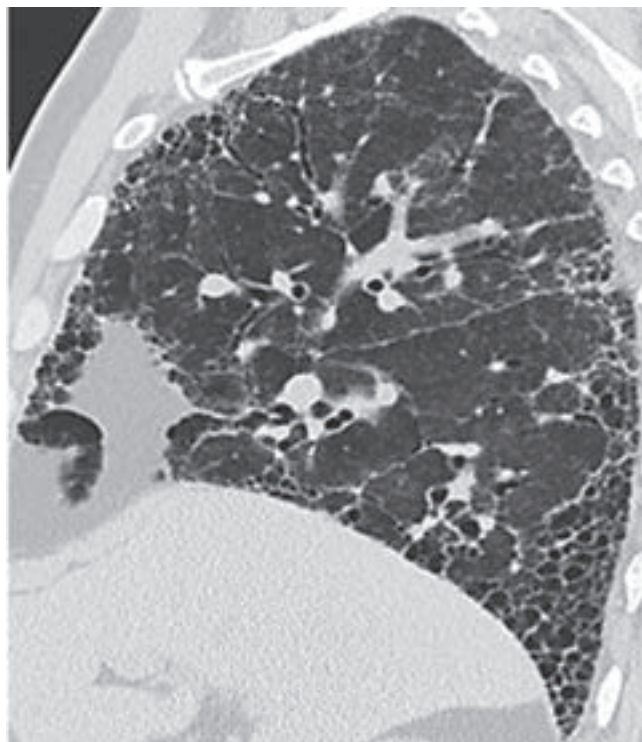
Čtyři kritéria typické UIP v HRCT nálezu
1. Retikulace.
2. Maximum změn subpleurálně a bazálně.
3. Voština (klastery neboli seskupení tenkostěnných cyst o průměru 3–10 mm) ± bronchiektázie.
4. Změny nekonzistentní s UIP (maximum změn v horních a středních lalocích, změny peribronchovaskulární, rozsáhlá mikronodulace, cysty mimo voštinu, mozaiková perfuze a air trapping, konsolidace v lalocích).
Tři kritéria možné UIP v HRCT nálezu
1. Retikulace.
2. Maximum změn subpleurálně bazálně.
3. Nepřítomnost změn konzistentních s UIP (viz bod. 4).

Obrázek 1: Pokročilá forma idiopatické plicní fibrózy

HRCT hrudníku-axiální řez. Obrázek typické UIP u pokročilé formy idiopatické plicní fibrózy zachycuje voštinovitou přestavbu v dolních plicních lalocích s maximem v subpleurální a dorzobazální lokalizaci (šipka vlevo). „Voština“, český ekvivalent anglického „honeycombing“, je tvořena dobře ohraničenými cystickými lézemi, většinou s tenkou stěnou (šíře 1–3 mm). Vpravo patrné trakční bronchiektázie (šipka vpravo) větví pro střední lalok. Ve zbylém plicním parenchymu četné jemné retikulární opacity, prakticky bez výskytu denzit mléčného skla, bez konsolidací plicního parenchymu – tedy všechny změny zapadající do vzorce typické UIP.

Obrázek 2: Méně pokročilá forma IPF

HRCT-axiální řez. Obrázek méně pokročilé typické UIP s méně nápadnými změnami v subpleurální lokalizaci s jen minimální voštinovitou přestavbou plicního parenchymu (šipka vlevo) dorzobazálně v dolních lalocích, ventrobazálně ve středním laloku vpravo, resp. lingule vlevo. Vpravo zachycené zesílené hlavní interlobium oddělující horní a střední lalok (šipka vpravo). Opět jemné retikulace, bez nodulárních opacit.

Obrázky 3 a 4: Odlíšení voštiny a bronchiektázií

HRCT hrudníku – koronární (obr. 3) a sagitální (obr. 4) řezy napomáhají k odlišení trakčních bronchiektázií (označeny šipkou) od voštiny, zvláště u pokročilých forem IPF. Dobře vystihují i apikobazální gradient postižení plicního parenchymu s maximem subpleurálních změn a relativním ušetřením plicních hrotů u obrazu typické UIP.

epidemiologická situace známa, ale nemoc má stoupající výskyt [4]. Nové poznatky etiopatogeneze IPF zcela změnily pohled na její léčebné možnosti, proto je IPF předmětem zájmu pneumologů v posledních několika letech. IPF se vyskytuje s vyšší četností u mužů než u žen [2,3,5]. Etiologie nemoci není známa [5]. Průměrná doba stanovení diagnózy od prvních příznaků se pohybuje od 6 měsíců do 2 let [4]. Nejčastějšími symptomy v době diagnózy jsou suchý kašel a střední až těžký stupeň dušnosti při zátěži. Paličkovité prsty jsou přítomny u 50 % případů a jsou spojeny s pokročilým stadiem [2,3]. Etiopatogeneze paliček (clubbing finger) není přesně známa, ale předpokládá se vliv chronické aktivity makrofágů a produkce profibrotických reparačních faktorů [4]. Medián přežití se pohybuje od 2 do 5 let od stanovení u neléčených pacientů. Příčina smrti je obvykle respirační selhání [3]. Nejčastějšími komorbiditami u IPF jsou diabetes mellitus, ischemická choroba srdeční a gastroezofageální reflux [4].

Medián věku v době stanovení diagnózy nemocných s IPF je 60–70 let [3]. Rizikovými faktory jsou kouření cigaret, expozice prachům organickým i anorganickým, gastroezofageální reflux, infekce [4]. Klinický průběh IPF neumíme jasně předpovídat a kritéria progresu IPF nejsou zcela dobře definována [4]. Známe tři rozdílné průběhy nemoci. Větší část pacientů vykazuje pozvolný pokles plicních funkcí, někteří jsou dlouhodobě stabilní, zejména starší nad 75 let a asi 10–20 % má rychlý pokles plicních funkčních parametrů [3,5]. AE-IPF (akutní exacerbace) je popsána u 5–10 % všech IPF pacientů [3], mortalita je vysoká, pohybující se mezi 50 až 100 % [4]. AE je asociována se zhoršením klinickým, funkčním i změnou radiologického nálezu [3]. Tabulka 1 ukazuje HRCT nálezy u UIP/IPF. Tabulka 2 obsahuje

Tabulka 2: Diagnostická kritéria idiopatické plicní fibrózy. Korelace HRCT nálezu a histopatologického nálezu. Podle Raghua [3] a Vašákové [6]

HRCT nálezy	Histopatologie	Diagnóza UIP
UIP	UIP pravděpodobná UIP možná UIP neklasifikovatelná fibróza nejde o UIP	ANO ANO ANO ANO NE
Možná UIP	UIP pravděpodobná UIP možná UIP neklasifikovatelná fibróza nejde o UIP	ANO ANO pravděpodobná pravděpodobná NE
Pravděpodobná UIP	UIP pravděpodobná UIP možná UIP neklasifikovatelná fibróza nejde o UIP	možná NE NE NE NE

Tabulka 3: Familiární idiopatická intersticiální pneumonie (FIIP) v HRCT nálezu

1. Radiologické nálezy jsou u familiární IIP prakticky neodlišitelné od sporadických forem, u kterých není rodinný výskyt IIP.
2. Nálezy na HRCT hrudníku závisí na typu IIP.
3. V rodinách se vyskytují tyto kombinace IIP: UIP a NSIP; UIP, NSIP, a COP; UIP, NSIP a RB-ILD; UIP a neklasifikovatelná intersticiální plicní fibróza; nebo UIP a hypersenzitivní pneumonie.

COP – kryptogenní organizující se pneumonie, IIP – idiopatická intersticiální pneumonie, NSIP – nespecifická intersticiální pneumonie, RB-ILD – respirační bronchiolitis s intersticiálním plicním postižením, UIP – běžná intersticiální pneumonie

Tabulka 4: Pomoc při diagnostice familiárních idiopatických intersticiálních pneumonií

1. Familiární IIP je definovaná tehdy, když onemocnění postihuje 2 nebo více členů rodiny.
2. U příslušníků jedné rodiny může být přítomno několik fenotypů fibrotizujících intersticiálních plicních procesů.
3. Pacienti s IPF/UIP jsou ve srovnání s pacienty se sporadickou IPF mladšího věku (i mladší 50 let).
4. Způsob dědičnosti je pravděpodobně autozomálně dominantní s neúplnou penetrancí.
5. Kouření a životní prostředí má vliv na vývoj onemocnění u pacienta s genetickou predispozicí. Jako vhodný diagnostický postup u asymptomatických členů rodiny, ve které se vyskytuje familiární IIP, je provedení klinického a plicního funkčního vyšetření, zadopředního skiaogramu hrudníku (HRCT hrudníku), a to zejména u rizikové skupiny kuřáků.

Vysvětlivky: IIP – idiopatická intersticiální pneumonie

Tabulka 5: Systémová onemocnění pojiva a HRCT nálezy

1. Nález závisí na typu IIP (UIP, NSIP, DIP, RB-ILD, AIP, LIP, OP)
2. Systémová sklerodermie: UIP, NSIP. UIP neodlišitelná od IPF
3. Revmatoidní artritida: UIP, OP, revmatoidní noduly, pleurální výpotky
4. Polymyozitis/dermatomyozitis: OP, NSIP, UIP
5. Sjögrenův syndrom: LIP, NSIP, UIP
6. Systémový lupus erythematodes: akutní lupusová pneumonitis, difúzní alveolární hemoragie
7. Radiologický obraz je ovlivněn infekční komplikací nebo nežádoucím účinkem léků (metotrexat, soli zlata, penicilamin, sulfasalazin, rituximab)

Vysvětlivky: AIP – akutní intersticiální pneumonie, DIP – deskvamativní intersticiální pneumonie, LIP – lymfatická intersticiální pneumonie, NSIP – nespecifická intersticiální pneumonie, OP – kryptogenní organizující pneumonie, RB-ILD – respirační bronchiolitis asociovaná s intersticiálním plicním postižením

Tabulka 6: Pomoc při diagnostice systémových onemocnění pojiva (SOP)

1. Na SOP pomýšlíme tehdy, pokud nacházíme v klinickém obraze jednak kombinaci různých typů postižení téhož systému, nebo při současném zdánlivě nesouvisejícím postižení různých orgánů a tkání.
2. U každého pacienta s IPP pomýšlíme na autoimunitní onemocnění a odebíráme panel základních autoprotilátek.
3. Celkové příznaky nemoci (hubnutí, teploty, pocení), postižení kloubů, svalů, fotosenzitivita, kožní eflorescence, radiální rýhy kolem úst, sklerodaktylie, paličkovité prsty, změny na nehtech, teleangiektázie, vazospastické fenomény Raynaudova typu (akrohypotermie s akrocyanózou a hyperhidrózou na ruce), oční záněty, recidivující nekrotizující aftózní stomatitidy, bolesti hlavy, opakované pleuritidy, suchosti sliznic, poruchy motility jícnu, podkožní kalcifikace, chronické těžké záněty vedlejších nosních dutin, glomerulonefritidy v minulosti, dlouhotrvající nevysvětlené zvýšené sedimentace erytrocytů, leukopenie, anémie, trombocytopenie, bolestivé zduření chrupavek nosu, ušních boltců, sternokostálních spojení, první projevy onemocnění po porodu nebo potratu.
4. 15–20 % pacientů s chronickou IPP může mít frustrní (plně nevyjádřenou) formu SOP, nebo se může SOP následně plně vyvinout.
5. U pacientů s dušností nebo snížením plicní difuze nebo desaturací během cvičení, zvláště pokud je nesoulad s rozsahem postižení na radiologickém nálezu, zvažujeme plicní hypertenzi.

Tabulka 7: Detekovatelné autoprotilátky u systémových onemocnění pojiva. Podle Bonella [15]

Systémové onemocnění pojiva	Detekovatelné autoprotilátky
Systémová sklerodermie	ANA, anti-topoizomeráza I (Scl70), anti-centromera, RF
Revmatoidní artritida	ANA, RF, anti-CCP
Polymyozitida/dermatomyozitida	ANA, anti-aminoacyl-tRNA (anti-histidyl Jo1), anti-PL7, anti-PL12), anti-MDA5, anti-PM-Scl, anti-Mi-2
Systémový lupus erythematodes	ANA, anti-dsDNA, anti-SS-A/Ro, anti-SS-B/La, anti-Sm, protilátky proti fosfolipidům (APLA) Největší diagnostický význam má anti-dsDNA
Sjögrenův syndrom	ANA, anti-SS-A/Ro, anti-SS-B/La, RF
Smišené onemocnění pojiva	ANA, anti-U1-RNP, RF, anti-CCP
Nediferencované onemocnění pojiva	ANA, RF, anti-Scl-70, anti-SS-A/Ro, anti-SS-B/La, anti-Jo-1, anti-U1-RNP

Vysvětlivky: ANA – antinukleární protilátky, CCP – cyklický citrulinový peptid, dsDNA – protilátky proti dsDNA, Jo1 – histidyl-tRNA syntetáza, MDA5 – gen asociovaný s diferenciací melanomu, kódující RNA helikázu, anti-Mi-2 – antinukleární protilátka, RF – revmatoidní faktor, Scl70 – topoizomeráza I, SS-A, SS-B (Ro, La) – protilátky u Sjögren syndromu, U1-RNP – ribonukleoprotein

diagnostická kritéria UIP/IPF. Obrázky 1–4 jsou HRCT nálezy UIP/IPF s voštinovitou přestavbou a všemi dalšími kritérii typické UIP.

Familiární forma idiopatické intersticiální pneumonie

Familiární IIP (FIIP) je definována jako onemocnění, které postihuje 2 nebo více členů téže rodiny, u nichž byly zjištěny klinické a histologické znaky intersticiální pneumonie [6]. Celkem bylo ve světě popsáno více než 200 rodin s familiární IIP. U příslušníků jedné rodiny může být přítomno několik fenotypů fibrotizujících intersticiálních plicních procesů. Nejčastěji pozorovaným fenotypem zaznamenaným v rodinách s IIP je fenotyp IPF/UIP.

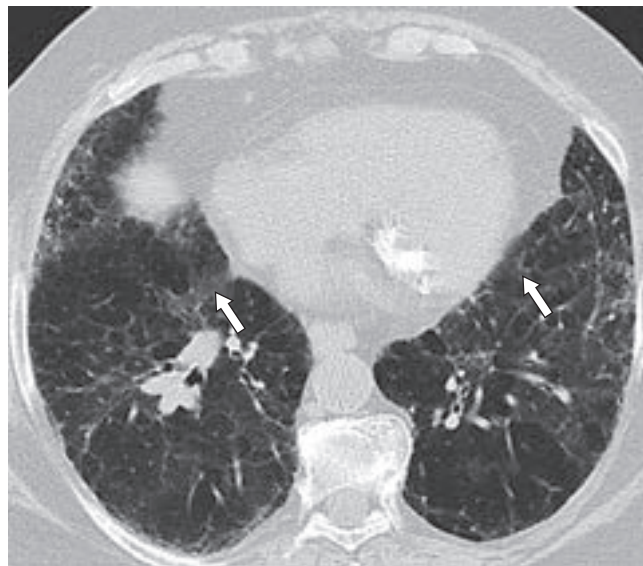
Přesná prevalence familiární IIP není známa a odhaduje se, že podle současných poznatků tvoří 0,5–3,7 % ze všech nemocných s IPF [6]. Způsob dědičnosti je pravděpodobně autozomálně dominantní s neúplnou penetrancí [7]. U FIIP včetně familiární IPF je začátek nemoci posunut do mladšího věku, nejsou výjimkou pacienti mladší 50 let, na rozdíl od sporadické formy IPF (bez familiárního výskytu), která se diagnostikuje obvykle ve středním a vyšším věku. Histopatologické nálezy u pacientů (členů jedné rodiny) s familiární IIP jsou heterogenní a vliv na typ IIP má vzájemné působení genetické predispozice a zevního prostředí. Ve studii Steele a kol. bylo zjištěno hned několik histopatologických subtypů IIP (běžná intersticiální pneumonie, kryptogenní organizující, nespecifická intersticiální pneumonie) u členů jedné rodiny [8]. V rodinách se vyskytují tyto kombinace IIP: UIP a NSIP; UIP, NSIP a COP; UIP, NSIP a RB-ILD; UIP a neklasifikovatelná intersticiální plicní fibróza; nebo UIP a hypersenzitivní pneumonie. Tabulka 3 popisuje změny v HRCT nálezu u FIIP. Tabulka 4 obsahuje pomoc při diagnostice FIIP. Obrázek 5 ukazuje HRCT nálezu a FIIP.

Systémová onemocnění pojiva (SOP) – zejména revmatoidní artritida a systémová sklerodermie

U SOP vidíme postižení dýchacích cest, alveolů, plicních cév, pleury a hrudní stěny. Jednotlivá intersticiální plicní postižení zahrnují: AIP – akutní intersticiální pneumonie, UIP, LIP – lymfocytární intersticiální pneumonie, BOOP (OP) – bronchiolitis obliterans organizující se pneumonie, NSIP – nespecifická intersticiální pneumonie, DIP – deskvamativní intersticiální pneumonie, DAH – difúzní alveolární hemoragie, granulomatózní plicní postižení, CPFE – kombinace plicní fibrózy a emfyzému. V raných studiích byla za nejběžnější histopatologický obraz u IPP-SOP považována UIP [9]. S lepší definicí jednotlivých histologických obrazů došlo k upřesnění nálezů a v několika případech

byla UIP překlasifikována na NSIP. Ve studii autorů Bouros a et al. [10] byla u 80 pacientů se SSc

Obrázek 5: Familiární forma IIP, fibrotizující varianta NSIP



HRCT – axiální řez. Obraz fibrotizující varianty NSIP zachycuje oboustranné poměrně symetrické okrsky denzity mléčného skla (šipky) v dolních lalocích, spíše s difúzní než subpleurální distribucí změn. Méně retikulárních opacit a trakčních bronchiektázií, bez voštinovité přestavby.

Obrázek 6: Obraz UIP u systémové sklerodermie



HRCT – axiální řez. Obraz typické UIP u pacienta se sklerodermií, nerozeznatelný od UIP/IPF. Voštinovitá přestavba s maximem v subpleurálních lokalitách středního a dolního laloku vpravo (ventrálnější šipka), nečetné denzity mléčného skla vpravo (dorzálnější šipka) a četnější retikulární opacit subpleurálně.

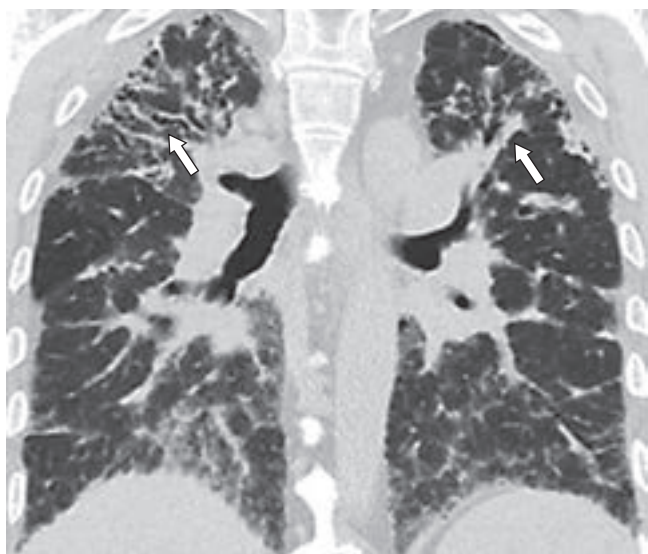
provedena plicní biopsie, u 62 z nich byla potvrzena NSIP a jen u 6 UIP. Ve studii autorů Tansey

Obrázek 7: Chronická forma exogenní alergické alveolity



HRCT – axiální řez. Fibrózní změny jsou u chronické EAA více centrálně, resp. peribronchiálně a bronchiolocentricky (šipka vpravo), postiženy jsou více horní a střední laloky. V důsledku bronchiální obstrukce menší okrsky mozaikovitě perfuze. Dále retikulace, centrilobulární a peribronchiální noduly, přítomny i denzity mléčného skla.

Obrázek 8. Peribronchiální postižení u chronické exogenní alergické alveolity



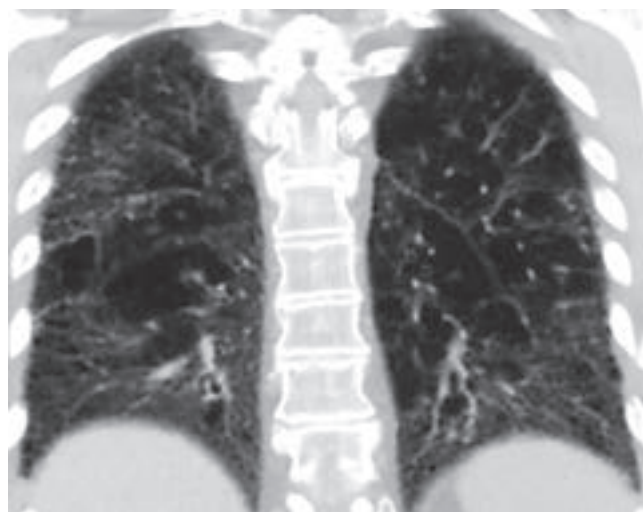
HRCT – koronální řez. Ukazuje predominanci fibrózních změn v horních a středních lalocích, bronchiolocentricky a peribronchiálně (šipka vlevo). Přítomnost trakčních bronchiektázií a voštiny nevelkého rozsahu v horním laloku vpravo (šipka vpravo).

et al. byla NSIP rovněž nejběžnějším patologicko-anatomickým nálezem u polymyozitidy/dermatomyozitidy spolu s organizující pneumonií [11]. U revmatoidní artritidy je větší zastoupení UIP než NSIP [12,13]. Většina nemocných s RA a plicní fibrózou jsou mladší než ti s idiopatickou UIP. U Sjögrenova syndromu nacházíme LIP, NSIP, UIP [14]. U smíšených onemocnění pojiva je hlavním histopatologickým příznakem NSIP [9]. Tyto IIP u SOP mají podobné radiologické a histologické charakteristiky jako jejich idiopatické formy, ale existuje mezi nimi signifikantní rozdíl v přežití. Tabulka 5 popisuje SOP a HRCT nálezy, tabulka 6, 7 pomocná diagnostická kritéria [15]. Na obrázku 6 je HRCT nález UIP u SOP.

Tabulka 8: Exogenní alergická alveolida v HRCT nález. Podle Jacoba a Wuytse [16 a 17]

1. Fibrózní změny jsou více bronchiolocentricky, nikoliv subpleurálně a bazálně.
2. Retikulace a trakční bronchiektázie.
3. Maximum změn ve středních a horních lalocích.
4. ± Mozaiková perfuze a air trapping.
5. ± Denzity mléčného skla.
6. ± Centrilobulární, peribronchiální noduly.
7. ± Voština.

Obrázek 9: HRCT hrudníku a „cytostatická plic“ (reakce na terapii busulfanem)



HRCT – koronální řez. Fibrózní změny s převahou retikulárních opacit, fibrózních pruhů s maximem změn dorzobazálně, subpleurálně, kde voštinovitá přestavba. Výraznější fibrózní postižení, ale i horního laloku vpravo. Nález u polékového postižení je nespecifický, variabilní, může probíhat i pod obrazem UIP.

Tabulka 9: Pomoc při diagnostice exogenní alergické alveolitidy

1. Historie expozice antigenu a vznik klinických příznaků.
2. Inspirační chrůpky až krepitace nebo drobné pískoty v inspiriu (projev bronchiolitidy).
3. HRCT nálezy viz výše (pro subakutní formu EAA: opacity mléčného skla, centrilobulární noduly, mozaiková perfuze a air trapping).
4. BAL: lymfocytární alveolitida ale i norma nebo neutrofilní alveolitida, snížený poměr CD4+/CD8+ < 1 (může být v normě nebo zvýšený).
5. Průkaz specifických IgG metodou ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).
6. Histopatologicky: UIP, fibrotizující NSIP, bronchiolocentrická fibróza, granulomy. Kombinace těchto změn. Predilekce v horních lalocích.

Tabulka 10: Polékové plicní postižení v HRCT nálezu

1. Radiologický nález je nespecifický a odpovídá různým typům postižení.
2. Postižení na úrovni dýchacích cest: obliterující bronchiolitis (BO, BOOP).
3. Postižení na úrovni intersticia a alveolů: pneumonitidy až fibróza (DAH, AIP, HP, PAP, UIP).
4. Poškození s převahou vaskulárních změn (nekardiální plicní edém, ARDS, vaskulitidy, plicní hemoragie).
5. Postižení pleury: pleurální výpotky ± postižení plicního intersticia.
6. Postižení mediastina: mediastinální lipomatóza, fibróza, lymfadenopatie.

Vysvětlivky: AIP – akutní intersticiální pneumonie, ARDS – akutní respirační dechová nedostatečnost, BO – obliterující bronchiolitida, BOOP – organizující se pneumonie s obliterující bronchiolitidou, DAH – difuzní alveolární hemoragie, EAA – exogenní alergická alveolitida, PAP – plicní alveolární proteinóza, UIP – běžná intersticiální pneumonie

Tabulka 11: Pomoc při diagnostice polékového postižení plic

1. Seznam léků způsobujících polékové plicní postižení: www.pneumotox.com
2. Klinický a radiologický obraz je variabilní a závislý na typu postižení.
3. Léky mohou vyvolávat imunitní reakce: plicní infiltráty, často migrující, s eozinofilií v BALu ± periferní eozinofilie; polékové granulomatózy, lipidní pneumonie, systémové vaskulitidy. Polékový lupus like syndrom – systémové postižení jako u SLE.
4. V BALte: lymfocytární, eozinofilní alveolitida. U DAH: hemoragické zabarvení s vyšší příměsí siderofágů (nad 20–30 %), u amiodaronové plíce pak pěnivé makrofágy vyplněné lipidovými inkluzemi.
5. Zmírnění či vymizení potíží nebo regrese radiologického nálezu po vysazení léku podporuje diagnózu polékového postižení. Výjimkou je přechod do nevratné plicní fibrózy.

Vysvětlivky: BALte – bronchoalveolární tekutina. DAH – difuzní alveolární hemoragie, SLE – systémový lupus erythematoses

Chronická exogenní alergická alveolitida

Exogenní alergická alveolitida (EAA), známá i jako hypersenzitivní pneumonitida (HP), patří do skupiny onemocnění zvaných difuzní parenchymatózní nemoci plic neboli intersticiální plicní nemoci (IPP). Pojmy hypersenzitivní a alergická jsou mírně zavádějící vzhledem k tomu, že se nejedná o atopické a alergické onemocnění spojené se zvýšeným počtem eozinofilů a tvorbou imunoglobulinu E. Pojem alveolitida rovněž nevystihuje skutečnost, protože onemocnění postihuje nejen plicní

alveoly, ale i plicní intersticiium a dýchací cesty. Klinické formy jsou akutní, subakutní a chronická.

Tabulka 8 ukazuje HRCT nálezy u EAA, tabulka 9 diagnostické kroky. Na obrázku 7 a 8 je chronická forma EAA na HRCT hrudníku.

Poléková plicní postižení

Existuje cca 400 léků, se kterými jsou spojená nežádoucí poléková plicní postižení. Jejich mecha-

nismus je přímý toxický účinek (kyslíkové radikály), nepřímý toxický účinek (systém proteáz a anti-proteáz) a hypersenzitivní reakce. Léky, se kterými se setkáváme v ambulanci pro intersticiální plicní procesy často a které způsobují intersticiální pneumonitidu až plicní fibrózu, jsou například cytostatika (bleomycin, busulfan), amiodaron. Plicní toxicita se obvykle může projevit po jakémkoliv dávce a v jakémkoliv čase [18]. Histologické a radiologické nálezy jsou rozmanité a necharakteristické. Tabulka 10 obsahuje HRCT nálezy u polékových postižení a tabulka 11 pomoc při diagnostice. Obrázek 9 ukazuje HRCT hrudníku a reakci na léčbu busulfanem.

Tabulka 12: Fibrotizující sarkoidóza (sarkoidóza IV. stadia) v HRCT nálezu. Podle Jacoba [16]

1. Mikronoduly v perilymfatické distribuci.
2. Maximum změn v horních a středních plicních lalocích.
3. Distorze plicní architektoniky.
4. ± Konsolidace.
5. Galaxy sign u progresivní fibrózy (viz popis – obrázek 10).
6. ± Voština.

Obrázek 10: Sarkoidóza, chronická fibrózní forma



HRCT – axiální řez pod úrovní bifurkace. Dominují noduly v perilymfatické distribuci zejména horních laloků, které nepravidelně zesilují interlobulární septa. Větší shluky nodulů někdy vytvářejí „galaxy sign“ (šipka vlevo) – jelikož připomínají obraz galaxie. U fibrózní formy sarkoidózy je porušena plicní architektonika, často apikalizované hily a subpleurálně může být obraz drobných konsolidací (šipka vpravo).

Sarkoidóza

Sarkoidóza je systémové granulomatózní onemocnění neznámé etiologie s plicními a mimoplicními projevy. Toto onemocnění patří mezi záhady medicíny nejen kvůli nedostatečně poznané etiologii, ale i kvůli pestrosti klinických příznaků. Historie poznávání nemoci spadá do 19. století [19,20,21].

Sarkoidóza ve většině případů obraz UIP nedělá. Pokročilá forma sarkoidózy může mít obraz voštinovité přestavby s centrálními bronchiektáziemi, ale v jiné lokalizaci než u UIP/IPF [22,23]. Tabulka 12 obsahuje HRCT nálezy u chronické formy sarkoidózy a tabulka 13 pomoc při diagnostice. Obrázek 10 ukazuje HRCT hrudníku a chronickou fibrózní formu.

Azbestóza

Pneumokonióza je charakterizována pomalu progredující intersticiální plicní fibrózou, způsobenou expozicí vláknům azbestu. Tabulka 14 popisuje HRCT nálezy u azbestózy a tabulka 15 je pomocí při diagnostice. Na obrázku 11 je HRCT nález u azbestózy.

Obrázek 11: Azbestóza



HRCT – axiální řez. Fibróza s převahou retikulárních opacit s maximem postižení subpleurálně a bazálně, obdobně jako u IPF. Výraznější je však postižení pleury. Zesílení pleury, až prorůstání fibrózních lézí pleury do intersticia (šipky), někdy vytváří obraz „crow's feet“.

Tabulka 13: Pomoc při diagnostice sarkoidózy

8. Nespecifické příznaky: teploty, noční poty, hubnutí. V 30 % případů asymptomatický průběh.
9. Klinické příznaky: často systémové postižení. Podobně jako SLE je sarkoidóza „magna simulatrix“ = napodobující různá onemocnění.
10. Zobrazovací metody: stadia 0–IV., HRCT nálezy viz výše.
11. Laboratorní diagnostika: kalcemie, kalciurie, angiotensin konvertující enzym, neopterin, solubilní interleukin 2.
12. Nález lymfocytární alveolity ale i neutrofilní alveolity u fibrózy, CD4+/CD8+≥3,5; ale může být i snížen nebo v normě.
13. Histopatologický nález nenekrotizujících granulomů. Fibrinoidní nekróza u 20 % případů.
14. Terapeutická odpověď na systémové kortikoidy.

Vysvětlivky: CD4+/CD8+ – poměr pomahačských: cytotoxickým T lymfocytům v bronchoalveolární tekutině

Tabulka 14: Azbestóza v HRCT nález. Podle Copleyové [24]

1. Kombinace plicních a pleurálních změn.
2. Obraz plicní fibrózy s retikulacemi na plicních bázích a šířící se kraniálně.
3. ± Voština je ve stejné lokalizaci jako IPF.
4. Pleurální hyalinóza: ohraničené léze pleury, pleuritidy, pleurální výpotky, difuzní pleurální ztlustění, kalcifikované ztlustění pleury, apikální pleurální ztlustění.
5. Okrouhlé atelektázy při hrudní stěně (prorůstání fibrózních lézí pleury do intersticia s deformací bronchů) – vraní nohy (crow's feet).
6. ± Emfyzém v horních lalocích.

Tabulka 15: Pomoc při diagnostice azbestózy

1. Expozice azbestu – starší budovy, brzdová obložení, střešní krytiny, obklady.
2. Nemoci vyvolané azbestem: azbestóza, hyalinóza pohrudnice, mezoteliom pohrudnice nebo pobřišnice, rakovina plic ve spojení s hyalinózou pleury nebo azbestózou.
3. Latence 15–30 let mezi expozicí a vznikem onemocnění.
4. Fyzikálním vyšetřením slyšitelné krepitace (nebo jemné inspirační chrůpky), i paličky.
5. Průkaz azbestových tělísek v BAL nebo v plicní biopsii.

Fibrotizující nespecifická intersticiální pneumonie

Je podjednotka IIP, která je na rozdíl od UIP/IPF charakterizována zánětlivými a fibrotickými změnami, které jsou časově uniformní. Existují 3 histologické podtypy NSIP (nespecifická intersticiální pneumonie): buněčný, fibrotický a smíšený. Tabulka 16 a 17 NSIP v HRCT nález a pomoc při diagnostice. Obrázek 12 ukazuje HRCT nález s NSIP.

Syndrom kombinace plicní fibrózy a emfyzému

Kombinace plicní fibrózy a emfyzému (CPFE – syndrome of combined pulmonary fibrosis and

emphysema) byla popsána, nikoliv poprvé, v roce 2005 na velkém souboru, čítajícím 61 pacientů [26]. Jde o kombinaci dvou samostatných entit.

Tabulka 16: Obraz nespecifické intersticiální pneumonie v HRCT nález. Podle Jacoba [16]

1. Opacity mléčného skla.
2. Retikulace.
3. Distribuce bazálně a periferně, může šetřit subpleurální prostory.
4. ± Voština malého rozsahu.

Emfyzém je zaznamenán v zahraničních publikacích u 8–28 % nemocných s IPF [27]. Ve studii Sugini et al. byla popsána špatná prognóza pacientů

s CPFE oproti IPF. Pacienti s CPFE s paraseptálním emfyzémem a vyšším systolickým plicním arteriálním tlakem měli kratší dobu přežití [28]. Ta-

Tabulka 17: Pomoc při diagnostice. Podle Tomassettiové [25]

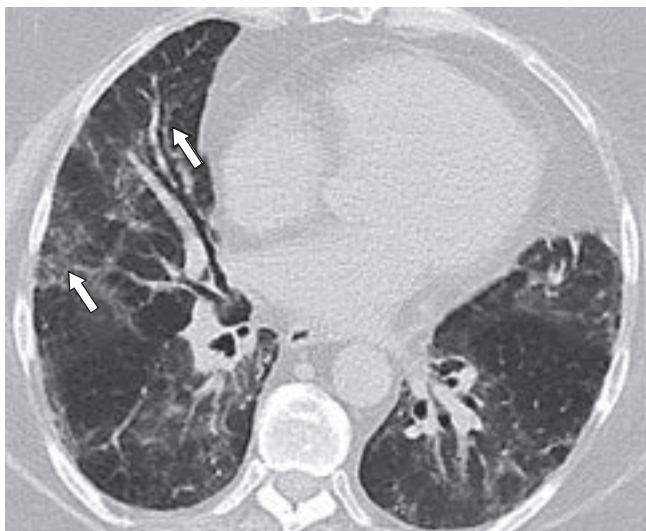
1. Idiopatická NSIP je komplex klinických entit, které zahrnují alespoň 3 různé fenotypy: NSIP s autoimunitními rysy, NSIP s emfyzémem, NSIP jako familiární forma.
2. Dvě základní radiologicko-patologické formy: <ul style="list-style-type: none"> A. „Zánětlivý typ“ s lymfocytární alveolitidou v BALte a plicní biopsii a HRCT nálezem kombinace NSIP/OP s léčebnou odpovědí na kortikosteroidy a jiná imunosupresiva. B. „Fibrotický typ“ bez lymfocytární alveolitidy v BALte, s fibrózou v plicní biopsii a HRCT nálezem převažujících retikulací a bronchiektázií a špatnou nebo žádnou odpovědí na kortikosteroidy nebo jiná imunosupresiva.

Vysvětlivky: BALte-bronchoalveolární tekutina získaná bronchoalveolární laváží, NSIP-nespecifická intersticiální pneumonie, OP-organizující pneumonie

Tabulka 18: HRCT nález u CPFE

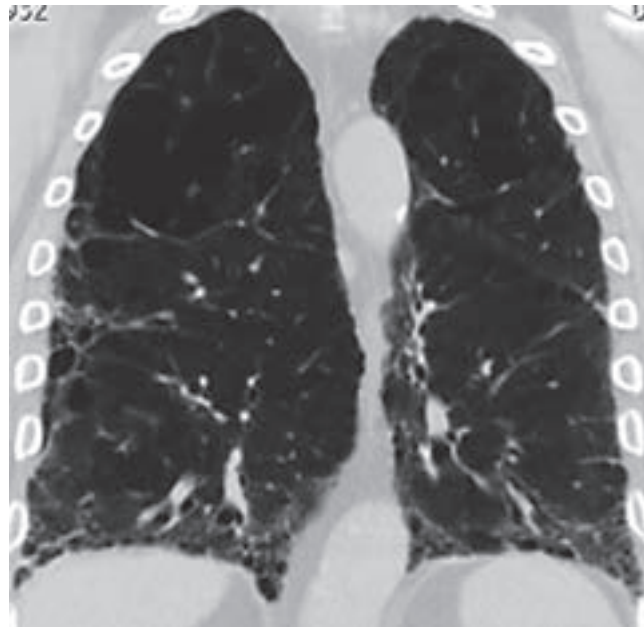
1. Kombinace emfyzému a fibrotizujícího plicního procesu typu UIP nebo NSIP.
2. Nejčastěji jsou emfyzematózní změny v horních plicních polích a v dolních plicních polích je přítomna fibróza.
3. Přítomnost emfyzému znesnadňuje odlišení UIP od NSIP (jemné retikulace, šetření subpleurálních prostor).

Obrázek 12: Nespecifická intersticiální pneumonie



HRCT – axiální řez. Četné opacitní mléčného skla (šipka dorzálněji) s šetřením subpleurálních prostor. Vpravo ve středním laloku trakční bronchiektázie (šipka ventrálněji), difuzní retikulace, bez voštinovité přestavby. Typické změny u obrazu NSIP.

Obrázek 13: HRCT nález CPFE. Kombinace emfyzému a fibrózy



HRCT – koronální řez. V horních lalocích dominují objemné emfyzematózní buly. V dolních lalocích a subpleurálně převažují fibrózní změny s voštinovitou přestavbou plicního parenchymu. Emfyzém znesnadňuje odlišení od UIP či NSIP.

Tabulka 19: Pomoc při diagnostice kombinace plicní fibrózy a emfyzému

1. CPFE je častější u mužů a kuřáků.
2. CPFE bývá u systémových onemocnění pojiva (SLE, RA) a u EAA (expozice organickým antigenům), nebo je idiopatický.
3. Plicní funkční vyšetření prokazuje: vyšší TLC (může být i v normě) – důvodem je hyperinflace, nízký poměr FEV ₁ /FVC a nízké DL _{co} .
4. V BALte převažují obvykle neutrofilní leukocyty a/nebo eozinofilní leukocyty.
5. Léčba je neuspokojivá s malým efektem systémové kortikoterapie nebo kombinace imunosupresiv.
6. Prognóza CPFE oproti IPF je v závislosti na studiích různá s ohledem na typ emfyzému, přítomnost plicní arteriální hypertenze.

Vysvětlivky: CPFE – syndrom plicní fibrózy a emfyzému, DL_{co} – difuzní plicní kapacita, FEV₁ – forsírovaná vitální kapacita za 1 sekundu, FVC – forsírovaná vitální kapacita, TLC – totální plicní kapacita.

bulka 18 popisuje HRCT nálezy u CPFE a tabulka 19 je pomocí při diagnostice. Obrázek 13 CPFE a HRCT hrudníku.

ZÁVĚR

Diferenciální diagnostika radiologického obrazu UIP je široká a platí věta, že IPF = UIP, ale UIP ≠ IPF. V rámci diferenciální diagnostiky je nejobtížnější odlišení od chronické formy exogenní alergické alveolity, UIP u systémových onemocnění pojiva, sarkoidózy IV. stadia a fibrotizující varianty NSIP.

LITERATURA

- Travis WD, Costabel U, Hansell DM et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188:733–748.
- American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. This joint statement of the American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) was adopted by the ATS board of directors, June 2001 and by the ERS Executive Committee, June 2011. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:277–304.
- Raghu G, Collard HR, Egan JJ et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: Idiopathic pulmonary fibrosis: Evidence-based guidelines for diagnosis and management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183:788–824.
- Doubková M, Uher M, Bartoš V et al. Prognostické faktory idiopatické plicní fibrózy (IPF) – analýza českého registru IPF. *Cas Lek Cesk* 2016; 155(4):22–28.
- Vašáková M. Idiopatická plicní fibróza – doporučený postup. <http://www.pneumologie.cz/guidelines/>. Navštíveno dne 11. 1. 2017.
- Doubková M, Binková I, Skříčková J. Familiární idiopatická intersticiální pneumonie – případ jedné rodiny. *Studia Pneumol Phthiseol* 2013; 73:179–183.
- Lee HL, Ryu JH, Wittmer MH et al. Familial idiopathic pulmonary fibrosis: clinical features and outcome. *Chest* 2005; 127:2034–2041.
- Steele MP, Speer MC, Loyd JE et al. Clinical and pathologic features of familial interstitial pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:1146–1152.
- Bradley B, Bradley HM, Egan JJ et al. Interstitial lung disease guideline: the British thoracic in collaboration with the thoracic society of Australia and New Zealand and the Irish thoracic society. *Thorax* 2008; 63 Suppl 5:1–58.
- Bouros D, Wells AU, Nicholson AG et al. Histopathologic subsets of fibrosing alveolitis in patients with systemic sclerosis and their relationship to outcome. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165:1581–1586.
- Tansey D, Wells Au, Colby TV et al. Variations in histological patterns of interstitial pneumonia between connective tissue disorders and their relationship to prognosis. *Histopathology* 2004; 44:585–596.
- Lee HK, Kim DS, Yoo B et al. Histopathologic pattern and clinical features of rheumatoid arthritis-associated interstitial lung disease. *Chest* 2005; 127:2019–2027.
- Nicholson AG, Colby TV, Wells AU. Histopathological approach to patterns of interstitial pneumonia in patient with connective tissue disorders. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2002; 19:10–17.
- Parambil JG, Myers JL, Lindell RM, Matteson EL, Ryu JH. Interstitial lung disease in primary Sjögren syndrome. *Chest* 2006; 130:1489–1495.
- Bonela F, Costabel U. Biomarkers in connective tissue disease-associated interstitial lung disease. *Semin Respir Crit Care Med* 2014; 35(2):181–200.
- Jacob J, Hansell DM. HRCT of fibrosing lung disease. *Respirology* 2015; 20:859–872.
- Wuyts WA, Cavazza A, Rossi G et al. Differential diagnosis of usual interstitial pneumonia: when is it truly idiopathic? *Eur Respir Rev* 2014; 23:308–319.
- Vašáková M. Sledování a vyšetřování u pacientů dlouhodobě užívajících léky s významným rizikem plicních imunopatologických a toxických reakcí. <http://www.pneumologie.cz/guidelines/>. Citováno dne 11. 1. 2017.
- Hunninghake GW, Costabel U, Ando M et al. ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1999; 16:149–173.
- Wells AU, Hirani N. Interstitial lung disease guideline. *Thorax* 2008; 63:1–58.
- Kolek V. Sarkoidóza. Známé a neznámé. Grada, Praha 1998; s. 239.

22. Valeyre D, Nunes H, Bernaudin JF. Advanced pulmonary medicine. *Curr Opin Pulm Med* 2014; 20:488–495.
23. Shigemitsu H, Azuma A. Sarcoidosis and interstitial pulmonary fibrosis; two distinct disorders or two ends of the same spectrum. *Curr Opin Pulm Med* 2011; 17:303–307.
24. Copley SJ, Wells AU, Sivakumaran P et al. Asbestosis and idiopathic pulmonary fibrosis: comparison of thin-section CT features. *Radiology* 2003; 229:731–736.
25. Tomasetti S, Ryu JH, Piciucchi S, Chilosi M, Poletti V. Nonspecific interstitial pneumonia: what is the optimal approach to management? *Semin Respir Crit Care Med* 2016; 37:378–394.
26. Cottin V et al. Combined pulmonary fibrosis and emphysema: a distinct underrecognised entity. *Eur Respir J* 2005; 26:586–593.
27. Mejia M, Carrillo G, Rojas-Serrano J et al. Idiopathic pulmonary fibrosis and emphysema: decreased survival associated with severe pulmonary arterial hypertension. *Chest* 2009; 136:10–15.
28. Sugino K, Ishida F, Kikuchi N et al. Comparison of clinical characteristics and prognostic factors of combined pulmonary fibrosis and emphysema versus idiopathic pulmonary fibrosis alone. *Respirology* 2014; 19:239–245.

Došlo: 12. 1. 2017

Adresa:

MUDr. Martina Doubková, Ph.D.

Klinika nemocí plicních a TBC, FN a LF MU

Jihlavská 20

625 00 Brno

Česká republika

e-mail: doubkovamartina@seznam.cz

Epidemiologická situace TBC v České republice v roce 2016

J. Wallenfels

Národní jednotka dohledu nad tuberkulózou, Nemocnice Na Bulovce, Praha

SUMMARY

Epidemiological situation of tuberculosis in the Czech Republic in 2016

In 2016, 517 new cases or recurrences of tuberculosis (TB) of all forms and locations were reported in the Czech Republic. The relatively highest number of TB cases occurred in the Pilsen Region and the least affected was the South Bohemian Region. Seventy-four percent of TB cases were confirmed bacteriologically. Ten TB cases were reported in the age group 0–14 years. Twenty-six percent of TB cases were diagnosed in patients born in countries other than the Czech Republic. Multidrug-resistant TB cases accounted for 1.7 % of the total reported (with available results of drug sensitivity testing). Twenty-seven deaths from TB were reported to the tuberculosis registry. With the reported TB incidence rate of 4.9 cases per 100,000 population, the Czech Republic ranks among the countries with the lowest incidence of TB in Europe.

Keywords: Czech Republic, epidemiological situation, tuberculosis registry, tuberculosis, 2016

SOUHRN

V roce 2016 bylo v České republice hlášeno 517 nových případů (a recidiv) TBC všech forem a lokalizací. Relativně nejvíce onemocnění bylo v Plzeňském kraji, nejméně v Jihočeském kraji. 74 % TBC bylo bakteriologicky ověřeno. Ve věkové skupině 0–14 let bylo hlášeno 10 případů TBC. Podíl osob narozených mimo Českou republiku se zjištěnou TBC v České republice představoval 26 % z celkové notifikace. Podíl multirezistentní TBC činil 1,7 %. Do registru TBC bylo nahlášeno 27 úmrtí na TBC. S hlášenou incidencí TBC 4,9 na 100 000 obyvatel se Česká republika řadí k zemím s nejnižším výskytem TBC v Evropě.

Klíčová slova: Česká republika, epidemiologická situace, Registr tuberkulózy, tuberkulóza, 2016

V roce 2016 bylo v České republice hlášeno 517 nových případů (a recidiv) TBC všech forem a lokalizací, což představuje 4,9 hlášených TBC na 100 000 obyvatel. Roční počty hlášených TBC až do roku 2013 klesaly, od té doby však zůstávají prakticky neměnné v rozmezí 502 až 518. Podíl dříve léčených byl 5,4 %. Muži se na notifikaci TBC podíleli 68 % (354 případů). Podíl plicních TBC činil 87 % (448 případů). Do Registru TBC bylo nahlášeno 26 úmrtí na TBC, tj. 0,25 na 100 000 obyvatel.

Relativně nejvíce nemocných mělo bydliště v Plzeňském kraji (49 případů, což je 8,5 na 100 000 obyvatel). Po mnoha letech tak byla nejvyšší nemocnost v jiném kraji než v Hl. m. Praze. V Praze je však s velkým odstupem hlášen nejvyšší počet případů TBC (105 případů, tj. 8,2 na 100 000 obyvatel). Nad celostátním průměrem byly dále Liberecký kraj (6,6 na 100 000 obyvatel), Pardubic-

ký kraj (6,0 na 100 000 obyvatel) a Ústecký kraj (5,6 na 100 000 obyvatel). Nejpříznivější situace byla v Jihočeském kraji s 11 hlášenými případy a incidencí 1,7 na 100 000 obyvatel.

Počty případů TBC nemocných v roce 2016 s tzv. přidruženými podmínkami a přidruženými nemocemi (rizikovými faktory) sledovanými v Registru TBC zachycují tabulky 1 a 2.

Podíl bakteriologicky ověřených TBC činil 73,5 % (380 případů). Z epidemiologického hlediska nejzávažnějších forem TBC, totiž TBC plic mikroskopicky pozitivních ze sputa, bylo zjištěno 193.

Nejvyšší nemocnost TBC byla u mužů ve věkové skupině 75+ (12,1 na 100 000 mužů). Jen o málo nižší pak ve věkových skupinách 55–59, 50–54 a 45–49 let (11,9; resp. 11,4 a 11,4 na 100 000 mužů), u žen ve věkové skupině 75+ (7,7 na 100 000 žen). U dětí (ve věkové skupině 0–14 let) bylo v roce 2016 hlášeno 10 případů TBC, všechny

Tabulka 1: Přidružené podmínky, Registr TBC, rok 2016

Přidružené podmínky	Počet
alkoholik	69
azylant	9
bezdomovec	23
dialýza	1
domov seniorů	6
homosexuál	0
hospitalizace pro jiné onemocnění	8
jiná imunosupresivní léčba	10
jiná sociální lůžka	5
jiné	25
jiné profesní riziko	7
kontakt s TBC	64
kortikoidy systémově	13
kuřák	235
LDN, hospic	1
léčba anti TNFalfa	6
mateřství do 1 roku po porodu	6
nezaměstnaný	56
neznámo	20
osaměle žijící	37
psychiatrická léčebna	3
Rom	32
těhotenství	4
toxikoman	12
učitel	1
výkon trestu/vazba	14
zdravotník	9
žádné	108

ve věkové skupině 0–4 roky. Ve všech případech se jednalo o TBC dýchacího ústrojí. Děti se narodily v České republice, v jednom případě ve Vietnamu.

Podíl osob narozených mimo Českou republiku se zjištěnou TBC v České republice v roce 2016 představoval 29,2 % z celkové notifikace, což bylo nejvíce v historii. V Praze činil tento podíl dokonce 48,6 %. Jednalo se v absolutních číslech o 151 případů (pro srovnání nejvyšší počet byl dosud zaznamenán v roce 2008 a činí 186 případů) celkem z 22 států, nejvíce z Ukrajiny (41 případů), Rumunska, Slovenska a Vietnamu (po 21 případech).

Tabulka 2: Přidružené nemoci, Registr TBC, rok 2016

Přidružené nemoci	Počet
AIDS	1
diabetes mellitus	67
duševní onemocnění	29
HIV pozitivita	5
chronické onemocnění plic a průdušek	85
jaterní onemocnění	43
jiné	77
neznámo	23
pneumokonióza	8
stav po transplantaci	1
vředová choroba	25
zhoubný novotvar	37
žádné	221

Nebyla hlášena ani jedna TBC u občana Afghánistánu, Iráku či Sýrie.

Pokud jde o způsob zjištění, pak 72 % TBC bylo zjištěno pro obtíže, 7,4 % při vyšetřování kontaktů, 7,0 % kontrolou osob z rizikových skupin, 3,5 % pitvou a 10,1 % náhodně.

Rezistence k INH, RIF, PZA, ETH nebo STR byla zaznamenána u 33 nemocných z 361 (9,1 %), u kterých jsou výsledky testů citlivosti k dispozici. U 6 z nich šlo o multirezistentní TBC (1,7 %).

5 případů TBC bylo zjištěno u osob HIV pozitivních. Jednalo se o nemocné (3 muže a 1 ženu) původem z Ukrajiny, v 1 případě šlo o dítě narozené v České republice. Podíl nemocných vyšetřených na HIV byl 40 %.

Pokud jde o výsledky hodnocení léčby případů TBC hlášených v roce 2015 (hodnocení se provádí až po 12 měsících od jejího zahájení), pak léčebného úspěchu (vyléčen + léčení ukončeno) bylo dosaženo v 68 % případů, 19 % nemocných zemřelo na TBC nebo z jiných příčin a ve zbylých 13 % šlo buď o pokračování léčby, přerušování léčby, selhání léčby, přestěhování nemocného, či údaje nebyly k dispozici.

LITERATURA

1. Registr tuberkulózy. <http://eregpublic.ksrzis.cz/cms/web/Stranky/TBC.aspx>