

ISSN 1213-810X

Indexed in EMBASE /Excerpta Medica

STUDIA

76

5

ŘÍJEN

2016

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 5

STUDIA

PNEUMOLOGICA

ET PHTHISEOLOGICA

ŘÍJEN 2016
ROČNÍK 76

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

M. Vašáková: Co je nového v oblasti intersticiálních plicních procesů?	163
R. Vyšehradský, I. Paálová, I. Kocan, D. Slovákova: Faktory ovlivňující senzitivnost poměru CD4+/CD8+ lymfocytů v bronchoalveolární lavážové tekutině pacientů se sarkoidózou	168
H. Novosadová, I. Majer, P. Hlavčák, K. Baluchová: Mutační analýzy EGFR z bronchiálních sterů u pacientů s nemalobunčovým karcinómem plic	175
V. Kolek: Význam Y stentů u procesů v centrálních dýchacích cestách – dlouhodobé sledování	181
J. Wallenfels: Epidemiologická situace TBC v České republice v roce 2015	187
Eva Voláková: Zpráva o novinkách na ERS kongresu v Londýně	189

Contents

M. Vašáková: What is new in interstitial lung diseases?	163
R. Vyšehradský, I. Paálová, I. Kocan, D. Slovákova: Factors influencing the sensitivity of the CD4+/CD8+ lymphocyte ratio in bronchoalveolar lavage fluid from patients with sarcoidosis	168
H. Novosadová, I. Majer, P. Hlavčák, K. Baluchová: EGFR mutation testing from bronchial brushing samples in patients with non-small cell lung cancer	175
V. Kolek: Role of Y stents in central airway disease – a long-term follow-up	181
J. Wallenfels: Epidemiological situation of tuberculosis in the Czech Republic in 2015	187
Eva Voláková: News at the ERS Congress in London	189

Co je nového v oblasti intersticiálních plicních procesů?

M. Vašáková

Pneumologická klinika, 1. LF UK a Thomayerova nemocnice, Praha

SUMMARY

What is new in interstitial lung diseases?

Interstitial lung diseases (ILDs) are a group of serious diseases that are relatively difficult to diagnose and treat. Fortunately, the recent years have seen considerable advances in understanding the diseases and in the development of novel drugs, mainly in the area of idiopathic pulmonary fibrosis. A multidisciplinary team is crucial for making the right diagnosis of ILDs and selecting therapy. As for the biopsy procedures used to diagnose ILDs, cryobiopsy, a novel technique, is of great benefit as it may provide sufficiently large samples of lung tissue with a much lower risk of complications for patients. A new subgroup of ILDs is the so-called interstitial pneumonia with autoimmune features in which an ILD is associated with some of the signs typical for systemic connective tissue diseases but it does not meet the criteria for their diagnosis. Recently, there has been a lot of progress in ILD research and treatment and, hopefully, other ILDs will soon be better understood, such as the relatively overlooked extrinsic allergic alveolitis.

Keywords: interstitial lung diseases, idiopathic pulmonary fibrosis, multidisciplinary team, interstitial pneumonia with autoimmune features

SOUHRN

Intersticiální plicní procesy (IPP) jsou skupinou závažných nemocí s poměrně obtížnou diagnostikou a léčbou. Naštěstí v poslední době dochází k velkému rozvoji poznání a vývoji nových léků, a to hlavně v oblasti idiopatické plicní fibrózy. Multidisciplinární team je klíčový pro stanovení správné diagnózy IPP a určení dalšího léčebného postupu. Stran biopstické diagnostiky IPP je výhodou nová metoda kryobiopsie, která může poskytnout dostatečně velký vzorek plicní tkáně s výrazně menším rizikem komplikací pro pacienta. Novou skupinou IPP jsou tzv. intersticiální pneumonie s autoimunitními rysy (IPAF), kdy je IPP spojen s některou ze známek typických pro systémovou nemoc pojiva (SNP), nicméně nejsou splněna kritéria pro diagnózu SNP. Oblast výzkumu a léčby IPP se v poslední době výrazně vyvíjí a doufáme, že brzo se rozvine poznání i u jiných IPP, jako například u nyní poněkud přehlížené exogenní alergické alveolitidy.

Klíčová slova: intersticiální plicní procesy, idiopatická plicní fibróza, multidisciplinární team, intersticiální pneumonie s autoimunitními rysy

Sešel se rok s rokem a s tím opět nadešel i můj čas shrnout, co se událo nového v oblasti intersticiálních plicních procesů (IPP). Dlužno poznamenat, že jsem zprvu váhala, zda bude vůbec co nového psát, pak jsem si ale uvědomila, že se v oblasti IPP v poslední době vlastně děje pořád něco nového.

Nejvíce změn je v oblasti **idiopatické plicní fibrózy (IPF)**, na kterou je soustředěna asi největší pozornost. Antifibrotická léčba už si v České republice vydobyla neoddiskutovatelné místo a pacienti s IPF jsou v ČR v relativním bezpečí před neindikovanou a neopodstatněnou léčbou kortikoidy či cytostatiky. Antifibrotické léky se stanovenou úhradou máme již v ČR dokonce dva, a to pirfenidon a nintedanib, oba hrazené pro pacienty s IPF v režimu vysoce inovativního léčivého prostředku.

Debaty se vedou o tom, který lék zvolit, u kterého pacienta jako první, a kdy případně switchovat na druhý. Neexistují na to jasná doporučení a při zahájení léčby by vodítkem měla být diskuze s pacientem o nežádoucích účincích léku (tedy který vedlejší účinek je pacient schopen lépe tolerovat, zdali průjmy, nebo zvracení a fototoxicitu). Také by měly být zohledněny přidružené nemoci a léky, zvláště nutnost užívání inhibitorů protonové pumpy a antidepresiv, případně nutnost pobytu na slunci, kdy by hrozila významná interference s pirfenidonem. Naopak antikoagulační léčba je riskantní v kombinaci s nintedanibem, který sám má jako vedlejší účinek krvácení. Přítomnost dvou antifibrotických léků na našem trhu ale také dává možnost změny léčby v situaci, kdy nežádoucí účinek jednoho z léků je tak závažný, že lék musí být

vyšazen, případně dojde k takovému poklesu plicních funkcí, že pacient vypadne z léčby splněním tzv. stopping-rules [1].

Z doporučení pro léčbu IPF se pomalu vytratily inhibitory protonové pumpy, a to pro prokázaný nulový efekt na pokles plicních funkcí a potenciální interferenci s pirfenidonem. Tyto léky tedy zůstávají rezervované pro pacienty se symptomatickým refluxem. Také jsme ustoupili od paušálního podávání N-acetylcysteinu, neboť nebyl prokázán žádný vliv na pokles plicních funkcí ve studii Panther, navíc se ukázalo, že N-acetylcystein přidaný k pirfenidonu má spíše negativní vliv. Malou skupinkou pacientů, kteří mají profit z léčby N-acetylcysteinem, jsou jedinci s genovým polymorfismem TOLLIP, a to s genotypem rs3750920 (TOLLIP) TT. Naopak u těch, kdo mají genotyp CC na této pozici, N-acetylcystein může zhoršovat pokles plicních funkcí [2].

Multidisciplinární team (MDT) hraje významnou roli v diagnostice a následné léčbě IPP a multidisciplinární teamy jsou již etablovány ve všech Centrech pro diagnostiku a léčbu IPP v ČR. Minimálně by v něm měli být zastoupeni pneumolog zbrhlý v problematice IPP a radiolog i patolog vyškolený v diagnostice a diferenciální diagnostice IPP. Minimální a optimální kritéria pro MDT IPP nejsou doposud striktně dána, nicméně návrh vzniklý na podkladě doporučení pracovní skupiny v čele s panem profesorem Wellsem je vcelku dobře aplikovatelný (tabulka 1). Někdy i po zhodnocení případu pacienta MDT zůstává diagnóza nejednoznačná. Je to kupříkladu u pacientů, kteří si nepřejí plicní

biopsii, i když je radiologický nález nejednoznačný, nebo ji prostě nemohou podstoupit (pokročilý fibrotizující proces) [3,4,5]. Zde pak je problematické žádat o schválení úhrady antifibrotické léčby, neboť pojišťovny vyžadují jednoznačný a typický obraz IPF pro úhradu léčby. Není to bohužel spravedlivé vůči těm pacientům, kde kupříkladu chybí voštinovitá plíce, ať už radiologicky, nebo histopatologicky, neboť jejich prognóza je stejná jako u těch s obrazem typické obvyklé intersticiální pneumonie (UIP). Zde bude ještě nutná další diskuze s plátcí. Problematickou zůstává i skupina pacientů s IPF s dobrými plicními funkcemi, a to s vitální kapacitou nad 90 % náležitých hodnot, pro kterou antifibrotická léčba není hrazena, i když je prakticky jisté, že časná léčba IPF prodlužuje přežití.

Nově se rodící skupinou idiopatických intersticiálních pneumonií je skupina intersticiálních pneumonií s autoimunitními rysy (IPAF), která víceméně odpovídá skupině nediferencovaného systémového onemocnění pojiva (UCTD) s převážně plicním postižením. Skupina IPAF zahrnuje pacienty s IPP a některými znaky systémové nemoci pojiva (SNP), u nichž nejsou naplněna diagnostická kritéria pro diagnózu SNP [6,7]. Pro diagnózu IPAF je potřebné splnit nejméně jeden znak z níže uvedených skupin klinických, serologických a morfoloogických znaků (tabulka 2).

Zcela zásadní změnu v morfoloogické diagnostice IPP přineslo použití kryometody při transbronchiální biopsii a dalo vznik transbronchiální kryobiopsii. Při tomto typu bronchoskopické biopsie je pacient vyšetřován zpravidla v celkové anestezii či

Tabulka 1: Minimální a optimální standard pro multidisciplinární team IPP

	Minimální standard	Optimální standard
frekvence	měsíčně	týdně
výběr pacientů charakter MDT	nejasné a nedefinované IPP přímý kontakt, telelink klinik + radiolog + patolog	všichni IPP pacienti, i pro edukační účely veřejné fórum, diskuze mezi účastníky a auditoriem, plný přístup k relevantním zobrazovacím metodám a patologickým nálezům
účastníci	klinik, radiolog a patolog se zájmem o IPP – propojení se skupinou expertů	2 klinici, radiologové, patologové (k pokrytí absencí)
cíle meetingu	diagnóza diagnostická rozvaha před biopsií	diagnóza diagnostická rozvaha před biopsií návrhy léčby sledování vybraných pacientů
dokumentace	MD diagnóza první volby diferenciální diagnóza, reverzibilita doporučení dalších diagnostických testů konečná MD diagnóza zaznamenána v dokumentaci	MD diagnóza první volby diferenciální diagnóza, reverzibilita doporučení dalších diagnostických testů konečná MD diagnóza zaznamenána v dokumentaci

Tabulka 2: Diagnostické znaky IPAF**Klinické znaky:**

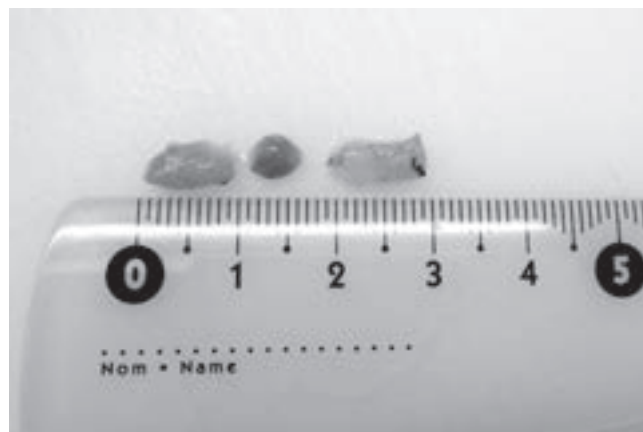
- Praskliny konců prstů (ruce mechanika)
- Ulcerace konců prstů
- Zánětlivá artritida a polyartikulární ranní ztuhlost trvající déle než 60 minut
- Teleangiektázie v oblasti dlaní
- Raynaudův syndrom
- Nevysvětlitelné otoky prstů
- Nevysvětlitelný trvalý rash nad distálními extensory (Gottronova známka)

Sérologické znaky:

- Titr ANA 1 : 320, fluorescence homogenní, tečkovitá nebo difuzní/ANA jadéřková fluorescence (jakýkoliv titr)/ANA centromérová fluorescence (jakýkoliv titr)
- RF dvojnásobek normy, anti-CCP
- Anti-dsDNA
- Anti-Ro (SS-A), anti-La (SS-B)
- Anti-ribonukleoproteiny, anti-Smith
- Anti-topoizomeráza (Scl-70)
- Anti-tRNA syntetáza (tj. Jo-1, PL-7, PL-12, EJ, OJ, KS, Zo, tRS)
- Anti-PM-Scl, anti-MDA5

Morfologické znaky:

- 1. Odpovídající HRCT obraz
 - NSIP
 - OP
 - Překryv NSIP a OP
 - LIP
- 2. Odpovídající histopatologický obraz
 - NSIP
 - OP
 - Překryv NSIP a OP
 - LIP
 - Intersticiální lymfoidní agregáty s germinálními centry
 - Difuzní lymfoplazmocytární infiltráty (s nebo bez lymfatických folikulů)
- 3. Vícečetné orgánové postižení
 - Nevysvětlitelný pleurální výpotek nebo zesílení pleury
 - Nevysvětlitelný perikardiální výpotek nebo zesílení perikardu
 - Nevysvětlitelné onemocnění dýchacích cest (včetně nemoci s obstrukční ventilační poruchou, bronchiolitidou a bronchiektázií)
 - Nevysvětlitelná plicní vaskulopatie

Obrázek 1: Vzorky plicní tkáně získané kryobiopsií

analgoosedací a dýchací cesty jsou zajištěny rigidním bronchoskopem. Tím je pak zaváděna do místa biopsie kryosonda, jejíž polohu si vizualizujeme použitím skiaskopie. Dle typu mrazicí sondy a typu mrazení aplikujeme sondou na plicní tkáň teplotu $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 4–6 s. a poté tkáň přimraženou na sondě vytrhujeme. Pro stavění krvácení si můžeme do dýchacích cest preventivně vkládat Fogartyho balonkový katetr. Transbronchiální kryobiopsie získává vzorky o průměru až 5–7 mm, čímž se zvyšuje výtěžnost TBB až na 80 % (obrázek 1). U většiny pacientů s difuzními plicními procesy se tak můžeme vyhnout invazivnější chirurgické plicní biopsii, a tím zvýšenému riziku akutní exacerbace. Vzhledem k tomu, že transbronchiální kryobiopsie má oproti klasické TBB vyšší pravděpodobnost pneumotoraxu (až 20 %), pacienti jsou hospitalizováni a sledováni obvykle do druhého dne po zákroku [8].

Je dobré, že se poznání v oblasti IPP nadále vyvíjí. Dává to tak větší šanci pacientům s IPP na efektivní léčbu a delší přežití. Doufejme, že v nejbližší době dojde i k posunu v oblasti doposud zanedbané exogenní alergické alveolitidy, která zvláště ve své chronické formě způsobuje svým nositelům výrazné obtíže a zkracuje jim život.

LITERATURA

1. Raghu G, Rochwerg B, Zhang Y et al. On behalf of ATS, ERS, JRS and ALAT. An official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline: treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: executive summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 192:238–248.
2. Oldham JM, Ma SF, Martinez FJ et al. IPFnet Investigators. TOLLIP, MUC5B, and the Response to N-Acetylcysteine among Individuals with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2015; 192(12):1475–1482.
3. Raghu G, Collard HR, Egan JJ et al. On behalf of the ATS/ERS/JRS/ALAT Committee on Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idio-

- pathic Pulmonary Fibrosis: Evidence-based Guidelines for Diagnosis and Management. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 183:788–824.
4. Tomassetti S, Piciocchi S, Tantalocco P et al. The multidisciplinary approach in the diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis: a patient case-based review. *Eur Resp Rev* 2015; 24:69–77.
 5. Gotway MB, Freemer MM, King TE Jr. Challenges in pulmonary fibrosis. The use of high resolution CT scanning of the lung for the evaluation of patients with idiopathic interstitial pneumonias. *Thorax* 2007; 62:546–553.
 6. Fischer A, Antoniou KM, Brown KK et al. An official European Respiratory Society/American Thoracic Society research statement: interstitial pneumonia with autoimmune features. *Eur Resp J* 2015; 46(4):976–987.
 7. Kinder BW, Collard HR, Koth L et al. Idiopathic nonspecific interstitial pneumonia. Lung manifestation of undifferentiated connective tissue disease? *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176:691–697.
 8. Gershman E, Fruchter O, Benjamin F et al. Safety of cryo-transbronchial biopsy in diffuse lung diseases: Analysis of three hundred cases. *Respiration* 2015; 90(1):40–46.

Faktory ovplyvňujúce senzitivnosť pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov v bronchoalveolárnej lavážovej tekutine pacientov so sarkoidózou

R. Vyšehradský¹, I. Paálová², I. Kocan³, D. Slovákova⁴

¹Klinika pneumológie a ftizeológie, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského v Martine a Univerzitná nemocnica Martin; ²Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského v Martine;

³Klinika pneumológie a ftizeológie, Univerzitná nemocnica Martin;

⁴Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin

SUMMARY

Factors influencing the sensitivity of the CD4+/CD8+ lymphocyte ratio in bronchoalveolar lavage fluid from patients with sarcoidosis

Presented are results of a retrospective analysis of clinical data. First, the value of the CD4+/CD8+ T-lymphocyte ratio for diagnosing sarcoidosis was assessed based on analysis of 241 samples of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) from patients with various diseases. An optimal cut-off ratio of 3.5 : 1 was determined by receiver operating characteristic of the evaluated parameter. With this ratio, the sensitivity of the parameter was 0.68, specificity 0.9, positive predictive value 0.91 and negative predictive value 0.65. Subsequently, factors influencing the sensitivity of this parameter were evaluated by analyzing data from 113 patients with sarcoidosis. The most significant impact on sensitivity was found in polyarthralgia, erythema nodosum, radiographic stage of the disease, T-lymphocyte proportion in BALF, disease manifestation (chronic versus others), and gender.

Based on the above facts, the authors conclude that the CD4+/CD8+ T-lymphocyte ratio in BALF is not a generally acceptable test for diagnosing sarcoidosis. However, they admit that the diagnosis may be based on clinical and radiographic features with support of typical findings in BALF, mainly in women with acute disease onset, radiographic stage I or II, significant lymphocytosis in BALF, and concurrent polyarthralgia and erythema nodosum. The sensitivity of the evaluated parameter reached 0.88 in these subsets.

Keywords: sarcoidosis, bronchoalveolar lavage fluid, CD4+/CD8+ ratio, sensitivity

SÚHRN

Autori prezentujú výsledky retrospektívnej analýzy vlastného klinického materiálu. V prvej etape hodnotili diagnostickú výťažnosť pomeru CD4+/CD8+ T-lymfocytov pre sarkoidózu na základe analýzy 241 vzoriek bronchoalveolárnej lavážovej tekutiny (BALT) pacientov s rôznymi ochoreniami. Na základe receiver-operating characteristic skúmaného parametra vyhodnotili ako optimálnu medznú hodnotu pomer 3,5 : 1. Pri tejto medznej hodnote bola jeho senzitivnosť 0,68; špecifickosť 0,9; pozitívna prediktívna hodnota 0,91 a negatívna prediktívna hodnota 0,65. Následne hodnotili faktory ovplyvňujúce senzitivnosť uvedeného parametra pomocou analýzy súboru 113 pacientov so sarkoidózou. Najvýznamnejší vplyv na senzitivnosť mali v hodnotenom súbore: výskyt polyartralgii, nodózneho erytému, rádiografické štádium choroby, zastúpenie lymfocytov v BALT, spôsob manifestácie ochorenia (chronické versus iné) a pohlavie pacientov.

Na základe týchto skutočností autori nepovažujú pomer medzi CD4+ a CD8+ lymfocytmi v BALT za všeobecne použiteľný diagnostický test pri sarkoidóze. Avšak pripúšťajú možnosť stanoviť diagnózu na základe klinického a rádiografického obrazu s podporou typického nálezu v BALT, najmä u žien s akútnym nástupom ochorenia, s rádiografickým štádiom I alebo II, s významnou lymfocytózou v BALT a so súčasným výskytom polyartralgii a nodózneho erytému. V týchto podskupinách dosiahla senzitivnosť testovaného parametra 0,88.

Kľúčové slová: Sarkoidóza, bronchoalveolárna lavážová tekutina, pomer CD4+/CD8+, senzitivnosť

ÚVOD

Diagnostické a diferenciálno-diagnostické využitie pomeru zastúpenia CD4+ a CD8+ lymfocytov v bronchoalveolárnej lavážovej tekutine (BALT) pri sarkoidóze bolo opakovane predmetom klinického skúmania a odborných diskusií. Prvé práce na túto tému boli publikované v roku 1981 a od tohto času ich do roku 2016 možno nájsť v databáze Americkej národnej knižnice medicíny 265. Zaujímavé však je, že nechýbajú práce publikované recentne (v rokoch 2012–2016). To naznačuje, že definitívna odpoveď na základnú otázku stále nebola postulovaná. Závery uvedených publikácií zďaleka nie sú jednotné. Neexistuje jednotnosť v stanovení odporúčanej medznej hodnoty. Tá sa pohybuje od 1,34 [1] až po 4 [2]. Väčšina autorít sa však prikláňa k hodnote 3,5. Pri uvedených medzných hodnotách následne senzitivnosť kolíše od 52 % [1] až po 91,7 % [3] a špecifickosť sa pohybuje v rozpätí od 73 % až po 96 % [1]. Celkové hodnotenie diagnostickej použiteľnosti tohto parametra potom osciluje od silne entuziastických postojov [napr. 3,4] cez zdržanlivé kritické hodnotenia [1] až po skepsu jednej z najväčších autorít v danej oblasti [5]. Okrem metodického nesúladu a subjektívneho pohľadu autorov sa na divergentnosti prezentovaných výsledkov podieľa zrejme aj rozdielnosť skúmaných populácií. Na vzťah diagnostickej výťažnosti sledovaného parametra k rôznym okolnostiam (symptomatickosť ochorenia, spôsob jeho manifestácie, štádium) poukázalo už viacero autorov [2,6,7].

Uvedené nejasnosti a rozpory boli pre nás motívom k analýze vlastného klinického materiálu, ktorú prezentujeme v tejto práci.

MATERIÁL A METODIKA

Išlo o klinické pozorovanie pozostávajúce z dvoch častí. V prvej etape sme na základe retrospektívnej analýzy 241 vzoriek BALT, odobraných na našom pracovisku z rôznych indikácií v období od januára 2013 do septembra 2015, stanovili medznú hodnotu pomeru medzi CD4+ a CD8+ T-lymfocytmi, optimálnu v našom materiáli pre diagnostické použitie u sarkoidózy. Z uvedeného súboru 94 vzoriek pochádzalo od pacientov so sarkoidózou, po 22 vzoriek od pacientov s hypersenzitívnou pneumonitídou a s bronchopneumóniou, 14 vzoriek od pacientov s organizujúcou pneumóniou, 10 s chronickou obštrukčnou chorobou pľúc, 7 s prieduškovou astmou, 6 s nešpecifickou intersticiálnou pneumóniou, 5 s granulomatóznymi ochoreniami inými než sarkoidózou, 42 s inými rôznorodými diagnózami s nízkym zastúpením.

V druhej etape sme následne hodnotili senzitivnosť takto stanoveného diskriminačného kritéria a vplyv rôznych okolností a faktorov na jeho senzitivnosť. Sledovali sme vplyv veku, pohlavia, rádiografického štádia ochorenia, charakteru klinickej manifestácie a priebehu (akútne – chronické), výskyt klinických symptómov (febrilita, polyartralgie, nodózne erytém, kašeľ, dýcha-

vica, bolesť na hrudníku), charakter nálezu pri počítačovej tomografii hrudníka s vysokou rozlišovacou schopnosťou (HRCT), výťažnosť BAL, zastúpenie jednotlivých bunkových elementov v BALT, základné parametre pľúcnych funkcií úsilná vitálna kapacita (FVC), objem vzduchu vydýchnutý za prvú sekundu úsilného výdychu (FEV₁), ich vzájomný pomer, difúzna kapacita pľúc pre oxid uhoľnatý jednodychovou metódou (D_{LCosb}), sérová hladina vápnika, vylučovanie vápnika močom za 24 hodín, výsledok tuberkulínovej skúšky, prítomnosť cystoidných prejasnení na röntgenovej snímke rúk.

Pre tento účel sme opäť retrospektívne vyhodnotili záznamy z ambulantnej aj hospitalizačnej zdravotnej dokumentácie 194 pacientov, ktorým bola stanovená diagnóza sarkoidózy na našom pracovisku v rokoch 1998–2015. Z tohto súboru sme selektovali 113 pacientov, u ktorých bola v čase diagnostikovania ochorenia vykonaná analýza celulárnej komponenty BALT pomocou prietokovej cytometrie. Diagnóza sarkoidózy bola v 44 prípadoch podporená dôkazom prítomnosti nekazeifikujúceho granulomatózneho procesu biopsticky. Z toho v 7 prípadoch išlo o biopsiu lymfatickej uzliny, v 28 prípadoch o biopsiu pľúcneho tkaniva, u 7 pacientov bola bioptovaná postihnutá koža a u 2 bola odobratá biopsia z bronchiálnej sliznice. V 3 prípadoch biopsticky odobratá vzorka tkaniva neobsahovala typické granulómy. V 66 prípadoch bola diagnóza stanovená na základe klinického obrazu a výsledkov pomocných vyšetrení bez dôkazu prítomnosti nekazeifikujúceho granulomatózneho procesu histopatologickým vyšetrením. V uvedenom súbore bolo 62 žien a 51 mužov. Vek v čase diagnostiky sa pohyboval od 24 do 74 rokov (41,9 ± 11,0 rokov). Z hľadiska rozvrstvenia súboru podľa štádií ochorenia, u 1 pacienta sme stanovili štádium „0“, v 24 prípadoch štádium I, v 79 prípadoch štádium II, u 6 pacientov štádium III a u 2 pacientov štádium IV. V 58 prípadoch sme ochorenie klasifikovali ako chronické. Ochorenie bolo klasifikované ako chronické, pokiaľ do 2 rokov sledovania nedošlo spontánne alebo vplyvom farmakoterapie k úplnej alebo podstatnej regresii rádiografických prejavov, alebo ak pretrvávala napriek rádiografickej regresii iná symptomatológia svedčiaca pre aktivitu ochorenia.

Pri hodnotení rádiografického štádia ochorenia sme v zmysle platných medzinárodných odporúčaní [8] vychádzali výhradne z natívnej snímky hrudníka v zadoprednej projekcii bez zohľadnenia HRCT nálezu. Použili sme obvyklé kategórie: štádium 0–IV.

Vyšetrenie pľúc HRCT s hrúbkou rezu 1,5 mm sme robili na Rádiodiagnostickej klinike JLF UK a UNM na prístroji Tomoscan LX fy Philips. Tvrdoš použitého žiarenia bola 130 kV, čas expozície 1,9 sekundy. Pre hodnotenie nálezu pri vyšetrení hrudníka HRCT sme vytvorili nasledovné kategórie: typický nález, nález kompatibilný s diagnózou sarkoidózy, atypický nález. Za typický nález sme považovali dominujúcu prítomnosť mikronodulácie s perilymfatickou distribúciou (v okolí bronchovaskulárnych zväzkov a interlobárnych fissúr a subpleurálne) s predominciou výskytu v horných lalokoch spolu so zväčšením hilových a/alebo mediastinálnych lymfatických uzlín. Za nález kompatibilný s diagnózou sarkoidózy sme považovali zväčšenie hilových a/alebo mediastinálnych lymfatických uzlín bez viditeľného postihnutia pľúcneho parenchýmu alebo s dominujúcimi prejavmi typu opacít mliečneho skla, lineárnym zhrubnutím interlobulárnych sept, náhodne distribuovanými mikronodulmi a absen-

ciu predominantne apikálnej distribúcie typických zmien. Za atypický nález sme považovali prítomnosť makronodulov, prítomnosť kavitácie v noduloch, výhradnú prítomnosť opacít mliečneho skla či zhrubnutú interlobulárnych sept a všetky ďalšie patologické nálezy v pľúcnom interstíciu, ktoré nespĺňali kritériá typického či kompatibilného nálezu.

Vyšetrenie úsilného výdychu sme robili na denne kalibrovanom prístroji MasterLab body fy Erich-Jaeger (Nemecko), pracujúcim v otvorenom systéme (software v. 4.2). Vyšetrenie D_{LCOSb} sme robili na denne kalibrovanom prístroji BodyScope Ganshorn s jednotkami HeliRapid a PowerCube (Nemecko), pracujúcim v otvorenom systéme (software v. 8.4F). Vyšetrenie úsilného výdychu sme robili podľa Metodického odporúčania hlavného odborníka Ministerstva zdravotníctva SR pre odbor Pneumológia a fteozológia [9]. Hodnota FVC bola akceptovaná ako najvyššia dosiahnutá hodnota z 3 manévrov úsilného výdychu, spĺňajúcich kritériá akceptovateľnosti, pričom medzi dvomi najlepšími hodnotami nesmel byť rozdiel väčší ako 10 %, resp. 150 ml (podľa toho, ktorá hodnota bola vyššia). Hodnota pomeru FEV_1/FVC bola akceptovaná ako hodnota z toho manévra z troch manévrov spĺňajúcich kritériá akceptovateľnosti, v ktorom súčet FEV_1 a FVC bol najvyšší. Hodnota D_{LCOSb} bola akceptovaná ako aritmetický priemer z 2 meraní, spĺňajúcich kritériá akceptovateľnosti, medzi ktorými nebol rozdiel v hodnote D_{LCOSb} vyšší ako 10 %, resp. ako 1 mmol/kPa/s (podľa toho, ktorá hodnota bola vyššia). Pre hodnotenie FVC sme použili referenčné hodnoty podľa Európskej spoločnosti pre oceľ a uhlie [10]. Namerané hodnoty D_{LCOSb} boli konfrontované s referenčnými hodnotami podľa Salorinneho [11].

BALT sme získavali prostredníctvom tracheobronchofibroskopického vyšetrenia flexibilným bronchoskopom Olympus BF TYPE 1T10 (Japonsko), zaklineným obvykle v ústí stredného lobárneho bronchu, instiláciou 100–140 ml sterilného 0,9 % roztoku NaCl zahriateho na 37 °C s pH 7,0–7,2, frakcionovane po 20 ml. Vyšetrenie BALT prietokovou cytometriou sme robili v Laboratóriu oddelenia klinickej imunológie

SUNM: po hrubej filtrácii, zahustení centrifugáciou pri 1 400 ot \times min⁻¹ počas 10 min., pufovaní PBS, označení monoklonovými protilátkami (Becton Dickinson), 15–30 min. inkubácii v tme pri izbovej teplote, pridaní stabilizačného roztoku boli vzorky merané na prístroji FACS Calibur (Becton Dickinson). Zaznamenávali sme percentuálne zastúpenie lymfocytov, neutrofilových a eozinofilových leukocytov a pomer zastúpenia CD4+ a CD8+ T-lymfocytov.

Histologické vyšetrenie bioptického materiálu vykonával lekár Ústavu patologickej anatómie JLF UK a UNM. Materiál získaný biopsiou sa spracoval v uvedenom ústave štandardným spôsobom a farbením hematoxylin-eozinom. V prípade potreby bol navyše materiál vyšetrený na prítomnosť mikroorganizmov, vrátane acidorezistentných tyčiek (farbením podľa Gramma, Ziehl-Nielsen a auramínom) a plesní (Grokkotovou metódou a PAS).

Metodikou vyšetrenia hladiny kalcia v sére a jeho vylučovania močom za 24 hodín neuvádzame, nakoľko ide o rutinne vykonávané vyšetrenia so štandardizovanou metódou. Vzhľadom na intraindividuálnu variabilitu hodnôt kalcémie a najmä kalcúrie sme preferovali kalkuláciu zaznamenávanej hodnoty ako aritmetický priemer meraní z troch po sebe nasledujúcich dní. Len ak neboli k dispozícii 3 nezávislé merania, zaznamenávali sme aritmetický priemer z dvoch meraní, či jediné vykonané meranie.

Tuberkulínová reakcia bola realizovaná metódou podľa Mantouxovej v riedení II. Reakcia bola odčítaná vždy tou istou školenou zdravotnou sestrou po 72 hodinách od aplikácie.

Röntgenová snímka rúk v dorzovolárnej a šikmej projekcii bola realizovaná na Rádiodiagnostickej klinike JLF UK a UNM. Vyhodnocovaná bola so zameraním na výskyt cystoidných prejasnení lekárom rádiodiagnostickej kliniky.

Na štatistické hodnotenie sme použili štatistické funkcie tabuľkového procesora Microsoft Excel 2007 a štatistický balík Statgraphics v. 4.0 (STSC, Inc. a Statistical Graphic Corporation). Použili sme deskriptívne metódy (základné štatistiky: aritmetický priemer,

medián, modus, smerodajná odchýlka, minimum, maximum) testovanie normality rozdelenia meraných veličín grafickým porovnaním ich kumulatívnej distribúcie s normálnym rozdelením a následne χ^2 -testom. Základné štatistiky sledovaných parametrov sme uviedli (ak nie je špecifikované inak) ako minimum+maximum; aritmetický priemer \pm smerodajná odchýlka. Nulové hypotézy formulované na základe výsledkov sme podrobili štatistickému testovaniu s využitím Kruskal-Wallisovho testu (neparametrický variant analýzy rozptylu) a párového variantu Wilcoxonovho testu, χ^2 -testu a regresnej analýzy.

Tabuľka 1: Distribúcia hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov u pacientov s chronickým a iným priebehom ochorenia

	Chronický priebeh	Iný priebeh	Spolu	
CD4+/CD8+ \leq 3,5	23	12	35	P < 0,05
CD4+/CD8+ > 3,5	35	43	78	
spolu	58	55	113	

Tabuľka 2: Distribúcia hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov u pacientov s nodóznym erytémom a bez neho

Nodóznym erytém	Áno	Nie	Spolu	
CD4+/CD8+ \leq 3,5	4	31	35	P < 0,01
CD4+/CD8+ > 3,5	30	48	78	
spolu	34	79	113	

VÝSLEDKY

Vzťah medzi diagnostickou senzitivnosťou a špecifickosťou pomeru medzi CD4+ a CD8+ T-lym-

focytmi v BALT zobrazuje obrázok 1 formou „receiver-operating characteristic“ (ROC) – obr. 1.

Plocha pod uvedenou krivkou bola 0,834, čo umožňuje označiť kvalitu testu ako dobrú. Z prezentovanej krivky tiež vyplýva, že výber medznej hodnoty pomeru 3,5 sa zdá byť aj podľa našej skúsenosti ako optimálny. Pri tejto hodnote sme zaznamenali senzitivnosť 0,68; špecifickosť 0,9; pozitívnu prediktívnu hodnotu 0,91; negatívnu prediktívnu hodnotu 0,65 a Youdenov index 0,58.

Na základe vyššie uvedených skutočností sme akceptovali ako medznú hodnotu testovaného parametra 3,5. Pri použití uvedenej medznej hodnoty v súbore 113 pacientov so sarkoidózou, diagnostikovanou v rokoch 1998–2015, vykazoval sledovaný parameter senzitivnosť 69 %.

Následne sme skúmali, či uvedený pomer nadobúda vyššiu prediktívnu hodnotu v subsúbore pacientov s určitou charakteristikou. Keď sme hľadali vzťah diagnostickej hodnoty tohto parametra k iným nami sledovaným ukazovateľom, zistili sme, že k jeho falošnej negativite dochádza častejšie u postihnutých, u ktorých ochorenie prešlo do chronicity. Rozdiel v zastúpení falošne negatívnych výsledkov je štatisticky významný na hladine $P < 0,05$ (tab. 1).

V subsúbore pacientov s chronickým priebehom sarkoidózy bola teda senzitivnosť pomeru 60,3 % oproti 78,2 % u pacientov s iným než chronickým priebehom. Pochopiteľne v čase diagnostiky nie je známe, či ochorenie bude prebiehať chronicky. Skúmaný pomer však môže byť podľa nášho názoru považovaný za istý prediktor priaznivého priebehu bez prechodu do chronicity – pozitívna prediktívna hodnota pre takýto vývoj bola 57,3 %, negatívna prediktívna hodnota 65,7 %.

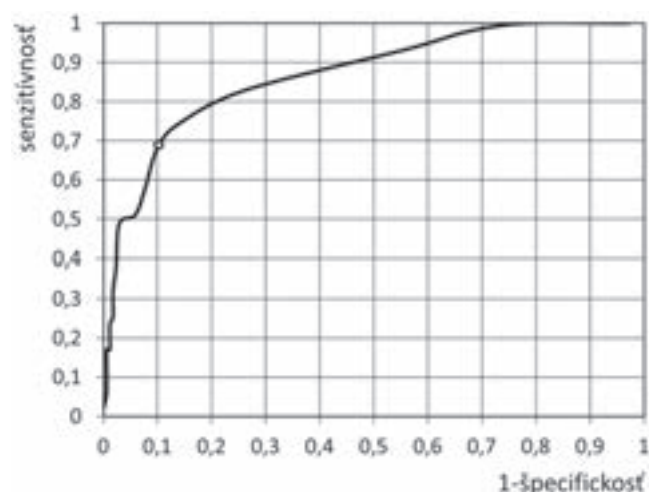
Častejšie sme tiež zaznamenali hodnotu pomeru $> 3,5$ u pacientov s akútnym nástupom ochorenia. Rozdiel v distribúcii hodnôt podľa akútности vzniku však nie je štatisticky významný. Napriek tomu senzitivnosť pomeru v subsúbore pacientov s akútnym začiatkom ochorenia stúpila na 79,3 %. Pri inom než akútnom nástupe bola len 58 %.

Podobne ani medzi pacientmi so zvýšenou telesnou teplotou v čase manifestácie sarkoidózy nebola senzitivnosť skúmaného parametra významne vyššia.

Presvedčivejšie bolo rozdelenie hodnôt pomeru podľa výskytu nodózneho erytému na začiatku ochorenia. Rozdiel bol vysoko signifikantný ($P < 0,01$; tab. 2). V subsúbore pacientov s nodóznym erytémom dosiahla senzitivnosť pomeru 88,2 %.

Pozoruhodná sa zdala byť distribúcia hodnôt pomeru aj podľa röntgenologického štádia choroby, ktorá je zobrazená v tabuľke 3. Kým v štádiách 0, I a II výrazne prevažovali pacienti so zvýšeným pomerom, v štádiu III to bolo naopak a v štádiu IV sme vôbec nezaznamenali jeho významne vyššiu hodnotu. Distribúciu môže skresľovať nerovnomerné rozdelenie početností subjektov podľa štádií

Obrázok 1: Vzťah medzi diagnostickou senzitivnosťou a špecifickosťou pomeru medzi CD4+ a CD8+ T-lymfocytmi v bronchoalveolárnej lavážovej tekutine



Legenda: Krúžok označuje polohu hodnoty pomeru CD4+/CD8+ T-lymfocytov v BALT rovnú 3,5.

choroby. Napriek tomu bol rozdiel vysoko významný ($P < 0,01$). Senzitivnosť pomeru u pacientov v röntgenologickom štádiu 0, I a II dosiahla 72,4 %.

Pohlavie vyšetovaných malo tiež vplyv na distribúciu hodnôt pomeru. U žien bola zvýšená hodnota zaznamenaná častejšie, rozdiel bol signifikantný ($P < 0,05$; tab. 4). V subsúbore žien teda skúmaný parameter dosiahol senzitivnosť 77,4 %, kým v subsúbore mužov to bolo len 58,8 %.

Polyartralgie boli podstatne častejšie v subsúbore pacientov so zvýšeným pomerom. Vplyv výskytu tohto príznaku na distribúciu hodnôt pomeru bol vysoko signifikantný ($P < 0,001$; tab. 5). V subsúbore pacientov s polyartralgiami dosiahla senzitivnosť pomeru hodnotu 87,5 %.

Na distribúciu hodnôt pomeru CD4+ a CD8+ T-lymfocytov v BALT nemali významný vplyv: výskyt bolestí na hrudníku, prítomnosť dýchavice, kašľa, charakter nálezu pri HRCT vyšetrení hrudníka, prítomnosť cystických lézií na natívnej snímke rúk.

Nenašli sme koreláciu medzi hodnotou pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov v BALT a vekom pacientov ($r = 0,01$; $y = 0,03x + 41,7$), ani návratnosťou BALT ($r = 0,13$; $y = 0,23x + 59,7$), hodnotou FEV₁/FVC ($r = 0,08$; $y = 0,11x + 78,54$). Hodnota pomeru slabo korelovala so zastúpením lymfocytov v BALT ($r = 0,21$; $y = 0,82x + 43,18$), s hodnotou D_{LCOSb} ($r = 0,19$; $y = 0,73x + 82,86$) a s hodnotou FVC ($r = 0,17$; $y = 0,6x + 100,16$). Naopak slabo inverzne korelovala s hodnotou kalciúrie ($r = -0,21$; $y = -0,13x + 6,04$), so zastúpením neutrofilových segmentov v BALT ($r = -0,19$; $y = -0,32x + 5,15$) a s hodnotou kalciémie ($r = -0,17$; $y = -0,005x + 2,39$).

Keď sme rozdelili súbor podľa výskytu významnej lymfocytózy v BALT, senzitivnosť pomeru CD4+/CD8+ T-lymfocytov stúpala, pričom najlepšiu hodnotu (77,3 %) dosiahla pri medznej hodnote zastúpenia lymfocytov 40 % (tab. 6).

Prítomnosť hyperkalciúrie neovplyvnila distribúciu hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov v BALT.

Podobne ani návratnosť BALT významne neovplyvňovala distribúciu hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov v BALT.

Kombinácia logického súčtu výberových kritérií vo všeobecnosti by mala viesť k zvýšeniu senzitivnosti pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov v BALT. Negatívom takéhoto prístupu je potenciál k zníženiu špecifickosti použitého diagnostického kritéria. V našom súbore alternatívny výskyt nodózneho erytému a/alebo polyartralgií zvýšil senzitivnosť skúmaného pomeru len na 88,2 %. Ani pridanie významnej lymfocytózy v BALT, ako ďalšieho alternatívneho kritéria, nevedlo k nárastu senzitivnosti (88,2 %).

Kombinácia logického súčinu rôznych kritérií výberu oproti tomu dáva predpoklad vyššej špecifickosti a pozitívnej prediktívnej hodnoty zvolených kritérií. Preto sme zisťovali, či takéto združenie výberových kritérií nezníži významne senzitivnosť skúmaného parametra. Kombinácia súčasného výskytu nodózneho erytému a polyartralgií významnejšie neznížila senzitivnosť pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov v BALT (87 %), v prípade pridruženia výskytu významnej lymfocytózy v BALT klesla senzitivnosť len o ďalšie 1 %.

DISKUSIA

Typickým nálezom pri analýze celulárnej komponenty BALT pacientov so sarkoidózou je zvýšené zastúpenie lymfocytov v rozpätí 30–60 %. Absencia lymfocytózy v BALT však diagnózu sarkoidózy ne-

vylučuje – až 7 % z 318 pacientov malo normálne zastúpenie buniek v BALT [2]. V tej istej štúdií bolo dokumentované, že až 6,2 % z 55 zdravých subjektov malo rozvrstvenie buniek v BALT, aké sa považuje za typické pre sarkoidózu [2]. Zastúpenie jednotlivých buniek v BALT nedokáže diskriminovať sarkoidózu od iných chorôb [12,13].

Z hľadiska diferenciácie fenotypov exprimujúcich predominantne CD4 resp. CD8 povrchové antigény tiež nie sú výsledky doterajších výskumov jednoznačné. Niektoré autority považujú pomer CD4+/CD8+ v BALT za málo hodnotný v diagnostike sarkoidózy [5]. Asi v 5–12 % prípadov dominujú v lymfocytovom infiltráte cieľového orgánu CD8+ lymfocyty [7,14]. Možnosť rozlíšenia sarkoidózy od iných chorôb na základe tohto parametra je zrejme limitovaná [12]. V uvedenej štúdií však bola dokumentovaná schopnosť tohto parametra prakticky vylúčiť, či naopak potvrdiť diagnózu sarkoidózy pri jeho výrazne znížených (< 0,69), alebo výrazne zvýšených (> 7,45) hodnotách [12]. Výsledky rozborov reprezentatívnych kohort poskytli nasledovné údaje: hodnota pomeru CD4+/CD8+ T-lymfocytmi > 3,5 má pre diagnózu sarkoidózy senzitivnosť 53–54 %, špecifickosť 89–94 %, pozitívnu prediktívnu hodnotu 76 % a negatívnu prediktívnu hodnotu 85 % [5,15,16]. Za optimálnu medznú hodnotu sa obvykle považuje 3,5–4 [2,5,16]. Pri pomere 4 : 1 bola pozitívna prediktívna hodnota 94 %, avšak senzitivnosť len 59 % [13]. Zdá sa však, že aj nižšia hodnota môže stále disponovať klinicky hodnotnou prediktívnu hodnotou. V menšej štúdií juhokórejskí autori dokumentovali senzitivnosť 91,7 % a špecifickosť 84,2 % pri medznej hodnote 2,16. Uvedená medzná hodnota bola určená na základe kalkulácie Youdenovho indexu [3]. Hodnota uvedeného pomeru pod 1 vykazovala 100% negatívnu prediktívnu hodnotu pre sarkoidózu [13]. Kombináciou pomeru CD4+/CD8+ s ďalšími parametrami analýzy BALT

je však možné dosiahnuť oveľa vyššiu diagnostickú výťažnosť. Pri pomere 4 : 1 a súčasnom nízkom zastúpení neutrofilových a eozinofilových leukocytov (< 1 %) sa vyrovnáva pozitívna prediktívna hodnota aj špecifickosť s nálezom mnohopočetných nekazeifikujúcich granulómov v transbronchiálnej biopsii [13]. Ak sa uvedené kritériá posilnili o konkordantný nález v transbronchiálnej biopsii, bola dosiahnutá pozitívna prediktívna hodnota 100 % [13]. Pri zmierení kritéria pre CD4+/CD8+ na 2 : 1 klesla pozitívna prediktívna hodnota na 93 % [13].

Senzitivnosť pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov v BALT závisí na viacerých parametroch. Tento po-

Tabuľka 3: Distribúcia hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov podľa röntgenologického štádia choroby

Štádium	0, I, II	III, IV	Spolu	
CD4+/CD8+ ≤ 3,5	29	6	35	P < 0,01
CD4+/CD8+ > 3,5	76	2	78	
spolu	105	8	113	

Tabuľka 4: Distribúcia hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov podľa pohlavia

Pohlavie	Muži	Ženy	Spolu	
CD4+/CD8+ ≤ 3,5	21	14	35	P < 0,05
CD4+/CD8+ > 3,5	30	48	78	
spolu	51	62	113	

mer je citlivejším diagnostickým nástrojom u symptomatických pacientov [2]. Hodnota pomeru je vyššia u pacientov s mimoplúcnyim postihnutím v porovnaní s tými, ktorí majú výhradne vnútrohruďníkovú manifestáciu choroby [6]. Diagnostická senzitivnosť tohto parametra podľa niektorých autorov narastá so stúpajúcim štádiom sarkoidózy [2], jednoznačná korelácia jeho hodnoty so štádiom ochorenia však nebola potvrdená [7]. S dĺžkou trvania choroby jeho hodnoty spolu s celkovou celularitou a zastúpením lymfocytov klesajú [6]. Oproti tomu nebola zistená závislosť jeho hodnoty na veku, pohlaví a rase vyšetrovaných [7]. Nebola nájdená korelácia medzi týmto parametrom a nešpecifickým markerom aktivity sarkoidózy – sérovou koncentráciou angiotenzín-konvertujúceho enzýmu (SACE) [7]. Kombináciou pomeru medzi CD4+ a CD8+ lymfocytmi v BALT s pomerom CD103+CD4+/CD4+ v BALT, ako aj so sérovou koncentráciou angiotenzín-konvertujúceho enzýmu sa nepodarilo zvýšiť diagnostickú výťažnosť tohto parametra – jeho špecifickosť síce stúpla nad 90 %, senzitivnosť však klesla na 35 % [17]. Oproti tomu, jeho kombináciou so zastúpením HLA-DR+ CD8+ lymfocytov a NK T-buniek sa významne zvýšila plocha pod ROC krivkou [4]. Samotná detekcia CD103+ T-lymfocytov (obzvlášť ich CD4+ subtypu) disponovala pozoruhodnou senzitivnosťou 81 % a špecifickosťou 78 %, a to aj v prípadoch s pomerom CD4+/CD8+ < 3,5 [18].

Aj keď naša práca sa týmto aspektom nezaoberala, za povšimnutie stojí aj skutočnosť, že pomer medzi CD4+ a CD8+ lymfocytmi v BALT má zrejme aj prognostickú hodnotu – jeho vyššie hodnoty sa spájajú s lepšou prognózou sarkoidózy [19,20].

Za najvýznamnejšie limitácie našej práce považujeme skutočnosť, že išlo o retrospektívnu analýzu údajov a tiež limitovaný počet vzoriek BALT. Diskutabilná môže byť aj skutočnosť, že do hodnotenia sme zaradili aj vzorky BALT od pacientov, u ktorých bola diagnóza sarkoidózy stanovená na základe typického klinického obrazu a výsledkov pomocných vyšetrení bez podpory histopatologickým dôkazom prítomnosti nekazeifikujúceho granulomatózneho procesu. Musíme však upozorniť, že išlo o pacientov so skutočne typickou klinickou a rádiografickou manifestáciou ochorenia, zväčša v štádiu II. Ak by sme ich vylúčili, okrem významnej limitácie veľkosti súboru by sme spôsobili skreslenie hodnotenia nereálnym rozvrstvením výskytu rádiografických štádií a elimináciou pacientov s typickou manifestáciou.

Tabuľka 5: Distribúcia hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov podľa výskytu polyartralgii

Polyartralgie	Prítomné	Neprítomné	Spolu	
CD4+/CD8+ ≤ 3,5	6	29	35	P < 0,001
CD4+/CD8+ > 3,5	42	36	78	
spolu	48	65	113	

Tabuľka 6: Distribúcia hodnôt pomeru CD4+/CD8+ lymfocytov podľa prítomnosti lymfocytózy v BALT

	Ly ≤ 40 %	Ly < 40 %	Spolu	
CD4+/CD8+ ≤ 3,5	17	18	35	P < 0,01
CD4+/CD8+ > 3,5	58	20	78	
spolu	75	38	113	

Legenda: Ly – zastúpenie lymfocytov v bronchoalveolárnej lavážovej tekutine v %

ZÁVER

Na základe analýzy nášho klinického materiálu v súlade s doteraz publikovanými poznatkami sa prikláňame k názoru, že pomer medzi CD4+ a CD8+ lymfocytmi v BALT nie je všeobecne použiteľný ako diagnostický test pri sarkoidóze. Dôvodom je neuspokojivá senzitivnosť všeobecne akceptovaného limitu > 3,5, ale aj nezanedbateľný výskyt falošne negatívnych výsledkov. Preto sa prikláňame k názoru svetových autorít, že diagnóza tejto choroby má byť založená na klinickom obraze, podporenom histopatologickým dôkazom prítomnosti nekazeifikujúceho granulómu. Zároveň však pripúšťame, že u časti pacientov (najmä u tých, u ktorých z rôznych dôvodov nie je možné odobrať vhodnú bioptickú vzorku pre histopatologické vyšetrenie, je možné diagnózu stanoviť na základe klinického a rádiografického obrazu s podporou typického nálezu v BALT. Podľa našich výsledkov je takýto postup možný najmä u žien s akútnym nástupom ochorenia, rádiografickým štádiom I alebo II, s významnou lymfocytózou v BALT a so súčasným výskytom polyartralgii a nodózneho erytému. V týchto podskupinách nášho súboru dosiahla senzitivnosť testovaného parametra až 88 %.

LITERATÚRA

1. Tanrıverdi H, Uygur F, Örnek T et al. Comparison of the diagnostic value of different lymphocyte subpopulations in bronchoalveolar lavage fluid in patients with biopsy proven sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2016; 32:305–312.
2. Danila E, Norkūniene J, Jurgauskiene L, Malickaite R. Diagnostic role of BAL fluid CD4/CD8 ratio in different

- radiographic and clinical forms of pulmonary sarcoidosis. *Clin Respir J* 2009; 4:214–221.
3. Lee W, Chung WS, Hong KS, Huh J. Clinical usefulness of bronchoalveolar lavage cellular analysis and lymphocyte subsets in diffuse interstitial lung diseases. *Ann Lab Med* 2015; 35:220–225.
 4. Tøndell A, Rø AD, Åsberg A et al. Activated CD8(+) T cells and NKT cells in BAL fluid improve diagnostic accuracy in sarcoidosis. *Lung* 2014; 192:133–140.
 5. Costabel U, Bonella F, Ohshimo S, Guzman J. Diagnostic modalities in sarcoidosis: BAL, EBUS, and PET. *Semin Respir Crit Care Med* 2010; 4:404–408.
 6. Groen H, Hamstra M, Aalbers R et al. Clinical evaluation of lymphocyte sub-populations and oxygen radical production in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Med* 1994; 88:55–64.
 7. Kantrow SP, Meyer KC, Kidd P, Raghu G. The CD4/CD8 ratio in BAL fluid is highly variable in sarcoidosis. *Eur Respir J* 1997; 10:2716–2721.
 8. Costabel U, Hunninghake GW. ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. Sarcoidosis Statement Committee. American Thoracic Society. European Respiratory Society. World Association for Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders. *Eur Respir J* 1999; 4:735–737.
 9. Vyšehradský R, Rozborilová E, Chovan L. Metodické odporúčanie hlavného odborníka MZ SR o vykonaní vyšetrenia úsilného výdychu. Dostupné na internete: <http://www.spfs.sk/images/metodickeodporucania/MO%20%C3%BAsiln%C3%BD%20v%C3%BDdych.pdf>
 10. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE et al. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J* 1993; 6:5–40.
 11. Salorinne Y. Single-breath pulmonary diffusing capacity. Reference values and application in connective tissue diseases and in various lung diseases. *Scand J Resp Dis* 1976; 96:1–84.
 12. DeSmet D, Martens GA, Berghe BV et al. Use of likelihood ratios improves interpretation of laboratory testing for pulmonary sarcoidosis. *Am J Clin Pathol* 2010; 134:939–947.
 13. Winterbauer RH, Lammert J, Selland M et al. Bronchoalveolar lavage cell populations in the diagnosis of sarcoidosis. *Chest* 1993; 104:352–361.
 14. Agostini C, Trentin L, Zambello R et al. CD8 alveolitis in sarcoidosis: incidence, phenotypic characteristics, and clinical features. *Am J Med* 1993; 95:466–472.
 15. Costabel U. Sensitivity and specificity of BAL findings in sarcoidosis. *Sarcoidosis* 1992; 9:211–214.
 16. von Bartheld MB, Dekkers OM, Szlubowski A et al. Endosonography vs conventional bronchoscopy for the diagnosis of sarcoidosis: the GRANULOMA randomized clinical trial. *JAMA* 2013; 309:2457–2464.
 17. Hyldgaard C, Kaae S, Riddervold M et al. Value of s-ACE, BAL lymphocytosis, and CD4+/CD8+ and CD103+CD4+/CD4+T-cell ratios in diagnosis of sarcoidosis. *Eur Respir J* 2012; 39:1037–1039.
 18. Mota PC, Morais A, Palmares C et al. Diagnostic value of CD103 expression in bronchoalveolar lymphocytes in sarcoidosis. *Respir Med* 2012; 106:1014–1020.
 19. Doubková M, Binková I, Skříčková J. Diagnostika, prognostické faktory a léčba sarkoidózy – retrospektivní analýza. *Vnitr Lek* 2012; 58:735–742.
 20. Doubková M, Pospíšil Z, Skříčková J, Doubek M. Prognostic markers of sarcoidosis: analysis of patients from everyday pneumological practice. *Clin Respir J* 2015; 9:443–449.

Došlo: 5. 9. 2016

Adresa:

doc. MUDr. Robert Vyšehradský, PhD.

Klinika pneumológie a ftizeológie,

Jesseniova LF Univerzity Komenského v Martine

UN Martin

Kollárova 2

036 59 Martin

Slovenská republika

e-mail: vysehradsky@jfmed.uniba.sk

Mutačné analýzy EGFR z bronchiálnych sterov u pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc

H. Novosadová¹, I. Majer¹, P. Hlavčák², K. Baluchová²

¹Klinika pneumológie a ftizeológie, LF UK a UNB Bratislava;

²Alpha medical, s. r. o., Bratislava

SUMMARY

EGFR mutation testing from bronchial brushing samples in patients with non-small cell lung cancer

Lung cancer (LC) is a histologically and molecularly heterogeneous disease accounting for a large proportion of newly diagnosed oncological conditions. In the last decade, the diagnosis of LC has advanced considerably, especially molecular typing of tumor proliferation and subsequent targeted biological therapy (TBT) using tyrosine kinase inhibitors (TKIs). However, TKI therapy is effective for only a small LC subgroup, mainly adenocarcinomas, typically with activating mutations in the intracellular domain of the epidermal growth factor receptor (EGFR). Selection of patients suitable for TBT is mostly guided by biopsy examination. An alternative to biopsy samples is material obtained by bronchial brushing (BB). The sampling procedure and subsequent molecular testing is described in this study. Following the cytomorphological examination of the samples and assessment of cellularity and the proportion of tumor cells, we screened 149 patients for somatic activating EGFR mutations using quantitative PCR. Of those, 19 (12.78 %) were indicated for EGFR TKI therapy. The most prevalent EGFR mutations were exon 19 deletions. Optimization of the entry parameters in cytology samples and the isolated genomic DNA resulted in a 100% success rate of EGFR analysis. The study describes a method for assessing EGFR mutation status from BB samples that is reliable and meets all criteria of routine molecular diagnosis. The implemented multidisciplinary approach to EGFR genotyping of clinically relevant somatic mutations using BB samples may extend the range of patients cohort eligible for TBT.

Keywords: non-small cell lung cancer, adenocarcinomas, epidermal growth factor receptor (EGFR)

SÚHRN

Pľúcne karcinómy (LC) sú histologicky a molekulárne heterogénne ochorenia, ktoré dominujú v počte novodiagnostikovaných onkologických ochorení. Diagnostika LC v poslednej dekáde pokročila najmä v molekulárnej typizácii nádorovej proliferácie a následnej cieľenej molekulárnej terapii (CMT) tyrozín-kinázovými inhibítormi (TKI). TKI-terapia je však účinná len pre úzku podskupinu LC, prevažne adenokarcinómov, typicky s aktivačnými mutáciami v intracelulárnej doméne receptoru pre epidermálny rastový faktor (EGFR). Selektia pacientov vhodných na CMT štandardne prebieha na základe bioptického vyšetrenia. Alternatívou k bioptickým vzorkám sú materiály získané metódou bronchiálnych sterov (BS), ktorých odber a následnú molekulárnu analýzu opisujeme v tejto štúdií. Po cytomorfolologickej charakterizácii získaného náteru, kontrole celularity a zastúpenia nádorových buniek sme na somatické aktivačné EGFR mutácie pomocou kvantitatívnej PCR vyšetřili 149 pacientov, z ktorých sme 19 (12,78 %) odporučili na EGFR-TKI terapiu. Najčastejšou EGFR mutáciou boli delečné mutácie v exóne 19. Optimalizácia vstupných parametrov cytologických odberov a izolovanej genomickej gDNA umožnila 100% úspešnosť EGFR analýz. V tejto štúdií predstavujeme metodiku na vyšetřenie mutačného statusu EGFR z BS, ktorá je spoľahlivá a spĺňa všetky kritéria rutínnej molekulárnej diagnostiky. Multidisciplinárny prístup EGFR genotypizácie klinicky relevantných somatických mutácií z BS umožňuje rozšírenie spektra pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc, vhodných na CMT.

Kľúčové slová: nemalobunkový karcinóm pľúc, adenokarcinóm, receptor pre epidermálny rastový faktor (EGFR)

ÚVOD

Pľúcna rakovina (LC) je druhou najčastejšou formou rakoviny diagnostikovanej v krajinách Európskej únie s vysokou incidenciou a je zodpovedná za najväčší počet úmrtí na rakovinu, viac ako 25 % [1]. Približne 80–85 % pľúcnych neoplázií sú nemalobunkové karcinómy pľúc (NSCLC). Päťročné prežítie pacientov s NSCLC sa udáva okolo 10–16 % [2,3]. Ročne celosvetovo ochorenie na LC

asi 1,35 milióna ľudí a podľahne do 1,18 milióna ľudí [4].

Liečba onkologických ochorení vo všeobecnosti zaznamenáva v ostatných rokoch významné pokroky. Postupne sa získavajú poznatky v patogenéze intracelulárnych signálnych dráh vedúcich k vzniku nádorových ochorení. Diagnostika rakoviny pľúc v poslednej dekáde pokročila najmä v molekulárnej typizácii nádorovej proliferácie a následnej cieľenej molekulárnej terapii (CMT)

tyrozín kinázovými inhibítormi (TKI). TKI terapia je však účinná len pre úzku podskupinu nemalobunkových karcinómov, prevažne adenokarcinómov, a najmä s aktivačnými mutáciami v intracelulárnej doméne receptoru pre epidermálny rastový faktor (EGFR). Aktivujúce mutácie epidermálneho rastového faktora (EGFR) predikujú liečebnú odpoveď na liečbu TKI. Niekedy sa táto liečba nazýva aj cieľná biologická liečba. Mutácie sa nachádzajú v exónoch 18–21. Tieto mutácie zvyšujú afinitu ATP kinázy voči inhibítormi TKI, ktorá sa viaže na väzobné miesta pre ATP, a tým bráni autofosforylácii malígnej bunky a iniciácii patologických signálnych dráh [5,6].

METODIKA A MATERIÁL

Práca má za cieľ zhodnotiť stanovenie a výskyt EGFR mutácií u pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc z bronchiálnych sterov (BS) a charakteristiku súboru pacientov v dvojročnom období v materiáli našej kliniky. Pacienti so suspektnou pľúcnou rakovinou boli indikovaní na bronchoskopiu na našom pracovisku. Po lokálnej anestéze Tetracainom (5 ml 1% a 5 ml 0,5%) sa podrobili bronchoskopickému vyšetreniu.

Tabuľka 1: Stratifikácia pacientov podľa jednotlivých rokov od 03/2013–03/2015

Roky	Muži (n)	Ženy (n)	Spolu
2013	43	24	67
2014	41	20	61
2015	13	8	21
Spolu	97	52	149

Tabuľka 2: Cytologické nálezy nemalobunkových karcinómov

Roky	Skvamocelulárny Ca	Adenokarcinóm	Veľkobunkový Ca	NOS	Spolu
2013	26	36	2	3	67
2014	22	26	7	6	61
2015	13	7	0	1	21
Spolu (n)	61	69	9	10	149
(%)	(41,0)	(46,3)	(6,0)	(6,7)	(100)

Vysvetlivky: NOS (not otherwise specified)

U všetkých pacientov sa odoberal bronchiálny ster, kefkovou abráziou buď z postihnutého miesta, alebo, ak bol nález mimo dosah viditeľnosti flexibilným bronchoskopom, odoberal sa podľa segmentálnej lokalizácie lézie na CT skenoch, či rtg snímke hrudníka. Bronchoskopia bola vykonávaná fibrobronchoskopom (Olympus 60), resp. videobronchoskopom (Pentax). Na kefkovú abráziu bola použitá sterilná kefka na jednorázové použitie (cytology brush Olympus BC-202D 3010) o priemere 2 mm. V prípade viditeľných lézií bola odoberaná aj kliešťová biopsia (v priemere 3 vzorky na pacienta) na histologické vyšetrenie, resp. transbronchiálna biopsia z periférie postihnutého segmentu. Z odoberaného materiálu kefkovou abráziou boli zhotovené nátery na podložné sklíčka veľkosti 7,5 × 2,5 cm (Fisher, Slovensko). U každého pacienta sme vykonali stery na 4 podložných sklíčkach. Tie boli následne zaschnuté pri izbovej teplote, fixované v metanole 5 minút a následne ofarbené podľa Giemsa (Dr. Kulich Pharma, CZ). Takto ofarbené nátery boli hodnotené lekármi so skúsenosťami v hodnotení pľúcnej cytologie na zistenie celularity, na detekciu prítomnosti nádorových buniek a zistenie percentuálneho zastúpenia nádorových buniek v mikroskope (Olympus BX51 so zväčšením 20–600×). Pre túto štúdiu boli vyčlenené reprezentatívne pozitívne nálezy s jednoznačným zastúpením nádorových buniek pre cytologickú a molekulárnu analýzu. Selektované BS boli skladované pri izbovej teplote a do 3 dní analyzované. Pri odbere materiálu na histologickú analýzu boli vzorky v skúmavke so 4% formalínom odosielané na oddelenie patológie. Fixované a následne parafínom zaliate a ofarbené hematoxilín-eozínom. Imuhistochemicky boli ofarbené proti antigénom TTF-1, CK7, CK20, p63 a LCA s EnVision detekčným systémom (Dako, Dánsko) a na farbiacom prístroji Ventana (USA).

Isolácia genómovej DNA a identifikácia EGFR mutácií

Bronchiálne stery (BS) ofarbené podľa Giemsa a spĺňajúce interné kritéria boli navlhčené v 100% etanole 200 µl (Mikrochem, Slovensko) a zoškrabané planžetou (Dimeda, Nemecko) do 1,5 ml Eppendorfovej skúmavky. Po odparení etanolu sa získaný materiál použil na izoláciu gDNA. DNA bola izolovaná na kolónach zo sklenených vlákien metódou doporučenou pre FFPE materiál (formalínom fixované a parafínom zaliate – formaline fixed and parafine embeded) (Roche, Slovensko) pri vynechaní deparafinizačného kroku do 100 µl elučného roztoku. Kvantita a kvalita [meranie pomeru optickej hustoty (OD) pri 260 nm a 280 nm] bola hodnotená na prístroji NanoDrop 2000 minimálne 2 meraniami, s odchýlkou menšou ako 2 ng/µl (Thermo Scientific, Slovensko) a použitá v reakciách obsahujúcich sondy na detekciu 49-tich EGFR mutácií v exóne 18 (p.G719A/C/S), exóne 19 (delécie a komplexné mutácie), exóne 20 (p.S768I, p.T790M a inzercie) a exóne 21 (p.L858R). Každá reakcia na princípe kvantitatívnej PCR (qPCR) obsahovala 50 ng gDNA a prebehla v 96 jamkovej platničke (Roche, Slovensko) na prístroji Cobas 480 analyser (Roche, Slovensko).

VÝSLEDKY

Súbor pacientov pozostával zo 149 pacientov s novodiagnostikovaným nemalobunkovým karcinómom

Tabuľka 3: Distribúcia parametrov gDNA, pomeru optickej hustoty a T% zastúpenia nádorových buniek podľa zistenej celularity

Celularita	Počet	cgDNA (ng/μl)		OD (260/280 nm)		Nádorové bunky (%)	
		Priemer	Interval	Priemer	Interval	Priemer	Interval
vysoká	49	96,62	33,6–193,1	1,88	1,76–2,01	63,9	40–90
stredná	85	70,06	14,1–370,0	1,86	1,66–2,0	55,5	30–80
nízka	15	28,93	19,5–58,3	1,77	1,73–1,91	67,5	40–85
spolu	149	74,95	14,1–370,0	1,86	1,66–2,01	58,4	30–90

c – koncentrácia, OD – optická hustota

mom pľúc, u ktorých sme vyšetrili mutačný EGFR profil z cytologických sterov v dvojročnom období od 03/2013–03/2015. Stratifikáciu počtu pacientov podľa jednotlivých rokov znázorňuje tabuľka 1.

Súbor pozostával z 97 mužov (65,1 %) a 52 žien (34,9 %). Priemerný vek mužov bol 65,6 rokov (interval 39–81 rokov) a žien 66,9 roka (interval 27–88 rokov). Medzi vekovým priemerom a mediánom mužov a žien sme nezistili výrazný posun (medián muži 66 rokov a medián ženy 66,5 rokov).

Výsledky z bronchiálnych sterov podľa jednotlivých histotypov určuje tabuľka 2. Výsledky z cytologickej analýzy sa hodnotili najčastejšie ako nemalobunkový karcinóm v.s. (verisimiler) podľa posúdenia cytológa, pre ktorý histotyp sa jeho hodnotenie prikláňalo. V nejednoznačných prípadoch sa výsledok hodnotil ako nemalobunkový typ bližšie neurčený, t.j. ako NOS (not otherwise specified). Tento pojem sa používa v prípadoch v cytologickej i histologickej analýze, pokiaľ sa nedá určiť podtyp histologického typu [7].

U mužov prevládali skvamocelulárne karcinómy (55 pac. – 56,7 %) pred adenokarcinómami (30 pac. – 30,9 %), kým u žien sme zaznamenali opačný pomer, 29 adenokarcinómov (55,7 %) a 16 skvamocelulárnych typov (30,7 %). Z uvedených 149 nemalobunkových karcinómov cytologicky verifikovaných sme mali histologizovaných 81 pacientov (54,3 %). Najčastejším histologicky potvrdeným nemalobunkovým karcinómom bol adenokarcinóm (36 prípadov – 44,4 %), nasledoval skvamocelulárny karcinóm 27 prípadov (33,3 %), veľkobunkový karcinóm 14 prípadov (17,2 %). V dvoch prípadoch patológ popísal adenoskvamózny karcinóm (2,4 %) a v dvoch prípadoch s pozitívnu cytológiou bola histológia negatívna. Cytologická korelácia, t.j. korelácia cytologickej diagnózy s histologickou bola v 14 prípadoch odlišná (17,7 %), čo dáva pozitívnu koreláciu v 82,3 %. V 68 prípadoch t.j. v 45,7 % sme materiál na histologické vyšetrenie nerobili, najčastejšie z dôvodu nedostupnosti nádoru na kliešťovú biopsiu. Podotýkame, že nemáme možnosť odoberať bioptické

vzorky metódou kryobiopsie, či endobronchiálnou ultrasonografiou (EBUS).

Parametre gDNA izolovanej z bronchiálnych sterov

Bronchiálne stery (BS) selektované na vyšetrenie EGFR mutácií prešli semikvantitatívnym hodnotením na určenie celularity a percentuálneho zastúpenia nádorových buniek (% T). Tieto parametre boli hodnotené dvoma autormi, troma opakovanými čítaniami pre celularitu a pre % T s 0 až 5% odchýlkou. Pre celularitu sa určila hodnota: vysoká celularita (> 100 000 buniek), stredná (od 20 000 do 100 000 buniek) a nízka celularita (< 20 000 buniek). Zároveň sa určovalo percentuálne zastúpenie nádorových buniek. Sumárne sme zistili 49 BS s vysokou celularitou, čo predstavuje (32,9 %), 85 BS so strednou celularitou (57,0 %) a 15 BS s nízkou celularitou (10,1 %). Celularita BS nebola pre určenie percentuálneho zastúpenia nádorových buniek (% T) rozhodujúca, lebo v súbore s nízkou celularitou sme identifikovali aj vzorku s 85% zastúpením karcinómových buniek. Priemerná koncentrácia gDNA získaná z materiálu s vysokou celularitou bola 96,62 ng/μl (interval 33,6–196,13 ng/μl) pri OD (optická hustota) 260/280 nm v priemere 1,88 (interval od 1,76 do 2,01). U BS so strednou celularitou sme zaznamenali koncentráciu gDNA 70,06 ng/μl (interval 14,15–370,03 ng/μl) pri OD priemere 1,86 (interval od 1,66 do 2,0) a u BS s nízkou celularitou 28,93 ng/μl (interval 19,53–58,3 ng/μl) pri OD priemere 1,77 (interval od 1,77 do 1,90). Súhrnne tieto údaje naznačujú, že koncentrácie gDNA korelujú s celularitou BS a nekorelujú s percentom nádorových buniek v preparáte (priemerná % T: pre vysokú celularitu 63,96 %, pre strednú celularitu 55,53 % a pre nízku celularitu 67,5 %). Parametre kvality gDNA v OD rozmedzí 1,76–1,90 sú rovnomerne distribuované medzi % T, čo naznačuje, že kvalita gDNA nie je priamoúmerne závislá od celularity a % T. Najkvalitnejšia gDNA s OD vyšším ako 1,9 bola registrovaná v celom súbore u 20 vzoriek (13,4 %) so strednou a vysokou celularitou. Distri-

búciu parametrov gDNA podľa celularity preparátov určuje tabuľka 3.

TNM klasifikácia pacientov

V celom súbore 149 pacientov s nemalobunkovým karcinómom, diagnostikovaných na našom pracovisku v období 03/2013–03/2015, prevládali pacienti s pokročilými štádiami ochorenia. Tabuľka 4 nám ukazuje jednotlivé štádia pľúcnej rakoviny podľa TNM klasifikácie v dobe stanovenia diagnózy. Z tabuľky vyplýva, že prevažná väčšina nádorov bola diagnostikovaná v pokročilých štádiách, najviac v IV. štádiu – 69 pacientov (46,3 %). V III. štádiu ochorenia (IIIA + IIIB) bolo rovnako 69 pacientov (46,3 %). Len zriedka sa diagnostikoval nádor v štádiu II – 11 pacientov (7,3 %). Prevažná väčšina pacientov v súbore boli dlhodobí fajčiari – 124 pacientov (83,2 %), exfajčiarov bolo len 8 (5,4 %) a nefajčiarov 17 (11,4 %).

Mutačný EGFR profil pacientov

Celkovo sme EGFR mutácie identifikovali u 19 pacientov (12,75 %), čo zodpovedá literárnym údajom kaukazoidnej populácie [2,5,8]. Výrazne prevažovali ženy, rozdelenie podľa pohlaví bolo 15/4 v prospech žien, čo je v kontraste s pomerom mužov a žien v celom vyšetřovanom súbore. U 13 EGFR mutantov boli cytologicky hodnotené nálezy ako adenokarcinómy, 4× ako skvamocelulárny karcinóm, 1× NOS (not otherwise specified) a 1× ako veľkobunkový typ karcinómu. Histologické vyšetřenie bioptickéj vzorky bolo k dispozícii 9× (47,3 %). V 10 prípadoch sa histológia neodoberala. Dôvodom bol predovšetkým zlý klinický stav pacienta, najmä u pacientov vyšetřovaných ambulantne, nepriame známky tumoru v endoskopickom obraze, či negatívny endobronchiálny nález.

Zastúpenie fajčiarov a nefajčiarov bolo u EGFR mutantov nasledovné: 6 nefajčiarov, dvaja exfajčiari a 11 fajčiarov. Zo šiestich nefajčiarov bolo 5 žien. Najčastejšie sa vyskytujúcimi EGFR mutáciami boli delécie v exóne 19, ktoré sa zistili u 12 pacientov (63,15 %). Pomer M/Ž bolo 3/9. Mutácia pL858R v exóne 21 bola detekovaná u 6 pacientov (frekvencia u mutovaných 31,57 %, pomer M/Ž 1/5). Mutáciu v exóne 20 samostatne sme zaznamenali u jednej pacientky (5,26 %), kým mutáciu

v exóne 18 sme nezistili. Charakteristiku pacientov so zistenými EGFR mutáciami znázorňuje tabuľka 5. Priemerný vek pacientov, mužov s EGFR mutáciou bol 51,5 rokov (rozpätie 39–84 rokov), z nich jeden bol nefajčiar. Priemerný vek žien bol vyšší (o 11,7 roka), dosahoval hodnotu 63,2 rokov (rozpätie 31–84 rokov), z 15 žien bolo 5 nefajčiarok, 9 fajčiarok a 1 exfajčiarka.

DISKUSIA

Indikácia liečby tyrozínkinázovými inhibítormi (CMT – cieleňá molekulárna terapia) je u nemalobunkových karcinómov limitovaná stanovením analýzy EGFR mutácií, ktoré sa štandardne vyšetřujú z FFPE materiálov, získaných bioptickým vyšetřením, či z operačných náleзов. Tie môžu byť tzv. malé biopsie, kde materiál sa získava bronchoskopicky, alebo punkciou. Sú to zväčša drobné fragmenty, vyžadujúce si mimoriadnu precíznosť v primárnom spracovaní, ako aj v následných diagnostických indikáciách špeciálnych vyšetření. Ide zväčša o nádorový materiál, kde je nevyhnutné zachovať možnosť následného imunohistochemického (IHC), prípadne aj molekulárne-genetického vyšetřenia. Materiály získané operačnými postupmi sú zvyčajne objemovo postačujúce a menej sekundárne alterované. Na Slovensku sa odhaduje, podobne ako vo Veľkej Británii, že viac ako 50 % LC pacientov z objektívnych alebo subjektívnych príčin nemá histologickú morfológiu nádoru [1,13]. Navyše mnohé z dostupných FFPE materiálov sú spotrebované na základnú imunohistochemickú diagnostiku, alebo neobsahujú DNA v dostatočnej kvalite a zastúpení nádorových buniek. Do tohto konceptu sme zasadili našu štúdiu, ktorá sa pokúša zhodnotiť cytologické odbery pre molekulárnu analýzu a navrhnúť algoritmus pre stanovenie EGFR profilu u nemalobunkových karcinómov pľúc. Cytologické vyšetřenia sme uskutočňovali z bronchiálnych sterov (BS), odobratých kefkovou abráziou. Z ďalších alternatívnych postupov cytologickej diagnostiky, získaných bronchoskopiou, patria cytospiny z bronchoalveolárnych výplachov/laváží, alebo dnes už široko využívané odbery pomocou tenkoihlovej biopsie pri endobronchiálnej ultrasonografii EBUS-TBNA [9,11,13]. Na našom pracovisku tento prístroj nemáme k dispozícii. Preto sme sa zamerali výhradne na BS, ktoré majú na Slovensku predpoklad k rutinnému použitiu v klinickej praxi. Za týmto účelom sme v spolupráci s onkológmi a patológmi vyčlenili skupinu 149 pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc, u ktorých bol k dispozícii reprezentatívny cytologický materiál z BS na EGFR analýzu. Približne jednu tretinu tejto skupiny tvorili ženy a dve tretiny muži, čo je v súlade s neselektovanou patientskou populáciou a dátami uverejňovanými pre FFPE materiál v európskych krajinách [9,10]. Vekový priemer skupiny sa pohyboval okolo 66 rokov a ten sa nelíšil medzi po-

Tabuľka 4: Distribúcia pacientov podľa štádií ochorenia

TNM štádia	I		II		III		IV	Spolu
	A	B	A	B	A	B		
2013	0	1	4	11	19	32	67	
2014	0	0	5	10	16	30	61	
2015	0	0	1	5	8	7	21	
spolu	0	1	10	26	43	69	149	

hlaviami, čo naznačuje, že dané ochorenie postihuje prevažne mužov v dôchodkovom veku a podľa trendu onkologických ochorení bude narastať so starnúcou populáciou vo vyspelých krajinách. Výnimkou bol 39ročný muž s EGFR deléciou v exóne 19. V súbore BS prevažovali pacienti v III. št. a IV. št., čo poukazuje na nepriaznivú prognózu ochorenia v čase primárnej diagnózy a je v súlade s publikovanými dátami [10,11,12]. U mužov bolo zastúpenie v III. a IV. štádiu vyvážené, ale u žien prevažovalo IV. štádium, čo znevýhodňuje túto skupinu v prognóze celkového prežívania. Stratifikácia histotypov v súbore BS poukazuje, že najčastejším typom nádorov boli adenokarcinómi (46,3 %), ktoré mierne prevažovali nad skvamocelulárnymi karcinómami (41,0 %). U mužov sme zaznamenali prevládanie skvamocelulárnych karcinómov 56,7 % (adenoCa 30,9 %). U žien bol tento pomer obrátený, prevažovali adenokarcinómy (55,7 %) nad skvamocelulárnymi typmi (30,7 %). Fajčiari prevládali v oboch pohlaviach, pričom u mužov dosiahli až 97 % väčšinu. Konzumácia cigariet bola dlhodobá (20 balíčkorokov a viac). Predpoklad, že množstvo izolovanej gDNA, reprezentované koncentráciou gDNA vo vzorke, bude úmerné celularite BS sa potvrdil. Naopak medzi gDNA koncentráciou a % T sme priamoúmernú závislosť nepozorovali. Zaujímavé je aj zistenie, že medzi celularitou BS a % zastúpenia nádorových buniek (T%) alebo optickou hustotou (OD) sme nepozorovali priamoúmernú závislosť. Ďalším para-

metrom, ktorý je dôležitý v molekulárnych analýzach, je kvalita gDNA. V FFPE materiáli je gDNA fragmentovaná a chemicky modifikovaná, a preto sa volia metodiky a dizajn testov, ktoré sú schopné túto prekážku preklenúť. Aj v našom súbore BS by mohla byť gDNA fragmentovaná v predanalytickej fáze, napr. fixáciou, ďalej farbením, alebo mechanickým poškodením, ktoré sú súčasťou spracovania náteru na podložnom sklíčku. Tieto faktory sa pravdepodobne odzrkadlili najmä v stredne celularnej vzorke s najnižšou registrovanou OD 1,66. Z tohto dôvodu sme volili pri EGFR analýze, na FFPE vzorky osvedčenú, špecifickú, senzitivnú a klinicky testovanú metodiku. Tieto kritériá podľa našich skúseností spĺňa komerčná súprava Cobas na báze ARMS qPCR (Roche). Metóda je schopná zachytiť 49 klinicky dôležitých mutácií, vrátane TKI senzitivných a rezistentných mutácií. Vysoké % T v súbore BS, priemerne nad 50 %, zaručovalo medze, definované pre platné FFPE analýzy, ktoré sa potvrdili spolu s nastavenými kontrolami v každej reakcii a 100% úspešnosťou analýz BS. Dané pozorovania a výsledky analýzy EGFR mutácií z BS sú v súlade so štúdiami, ktoré nezaznamenali diskrepancie pri EGFR testovaní BS farbených podľa Giemsa – Romanowského, alebo Papanicolaouom [12,14]. V nami uvádzanom súbore 149 pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc sme indentifikovali 19 mutantov, čo predstavuje 12,75 % a zodpovedá literárnym údajom kaukazoidnej populácie [5,10,13]. Výrazne prevažovali

Tabuľka 5: Charakteristika súboru pacientov s NSCLC – EGFR pozitívnych mutácií

P.č.	Pohlavie	Vek	Mutácie	Cytológia	Histológia	Fajčenie	BSC nález
1.	Ž	74	19	AdenoCa	nerobená	fajčiar	priame známky
2.	Ž	63	19	AdenoCa	Large cells	fajčiar	priame známky
3.	M	39	19	AdenoCa	AdenoCa	nefajčiar	nepriame zn.
4.	Ž	78	19	NOS	nerobená	exfajčiar	priame známky
5.	Ž	61	21	AdenoCa	nerobená	fajčiar	priame známky
6.	Ž	83	19	Large cells	Large cells	nefajčiar	priame známky
7.	Ž	72	19	AdenoCa	nerobená	fajčiar	negat.
8.	Ž	65	19	AdenoCa	AdenoCa	fajčiar	priame známky
9.	M	84	21	Skvamocel.	AdenoCa	exfajčiar	priame známky
10.	Ž	74	19	AdenoCa	nerobená	fajčiar	priame známky
11.	M	56	19	AdenoCa	AdenoCa	fajčiar	nepriame znám.
12.	M	77	19	Skvamocel.	nerobená	exfajčiar	negat.
13.	Ž	74	21	AdenoCa	nerobená	fajčiar	negat.
14.	Ž	64	21	AdenoCa	AdenoCa	fajčiar	priame známky
15.	Ž	68	20	AdenoCa	AdenoCa	fajčiar	priame známky
16.	Ž	31	19	Skvamocel.	AdenoCa	nefajčiar	priame známky
17.	Ž	68	21	AdenoCa	nerobená	nefajčiar	negat.
18.	Ž	84	19	AdenoCa	nerobená	nefajčiar	negat.
19.	Ž	59	21	Skvamocel.	nerobená	nefajčiar	nepriame zn.

ženy, rozdelenie podľa pohlaví bolo 15/4 v prospech žien, čo je v kontraste s pomerom mužov a žien v celom vyšetrovanom súbore. Podrobnú charakteristiku pacientov, vrátane lokalizácie mutácií v exónoch ukazuje tabuľka 5. Zastúpenie mutantov a stratifikácia mutácií v súbore BS sú porovnateľné s FFPE štúdiami a prototypom EGFR mutovaného pacienta, t.j. výskyt bol zaznamenaný najmä u žien s adenokarcinómom [14]. V našej štúdii nás zaujala aj veková stratifikácia mutantov v porovnaní s wilde-type podsúborom mužov a žien. Kým u žien mutantky v porovnaní s wilde-type pacientkami boli mierne staršie (o 5,7 roka), naopak u mužov boli mutanti v porovnaní s wilde-type pacientami o niečo mladší (o 6,6 roka). Logicky toto pozorovanie sa premietlo aj do vekového rozdielu medzi mutovanými mužmi a ženami. Naopak takéto vekové rozdiely neboli evidentné medzi wilde-type mužmi a ženami. Vekový rozdiel medzi mutovanými mužmi a ženami je pravdepodobne špecifikum malého súboru EGFR pozitívnych pacientov.

ZÁVER

Diagnostika pľúcnej rakoviny si vyžaduje multidisciplinárny prístup, ktorej významnou zložkou je molekulárna patológia. Na úrovni intracelulárnych signálových kaskád, pomocou progresívnych vyšetrovacích molekulárnych metód, je možné zachytiť patologické zmeny, ktoré sú včasné a kľúčové v průbehu neoplastického procesu. Mediátormi aberantných signálových dráh sú mutované proteíny a ich nositeľmi zase génové aberácie, ktoré sú diagnostikovateľné senzitivnými molekulárnymi testami. Molekulárne genetické vyšetrenia sú predmetom dlhodobého a intenzívneho výskumu, ktorý pre pacientov s nemalobunkovým karcinómom pľúc, na začiatku 21. storočia, priniesol možnosť intervencie na úrovni intracelulárnych kaskád v podobe TKI. Tieto molekulárne terapie obohacujú štandardné spektrum rádio a chemoterapií a napomáhajú zlepšovať prežívanie a zvyšujú kvalitu života pacientov. Využitie špecifických molekulárnych testov na stanovenie cieľenej liečby nemalobunkových karcinómov je na Slovensku dostupné a využívajú sa v klinickej praxi [15]. Ako uvádza „konsenzus pre testovanie EGFR mutácií“, cytologické vzorky môžu byť vhodné na analýzu, avšak sú potrebné ďalšie štúdie [13]. Do tohto kontextu sme chceli prispieť aj našou štúdiou. Ku kvalitnej genetickej analýze je však potrebný odber materiálu z nádoru. Ukazuje sa, a naše skúsenosti to potvrdzujú, že kvalitný bronchoskopický odber cytologického materiálu na stanovenie EGFR mutácií je užitočným vyšetrením vo využívaní cieľenej molekulárnej terapie. Je pochopiteľné, že ku kvalitnému odberu je nutné aj optimálne prístrojové vybavenie pracoviska.

LITERATÚRA

1. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S et al. F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013 available from: <http://globocan.iarc.fr>.
2. Fiala O, Pešek M, Teřl M, Fínek J et al. Personalizace onkologické léčby pacientů s pokročilým NSCLC. *Stud pneumol phthiseol* 2015; 75(3):86–94.
3. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *Eur J of Cancer* 2013; 49(6):1374–1403.
4. Midthun DE, Jett JR. Lung Tumors. In: Albert KL, Spiro SG, Jett JT et al. *Clinical Respiratory Medicine*, 3rd Edition, Mosby Elsevier 2008, s. 1010.
5. Li H, Pan Y, Li Y et al. Frequency of well identified oncogenic driver mutations in lung adenocarcinoma of smokers varies with histological subtypes and graduated smoking dose. *Lung cancer* 2013; 79(1):8–13.
6. Cheng L, Alexander RE, MacLennan GT, Cummings OW, Montironi R et al. Molecular pathology of lung cancer: key to personalized medicine. *Modern Pathology* 2012; 25: 347–369.
7. Travis WD, Brambila E, Noguchi M et al. IASLC, ATS, ERS international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J. Thorac Oncol* 2012; 6(2):244–285.
8. Lee SY, Kim MJ, Jin G et al. Somatic mutation in epidermal growth factor receptor signalling pathway genes in non-small cell lung cancers. *J. Thorac Oncol* 2010; 5(11): 1734–1740.
9. Rosell R, Moran T, Queralt C, Porta R, Cardenal F et al. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *New England Journal of Medicine* 2009; 361(10):958–967.
10. Fiala O, Pešek M, Fínek J, Brůha F, Bortlíček Z et al. EGFR Mutations in Patients with Advanced NSCLC. *Klinická Onkologie* 2012; 25:267–273.
11. Mistry M, Parkin DM, Ahmad AS, Sasieni P. Cancer incidence in the United Kingdom: Projections to year 2013. *British Journal of Cancer* 2011; 105:1795–1803.
12. Mansuet-Lupo A, Zouiti F, Alifano M, Tallet A, Charpentier MC, Ducruit V et al. Intratumoral distribution of EGFR mutations and copy number in metastatic lung cancer, what impact on the initial molecular diagnosis? *Journal of Translational Medicine* 2014; 16(12):131–139 .
13. Pirker R, Hert FJ, Kerr MK, Filipits M et al. Consensus for EGFR Mutation testing in Non-small cell Lung Cancer. Results from a European Workshop. *J Thorac Oncol* 2010; 5(1):706–1713.
14. Smith GD, Chadwick BE, Willmore-Payne C, Bentz JS. Detection of epidermal growth factor receptor gene mutations in cytology specimens from patients with non-small cell lung cancer utilizing high-resolution melting amplicon analysis. *Journal of Clinical Pathology* 61(4):487–493.
15. Beržinec P, Andrašina I, Kasan P et al. Molekulárne testovanie karcinómu pľúc v SR – pohľad z klinickej praxe. *Onkológia* 2015; 10(6):350–353.

Došlo: 7. 6. 2016

Adresa:

MUDr. Helena Novosadová
Klinika pneumológie a ftizeológie
LF UK a UNB Bratislava
Ružinovská 6
826 06 Bratislava
Slovenská republika
e-mail: novosadovahelena@gmail.com

Význam Y stentů u procesů v centrálních dýchacích cestách – dlouhodobé sledování

V. Kolek

Klinika plicních nemocí a TBC, FN a LF UP, Olomouc

SUMMARY

Role of Y stents in central airway disease – a long-term follow-up

The study was concerned with Y stents implanted into the tracheal carina. The silicone Novatech DUMON stents were used. The technique was most frequently indicated for malignant tumors narrowing the central airways, less frequently for tracheoesophageal fistulas or tracheomalacia. The stents were introduced with a rigid bronchoscope under X-ray guidance. The procedure was performed under deep analgesia with sedation and jet ventilation. A total of 88 patients were included in the study, of whom 80 had malignant and 8 had benign stenosis. The mean and median overall survival from stent placement was 35.4 and 23.8 months, respectively, in benign disease, and 15.8 and 3.5 months, respectively, in malignant diseases. The most frequent tumors were bronchogenic and esophageal carcinoma, with squamous carcinoma being the predominant histology type. The insertion of Y stents proved to be effective palliative treatment considerably reducing dyspnea and improving lung function.

Keywords: tracheobronchial stenosis, Y stent, survival, bronchogenic carcinoma, esophageal carcinoma

SOUHRN

Práce se zabývá implantací Y stentů do oblasti tracheální kariny. Byly použity plastické stenty Novatech Dumonova typu. Nejčastějšími indikacemi byly maligní nádory stenózující centrální dýchací cesty, méně často tracheozofageální píštěle nebo tracheomalácie. Stenty byly zaváděny rigidním bronchoskopem pomocí skiaskopické kontroly. Výkony byly prováděny v hluboké analgosedaci při tryskové ventilaci. Celkem je hodnoceno 88 pacientů, 80 s maligní a 8 s benigní stenózou. U benigních procesů bylo střední přežití od zavedení stentu 35,4 měsíců a medián přežití 23,8 měsíců, u maligních procesů bylo střední přežití 15,8 měsíců a medián přežití 3,5 měsíce. Nejčastějšími nádory byly bronchogenní karcinom a karcinom jícnu, dominoval skvamózní histologický typ. Zavedení Y stentů je hodnoceno jako účinná paliativní léčba, která významně snižuje dušnost a zlepšuje plicní funkce.

Klíčová slova: tracheobronchiální stenóza, Y stent, přežití, bronchogenní karcinom, karcinom jícnu

ÚVOD

Zavádění stentů patří mezi standardní metody terapeutické bronchologie. Stenty lze zavádět do průdušnice nebo průdušek, o jejich aplikaci jsou první zmínky v chirurgické literatuře 18. století. Bronchoskopické zavádění gumových stentů popsali spolupracovníci a žáci prof. Killiana – Brünings a Albrecht v roce 1915 [1]. Optimálně použitelný silikonový stent pro dýchací cesty vyvinul J-F. Dumon s firmou Novatech koncem 80. let a první větší soubor publikoval v roce 1990 [2]. Zdůraznil biokompatibilitu stentu, jeho snadné zavádění i extrakci a fixaci k mezichrupavkovým strukturám. Koncepce tohoto stentu byla postupně zlepšována a doposud nebyla překonána. Byl to opět J-F. Dumon, který vyvinul stent vhodný pro oblast tracheobronchiálního přechodu. První sou-

bor nemocných publikoval 15 let po zprávách o přímých silikonových stentech [3]. V současnosti vyrábí stenty tvaru Y několik výrobců (obr. 1). Kromě typu Dumon (nyní firma Novatech) se používají např. typ Hood nebo Freitag [4,5], které mají nevýhodu v rigiditě a úzkých dolních koncích. Variantou je Dumonův stent typu J, který má jeden dolní konec zaslepen. V poslední době vzniklo i několik Y stentů na bázi potahovaného nitinolu. Y stenty se zavádějí do oblasti tracheální kariny, hlavním cílem je paliativní léčba dušnosti a zábrana sufokace. Většinu indikací Y stentů tvoří centrální maligní nádory (obr. 2), méně často benigní stenózy, píštěle a tracheomalácie. Prognóza centrálních stenózujících nádorů je většinou značně nepříznivá, ale reprodukovatelná data o přežití nemocných jsou velmi malá. V práci uvádíme vlastní zkušenosti s touto metodou retrospektivním hodnoce-

ním pacientů vlastního pracoviště s uvedením přežití podle indikací a klinických charakteristik.

METODIKA A MATERIÁL

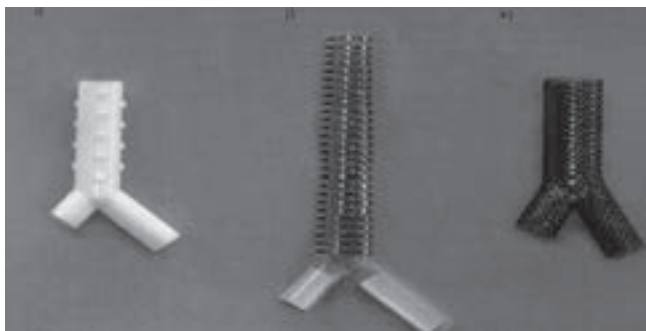
Sběr dat

Práce hodnotila celkové počty aplikací Y stentů a jejich podíl na všech bronchologických výkonech v letech od 1. 1. 1983 do 31. 12. 2015 na pracovišti Kliniky plicních nemocí a tuberkulózy ve FN Olomouc. V období 2001–2015 bylo vyhodnoceno zavádění Y stentů po stránce indikací, komplikací a přežití u jednotlivých diagnóz. Přežití bylo hodnoceno od zjištění diagnózy a od zavedení stentu, a to podle pohlaví, věku, typu nádoru, jeho histologie a stadia. Byl sledován výskyt lokálních komplikací souvisejících se zavedeným stentem a doplňková léčba.

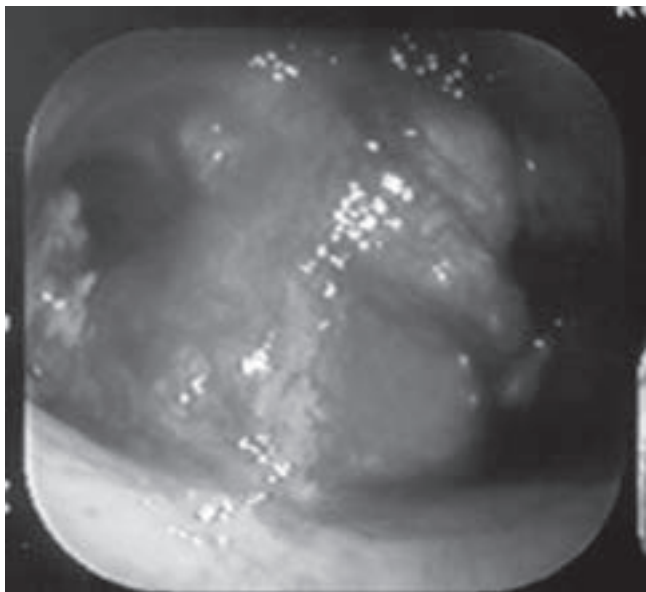
Technika zavádění

Stenty byly zaváděny v hluboké analgosedaci rigidním bronchoskopem typu Storz, EFER (Dumon) nebo Reichert. K anestezii byl použit standardní anestetický

Obrázek 1: Různé typy Y stentů



Obrázek 2: Tumor stenózující oblast tracheální kariny



přístroj Cirus Trans II. v kombinaci s tryskovou ventilací přístrojem TWINSTREEM. Stenty byly zaváděny soupravou, která umožňuje složení stentu, zavedení do tubusu bronchoskopu a jeho protlačení do tracheobronchiálního stromu (obr. 3). K zavádění bylo možno použít kontrolu skiaskopii (C rameno ZEIH Vision FD).

Statistické zpracování

Data byla extrahována z vlastní elektronické databáze „Bronchologie DS Soft“, která umožňuje analýzu všech prováděných výkonů, jejich indikací, lokalizací nálezů, bioptických metod apod. Statistika přežívání byla hodnocena metodou dle Kaplan Meiera a statistická signifikance rozdílů v mediánu celkového přežití (mOS) byla hodnocena testem Log Rank (Mantel-Cox) s limitní hodnotou p 0,05. Byl použit software SPSS verze 15 (USA).

VÝSLEDKY

Charakteristiky souboru

V celém sledovaném období bylo zavedeno 464 stentů, z toho 120 stentů typu Y. Implantace stentů tvořily 1,9 % ze všech bronchologických výkonů (24 369). Většinou byly zaváděny plastické Y stenty typu Dumon (Novatech), čtyřikrát dynamický stent typu Freitag, třikrát stenty typu J (obr. 4, 5, 6). V letech 2001–2015 byly tyto stenty zavedeny u 88 pacientů: 53 (60,2 %) mužů a 35 (39,8 %) žen (tabulka 1). Průměrný věk v době stanovení diagnózy byl 61,4 let, v době zavedení stentu byl průměrný věk 62,7 let, u benigních stenóz to bylo 59,9 a 61,0 let, u maligních 61,6 a 62,8 let. Věkové rozmezí v době stanovení diagnózy bylo 19 až 92 let, v době zavedení stentu to bylo 31 až 92 let.

Z celého souboru bylo 8 pacientů (3 muži, 5 žen) s benigní diagnózou (2× píštěl, 3× benigní stenóza, 3× tracheobronchomalácie) a 80 pacientů (50 mužů, 30 žen) mělo centrální maligní nádor. Z toho se u 53 nemocných vyskytl bronchogenní karcinom (35× skvamózní, 8× adeno, 3× velkobuněčný, 3× NOS a 4× malobuněčný), u 12 nemocných karcinom jícnu (8× spino, 2× NOS), u 6 nemocných karcinom trachey (5× skvamózní a 1× mukoeπι-

Obrázek 3: Souprava pro zavádění stentů



dermoidní), u 3 nemocných karcinom laryngu (skvamózní), dále byl u dvou pacientů diagnostikován mediastinální lymfom (velkobuněčný), u dvou papilokarcinom štítné žlázy, u jednoho thymom a u jedné pacientky metastazující karcinom prsu.

V průběhu sledování se vyskytly tyto komplikace: přerůstání granulací na koncích stentu 38×, nezávažné krvácení 19× a významné zahlenění stentu 15×. Nesetkali jsme se s migrací, která je běžná u přímých stentů bronchiálních nebo tracheálních.

Přežití nemocných

Střední doba přežití celého souboru byla 29,5 měsíce od stanovení diagnózy a 17,6 měsíců od zavedení stentu. Medián celkového přežití (mOS) celého souboru byl od doby stanovení diagnózy 11,3 měsíců a od zavedení stentu 3,6 měsíců, u benigních procesů to bylo 43,1 měsíců a 23,8 měsíců; u maligních 10,9 měsíců a 3,5 měsíců. Rozdíl v přežití od zavedení stentu mezi nemocnými s maligní a benigní stenózou byl signifikantní ($p = 0,046$) – graf 1. Nebyl rozdíl v přežití podle pohlaví ($p = 0,749$, resp. $0,979$), podle věku nad nebo pod 60 let ($p = 0,079$, resp. $0,838$), podle výskytu nebo chybění komplikací ($p = 0,811$, resp. $0,925$). Dále bylo hodnoceno přežívání typu maligních nádorů, které byly příčinou stenózy.

Nejdéle přežili nemocní s karcinomem trachey (mOS 6,07 m), dále s karcinomem bronchu (mOS 3,64 m) a jiné nádory (mOS 3,54 m), nejkratší přežití měli nemocní s karcinomem jícnu (mOS 2,49 m). Mezi karcinomy měl nejlepší prognózu skvamózní karcinom (mOS 4,20 m), který měl lepší prognózu než adenokarcinom (mOS 3,64 m) a ostatní histologické typy. Velmi krátké přežití měli nemocní s malobuněčným karcinomem (mOS 1,18 m) a NOS (mOS 1,61 m). Skvamózní karcinom stadia IIIB (hodnoceno 22 pacientů, mOS 5,18 m) měl delší přežití než stadium IV (hodnoceno 10 pacientů, mOS 3,47 m), rozdíly ale nebyly statisticky signifikantní (p nad 0,05).

Další léčba

Při zavedení nebo v průběhu uložení stentu byla použita terapie laserem 35×, stent byl zaměněn 6× a dvojité stentování (jícen, trachea) bylo použito 3× (obr. 7). Po endoskopickém zavedení stentu byl třikrát stent extrahován a chirurgem zaveden Montgomeryho T tubus. Dvakrát musela být provedena tracheostomie, 9× byla nazogastrická sonda, 4× gastrostomie a 4× operační zákrok. U maligních procesů probíhala onkologická léčba jako zevní radioterapie, brachyterapie, chemoterapie, biologická léčba a imunoterapie. Komplikace byly řešeny při pravidelných klinických a bronchoskopických kontrolách. Byla podávána antitusika, mukolytika, bronchodilatancia a antibiotika. Nemocní byli vybaveni osobními nebulizátory a mezi osobní doklady nemocného byl zařazen písemný záznam o typu zavedeného stentu.

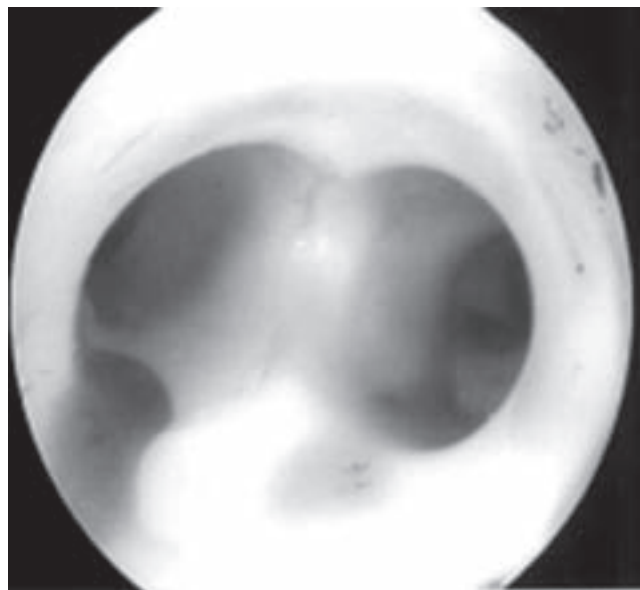
DISKUZE

Zavádění Y stentů je rutinní bronchoskopický výkon při dostatečné zkušenosti bronchologického týmu a odpovídajícím vybavení pracoviště. Jejich usazování je zpravidla technicky náročnější než implantace přímých tracheálních nebo bronchiálních stentů, je ale zvládnutelné, zvláště při použití skioskopie. Zlepšení dušnosti a plicních funkcí je okamžité, nicméně je třeba počítat i s komplikacemi a nemocné po zavedení stentu je nutné sledovat. Při indikaci je třeba zvážit diagnózu, charakter

Tabulka 1

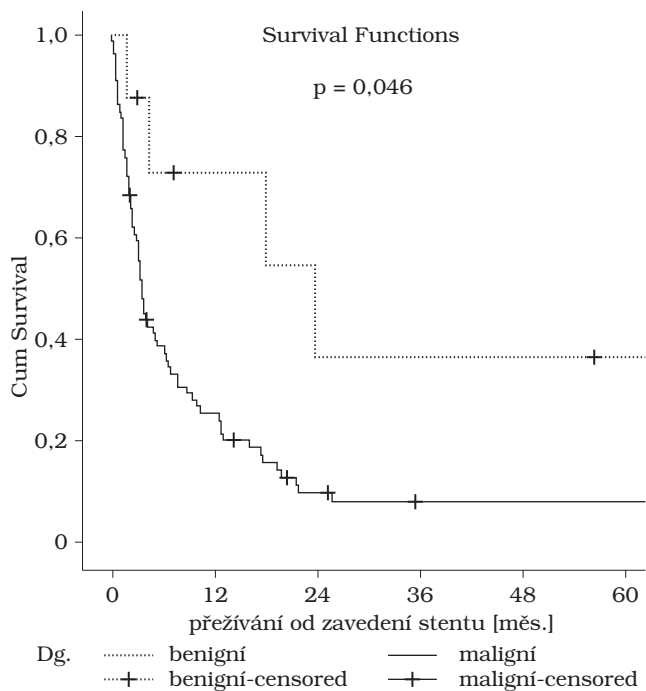
	Počet	Procenta	Věk v době diagnózy	Věk v době zavedení stentu
celý soubor	88	100	60,4	62,7
muži	53	60,2	60,2	62,4
ženy	35	39,8	60,5	62,8
benigní stenóza	8	9,1	59,9	61,0
muži	3	3,4	57,7	57,7
ženy	5	96,6	61,2	63,0
maligní stenóza	80	90,9	61,6	62,7
muži	50	56,8	61,7	62,7
ženy	30	34,1	61,4	62,6

Obrázek 4: Endoskopický pohled na zavedený Y stent

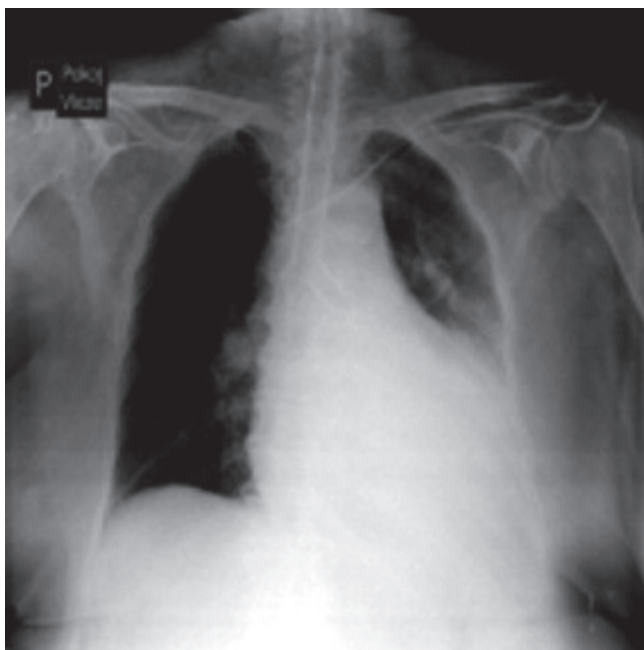


stenózy nebo jiného procesu v dýchacích cestách a celkový stav pacienta [6,7,8]. V tomto směru pomáhají zobrazovací metody, ale velmi důležité je posouzení postižené oblasti zkušeným broncholo-

Graf 1: Přežití nemocných v Kaplan Meierově grafu

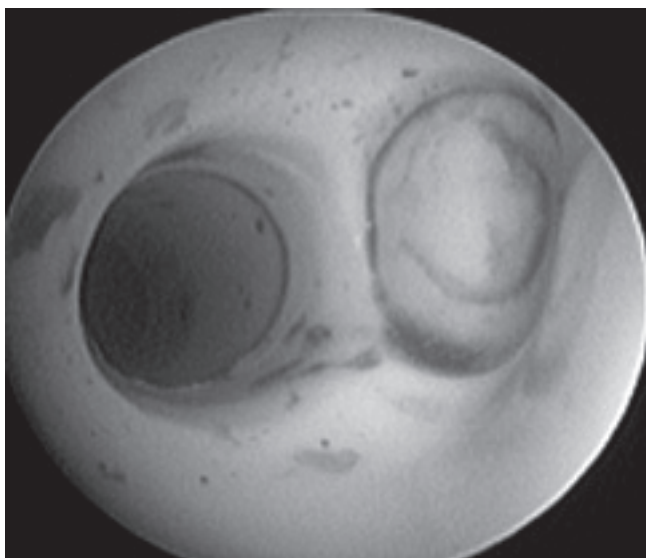


Obrázek 5: Skiagram se zavedeným celotracheálním Y stentem

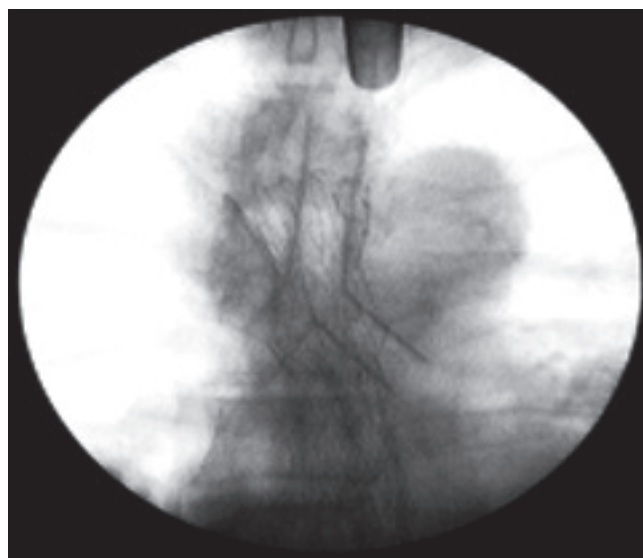


gem před samotným výkonem. V literatuře není mnoho prací, které se věnují této specifické metodě. Jde o kazuistická sdělení nebo menší, často nehomogenní soubory. Pokud je uváděno přežití, není hodnoceno zvyklými onkologickými parametry a většinou se udává v průměrných hodnotách se zdůrazněním individuálně dlouhodobě přežívajících nemocných. Dumon na souboru svých 50 nemocných udává střední přežití 109 dnů a zdůrazňuje prognostický význam tracheoezofageální píštěle, která u karcinomu jícnu zkracuje parametr přežití ze 138 dnů (bez píštěle) na 71 dnů (s píštělí) [3]. Dumonův následovník Dutau v rozsáhlejší studii sledoval 86 pacientů během 8 let. Medián věku byl 60,4 let, nejčastějšími nádory byly bronchogenní karcinom a karcinom jícnu, 71 % nádorů bylo skvamózního typu. Uvádí střední dobu aplikace stentu 133,6 dnů, u nemocných s píštělí 92 dnů [9]. Medián (z textu vyplývá, že spíše střední doba) přežití od zavedení stentu byl 181 dnů.

Porovnáním našich výsledků můžeme potvrdit, že přežití pacientů s maligní stenózou řešenou aplikací Y stentu je zpravidla kratší než při nádorech, kde bylo dostačující zavést přímý bronchiální nebo tracheální stent [10]. Implantací stentu u kolapsu trachey nebo tracheomalácie se zabývá jen minimum prací. Tato metoda se doporučuje po neúspěchu s medikamentózní léčbou a jinými neinvazivními pomůckami (CPAP). Její výsledky jsou limitované mimo jiné proto, že se během aplikace mění tzv. choke point, tj. bod nejvíce limitující průchod vzduchu, a v dolních koncích stentu vznikají granulace [11,12]. V případě píštěle zabraňuje stent aspiraci potravy nebo regurgitaci žaludečního obsahu. Ale jak potvrdila naše i francouzské studie, výsledky léčby nejsou spolehlivé ani při provedení double stentingů a píštěl je obecně nepříznivým příznakem [13,14]. Je třeba uvážit riziko, že může dojít tlakem obou stentů k ischemii stěny trachey a jícnu, a tak k dalšímu rozpadu píštěle. Výsledky publikovaných souborů ukazují, že doposud žádný z používaných stentů není ideální, a zvláště indikace u benigních procesů nejsou ještě zcela vyhraněné. Je třeba hledat stále nové cesty a materiály, jako jsou např. stenty samovstřebatelné, nebo nově tvarované [15,16,17]. Je nutno akceptovat, že zavedení Y stentu u maligních procesů je paliativní metodou často již v terminálních fázích onemocnění. V některých případech může být stent zaveden při časných příznacích nemoci na přechodnou dobu (bridging), kdy jeho zavedení umožní provedení intervenční diagnostiky a další léčbu (radioterapii, chemoterapii). Různé možnosti sekvenování léčebných postupů se projevily ve velkých rozdílech mezi střední dobou a mediány přežití od zavedení stentu a od stanovení diagnózy. Potvrdilo se také, že nejčastějším histologickým typem karcinomu bronchu stenozujícího centrální dýchací cesty je skvamózní karcinom, který tvořil 66 % všech bronchogenních karcinomů, a vyskytoval se i u prorůstajících ná-

Obrázek 6: Endoskopický pohled na zavedený J stent

dorů jícnu a laryngu. Velmi špatnou prognózu mají malobuněčné karcinomy po vyčerpání jiné onkologické léčby. Ale i u těchto indikací je výsledkem výrazné zlepšení kvality života, které stent navodí

Obrázek 7: Double stenting u tracheoezofageální píštěle

bezprostředně po zavedení. V tomto smyslu je zavedení Y stentu suverénním postupem a mělo by být trvale zařazeno mezi ostatní metody terapeutické bronchologie.

Tabulka 2: Přežití nemocných v měsících

	Střední přežití od diagnózy	Střední přežití od zavedení	Medián přežití od diagnózy	Medián přežití od zavedení
celý soubor	29,5 (95% CI 19,1–39,9)	17,6 (95% CI 9,3–25,9)	11,3 (95% CI 7,4–15,2)	3,6 (95% CI 2,3–5,0)
benigní stenóza	48,7 (95% CI 21,0–76,5)	35,4 (95% CI 8,8–62,0)	43,1 (95% CI 0–99,1)	23,8 (95% CI 3,0–44,7)
maligní stenóza	26,4 (95% CI 16,2–36,6)	18,1 (95% CI 8,8–27,3)	10,9 (95% CI 8,1–13,7)	3,5 (95% CI 2,8–4,2)
karcinom trachey	10,3 (95% CI 2,7–17,9)	10,3 (95% CI 2,7–17,8)	6,1 (95% CI 0–12,6)	6,1 (95% CI 0–12,6)
karcinom jícnu	8,0 (95% CI 3,3–12,7)	4,8 (95% CI 1,2–8,3)	5,0 (95% CI 0–11,7)	2,5 (95% CI 1,6–3,3)
jiné nádory	63,7 (95% CI 18,7–108,6)	53,9 (95% CI 6,3–101,7)	33,1 (95% CI 0–111,9)	3,5 (95% CI 0–9,7)
karcinom bronchu	22,6 (95% CI 13,1–32,1)	12,9 (95% CI 4,9–20,9)	11,9 (95% CI 9,4–14,9)	3,6 (95% CI 2,5–4,7)
skvamózní	23,6 (95% CI 10,8–36,5)	13,6 (95% CI 3,5–23,7)	12,7 (95% CI 9,4–16,0)	4,2 (95% CI 0–8,6)
adenokarcinom	26,7 (95% CI 10,9–42,5)	5,6 (95% CI 2,0–9,2)	16,2 (95% CI 8,4–23,9)	3,6 (95% CI 2,9–4,3)
malobuněčný	37,8 (95% CI 0–95,2)	35,5 (95% CI 0–94,6)	8,8 (95% CI 0–23,4)	1,2 (95% CI 0–16,8)
NOS	2,4 (95% CI 1,1–3,6)	1,3 (95% CI 0,6–2,0)	1,8 (95% CI 1,5–2,1)	1,6 (95% CI 0–3,2)
stadium IIIB	27,8 (95% CI 10,3–45,3)	14,9 (95% CI 2,5–27,3)	13,5 (95% CI 10,2–16,9)	5,2 (95% CI 0–11,5)
stadium IV	13,4 (95% CI 6,0–20,7)	8,2 (95% CI 3,4–13,0)	8,1 (95% CI 0–23,4)	3,5 (95% CI 0–8,5)

ZÁVĚR

Zavedení Y stentu je účinná paliativní metoda u závažných stavů s obstrukcí, nestabilitou nebo abnormální komunikací ve velkých dýchacích cestách. Jeho umístění je zpravidla trvalé, ale může jít i o zákrok překlenovací. Nejčastější indikací jsou maligní nádory zpravidla po vyčerpání jiných léčebných možností. Nejčastějším tumorem v karinální lokalizaci je bronchogenní karcinom a karcinom jícnu. Mezi nádory bronchů dominují skvamózní karcinomy, u kterých bylo numericky delší přežití než u jiných histologických typů tohoto nádoru.

Podpořeno grantem AZV 16-32318A

Poděkování: sestřám H. Bartošové, M. Boháčové, V. M. Jurkové, V. Krugové, K. Pospíšilové, A. Švecové, R. Zittové za trpělivou spolupráci na bronchoskopickém sále, lékařům bronchologům MUDr. P. Jakubcovi, Ph.D., MUDr. J. Kultanovi, prim. MUDr. S. Lossemu, MUDr. M. Sovovi, Ph.D., MUDr. A. Václavíkovi, MUDr. J. Zatloukalovi, Ph.D., lékařům anesteziologům prof. MUDr. M. Adamusovi, Ph.D., prim. MUDr. O. Markovi, Ph.D., prim. MUDr. Z. Petrové, MUDr. D. Matlochové a sestře R. Laštůvkové za dohledávání dat. Bez jejich přispění by nevznikla tato práce a systematické zavádění stentů by nebylo možné.

LITERATURA

- Freitag L. Airway stents. In: Strausz J, Bolliger CT, editors. Interventional pulmonology. European Respiratory Society 2010; 48:190–217.
- Dumon JF. A dedicated tracheobronchial stent. Chest 1990; 97:328–332.
- Dumon JF, Dumon MC. Dumon Novatech Y stents. A four year experience with 50 tracheobronchial tumours involving the carina. Journal of Bronchology 2000; 7:26–32.
- Cavaliere S, Venuta F, Foccoli P et al. Endoscopic treatment of malignant airway obstruction in 2,008 patients. Chest 1996; 110:1536–1542.
- Freitag L, Eicker R, Linz B et al. Theoretical and experimental basis for the development of a dynamic airway stent. Eur Respir J 1994; 7:2038–2045.
- Kolek V, Marek O, Bartošová H et al. Vyhodnocení diagnostiky a léčby tracheálních stenóz. Stud Pneumol Phthiseol 2008; 68:10–14.
- Freitag L, Ernst A, Unger M et al. A proposed classification system of central airway stenosis. Eur Respir J 2007; 30:7–12.
- Mathur NP, Poletti V: Interventional Pulmonology: Current State of the Art. Curr Opin Pulm Med, 2016;22, 243–244
- Dutau H, Toutblanc B, Lamb C et al. Use of the Dumon Y stent in the management of malignant disease involving carina. A retrospective review of 86 patients. CHEST 2004; 126:951–958.
- Kolek V, Marek O. Naše zkušenosti s aplikací tracheobronchiálních stentů. Stud Pneumol Phthiseol 1997; 57: 211–213.
- Murgu S, Colt H. Tracheobronchomalacia and Excessive Dynamic Airway Collapse. Clinics in CHEST Medicine 2013; 34:527.
- Miyazawa T, Miyazu Y, Iwamoto Y et al. Stenting at the Flow-limiting Segment in Tracheobronchial Stenosis due to Lung Cancer. AJRCCM 2004; 169:1096–1102.
- Miwa K, Mitsuoka M, Tayama K et al. Successful airway stenting using silicone prosthesis for esophagobronchial fistula. CHEST 2002; 122:1485–1487.
- Nomori H, Hono H, Imazu Y et al. Double stenting for esophageal and tracheobronchial stenoses Ann Thorac Surg 2000; 70:1803–1807.
- Stehlík L, Lefnerová Š, Hytych V et al. Biodegradabilní stenty v léčbě dospělých pacientů se zúžením trachey. Stud Pneumol Phthiseol 2015; 75:236–243.
- Wang J, Boutin KG, Abdulhadi O et al. Fully Biodegradable Airway Stents Using Amino Alcohol-Based Poly (ester amide) Elastomers. Advanced healthcare materials 2013; 2:1329–1336.
- Oki M, Saka H. New Dedicated Bifurcated Silicone Stent Placement for Stenosis Around the Primary Right Carina. Chest 2013; 144:450–455.

Došlo: 29. 8. 2016

Adresa:

prof. MUDr. Vítězslav Kolek, DrSc.
Klinika plicních nemocí a TBC
FN a LF UP, Olomouc
I. P. Pavlova 6
779 00 Olomouc
Česká republika
e-mail: vitezslav.kolek@fnol.cz

Epidemiologická situace TBC v České republice v roce 2015

J. Wallenfels

Národní jednotka dohledu nad tuberkulózou, Nemocnice Na Bulovce, Praha

SUMMARY

Epidemiological situation of tuberculosis in the Czech Republic in 2015

In 2015, a total of 518 new (and recurrent) cases of tuberculosis (TB) of all forms and locations were reported in the Czech Republic. The highest number of TB cases were reported in Prague while the least affected was the Zlín Region. Seventy-eight percent of TB cases were bacteriologically confirmed. Five TB cases were reported in the 0–14 years age group. Twenty-one percent of TB cases were diagnosed in patients born in countries other than the Czech Republic. Multidrug-resistant TB cases accounted for 2.7% of the total reported (with available results of drug sensitivity testing). Thirty-three deaths from TB were reported to the TB 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, 2015

SOUHRN

V roce 2015 bylo v České republice hlášeno 518 nových případů (a recidiv) TBC všech forem a lokalizací. Nejvíce onemocnění bylo v Praze, relativně nejméně ve Zlínském kraji. 78 % TBC bylo bakteriologicky ověřeno. Ve věkové skupině 0–14 let bylo hlášeno 5 případů TBC. Podíl osob narozených mimo Českou republiku se zjištěnou TBC v České republice představoval 21 % z celkové notifikace. Podíl multirezistentní TBC činil 2,7 %. Do registru TBC bylo nahlášeno 33 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, 2015

ÚVOD

V roce 2015 bylo v České republice hlášeno 518 nových případů (a recidiv) TBC všech forem a lokalizací, což představuje 4,9 hlášených TBC na 100 000 obyvatel. Ve srovnání s rokem předešlým je to o 4 případy TBC více, ve srovnání s rokem 2013 o 16 případů více a současně je to poprvé po 24 letech, kdy byl zaznamenán meziroční nárůst počtu případů (byť zcela minimální) dva roky po sobě. Podíl dříve léčených byl 8 %. Muži se na notifikaci TBC podíleli 70 % (361 případů). Podíl plicních TBC činil 87 % (453 případů). Do Registru TBC bylo nahlášeno 33 úmrtí na tuberkulózu, tj. 0,3 na 100 000 obyvatel.

Relativně (a v případě hl. m. Prahy i absolutně) nejvíce nemocných mělo bydliště v hl. m. Praze (114 případů, což je 9,1 na 100 000 obyvatel). Nad celostátním průměrem byly dále Ústecký kraj (6,4 na 100 000 obyvatel), Jihomoravský kraj (5,8 na 100 000 obyvatel), Plzeňský kraj (5,4 na 100 000 obyvatel) a Liberecký kraj (5,2 na 100 000 obyvatel). Nejpriznivější situace byla ve Zlínském kraji s hlášenou incidencí 2,0 na 100 000 obyvatel.

Počty případů TBC nemocných v roce 2015 s tzv. přidruženými podmínkami a přidruženými nemocemi (rizikovými faktory) sledovanými v Registru TBC zachycují tabulky 1 a 2.

Podíl bakteriologicky ověřených TBC činil 78 % (403 případy). Z epidemiologického hlediska nejzávažnějších forem TBC, totiž TBC plic mikroskopicky pozitivních ze sputa, bylo zjištěno 210.

Nejvyšší nemocnost TBC byla u mužů ve věkové skupině 50–54 let (13,9 na 100 000 mužů) a 75+ (12,4 na 100 000 mužů), u žen ve věkové skupině 75+ (7,8 na 100 000 žen). U dětí (ve věkové skupině 0–14 let) bylo v roce 2015 hlášeno 5 případů TBC (dvě roční děti – obě nekalmetizované, dvě 3leté děti, též nekalmetizované a jedno 14leté kalmetizované dítě). V jednom případě (u ročního dítěte) se jednalo o bazilární meningitidu, v ostatních případech šlo o plicní TBC. Všechny nemocné děti se narodily v České republice.

Podíl osob narozených mimo Českou republiku se zjištěnou TBC v České republice v roce 2015 představoval 21,2 % z celkové notifikace, což bylo nejvíce v historii. Jednalo se v absolutních číslech o 110 případů (pro srovnání nejvyšší počet dosud

Tabulka 1: Přidružené podmínky, Registr TBC, rok 2015

Přidružené podmínky	Počet
alkoholik	84
azylant	8
bezdomovec	38
dialýza	5
domov seniorů	2
homosexuál	1
hospitalizace pro jiné onemocnění	9
jiná imunosupresivní léčba	7
jiná sociální lůžka	4
jiné	22
jiné profesní riziko	11
kontakt s TBC	57
kortikoidy systémově	13
kuřák	258
LDN, hospic	1
léčba anti TNFalfa	3
mateřství do 1 roku po porodu	1
nezaměstnaný	75
neznámo	12
osaměle žijící	39
psychiatrická léčebna	5
Rom	32
těhotenství	0
toxikoman	10
učitel	3
výkon trestu/vazba	19
zdravotník	6
žádné	120

byl zaznamenán v roce 2008 a činil 186 případů) celkem z 25 zemí, nejvíce tradičně ze Slovenska (26 případů), Ukrajiny (24 případů), Vietnamu (11 případů) a též Rumunska (10 případů). Nebyla hlášena ani jedna TBC u Syřana či Iráčana. V zachytných zařízeních pro zajištění cizinců v rámci celé České republiky byly v roce 2015 zjištěny 3 případy tuberkulózy. Jednalo se o dva Ukrajince

Tabulka 2: Přidružené nemoci, Registr TBC, rok 2015

Přidružené nemoci	Počet
AIDS	1
diabetes mellitus	44
duševní onemocnění	26
HIV pozitivita	2
chronické onemocnění plic a průdušek	110
jaterní onemocnění	55
jiné	105
neznámo	20
pneumokonióza	9
stav po transplantaci	2
vředová choroba	31
zhoubný novotvar	39
žádné	184

a jednoho Číňana. Zajímavostí je hlášení dvou případů nemocných z Gambie a Nigérie, kde původcem TBC bylo *Mycobacterium africanum*.

Pokud jde o způsob zjištění, pak 76 % TBC bylo zjištěno pro obtíže, 5 % kontrolou osob z rizikových skupin, 4 % pitvou, 5 % při vyšetřování kontaktů s TBC a 9 % jiným způsobem.

Rezistence k INH, RIF, PZA, ETH nebo STR byla zaznamenána u 34 nemocných z 368 (9,2 %), u kterých jsou výsledky testů citlivosti k dispozici. U 10 z nich šlo o multirezistentní TBC (2,7 %).

Pokud jde o výsledky hodnocení léčby případů TBC hlášených v roce 2014 (hodnocení se provádí až po 12 měsících od jejího zahájení), pak léčebného úspěchu (vyléčen + léčení ukončeno) bylo dosaženo v 74 % případů, 14 % nemocných zemřelo na TBC nebo z jiných příčin a ve zbylých 12 % šlo buď o pokračování léčby, přerušení léčby, selhání léčby, přestěhování nemocného, nebo údaje nebyly k dispozici.

LITERATURA

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

Zpráva o novinkách na ERS kongresu v Londýně

E. Voláková

Klinika plicních nemocí a tuberkulózy, FN a LF UP, Olomouc

Ve dnech 3.–7. září 2016 jsem se zúčastnila kongresu ERS v Londýně, kde mě zaujalo satelitní sympozium o nově vstupujícím přípravku do pneumologie, který obsahuje lidský inhibitor alfa-1 proteázy, určený k suplementační léčbě pacientů s deficitem alfa-1 antitrypsinu. Tento přípravek byl v České republice (ČR) registrován v letošním roce.

Alfa-1-antitrypsin je protein produkovaný v játrech, který inhibuje elastázu neutrofilů, a tím zamezuje destrukci plicní tkáně. Jeho nedostatek je podmíněn geneticky a jeho snížená tvorba jako i snížená sekrece z jater do cirkulace vedou k destrukci plicní tkáně s rozvojem emfyzému.

Sympozium bylo nazvané: „Modifikace emfyzému podmíněného deficitem alfa-1 antitrypsinu – od důkazů k praxi.“

Jako nemoc modifikující označujeme takové léky, jejichž vlivem dochází ke stabilizaci či zlepšení nemoci, přičemž efekt léčby musí přetrvávat i po jejím přerušení. Jako takovou lze označit i léčbu, která do jisté míry zpomaluje progresi onemocnění, jak je tomu například i u přípravku s lidským inhibitorem alfa-1 proteázy.

V úvodních přednáškách sympozia byly připomenuty výsledky studií RAPID a RAPID Extension, které jsou považovány za průlomové v důkazu účinnosti suplementační terapie inhibitorem alfa-1 proteázy u nemocných s těžkým deficitem alfa-1 antitrypsinu. Studii RAPID uveřejnil časopis *Lancet* v roce 2015 [1]. Šlo o první randomizovanou, dvojitě zaslepenou a placebem kontrolovanou, multicentrickou studii zabývající se danou problematikou. Studie, které byly prováděny do té doby, byly pouze observační s malým počtem pacientů.

Do studie RAPID bylo zařazeno 180 pacientů s těžkým deficitem alfa-1 antitrypsinu, nekuřáků, ve věku 18–65 let. Pacienti byli randomizováni do

dvou ramen, přičemž polovina pacientů byla po dobu dvou let léčena inhibitorem alfa-1 proteázy v dávce 60 mg/kg tělesné hmotnosti v intravenózní infuzi aplikované jednou týdně, druhá polovina pacientů dostávala placebo. Průběžně byly prováděny CT skeny v plném nádechu k hodnocení úbytku denzity plicní tkáně jako korelátu rozvoje plicního emfyzému. Současně byly sledovány další parametry – spirometrie (změna TLC a FRC), dotazníky kvality života, počet exacerbací v průběhu účasti ve studii. Pacienti léčení inhibitorem alfa-1 proteázy vykazovali ve srovnání s pacienty na placebo prokazatelně nižší roční míru poklesu denzity plicní tkáně. To je považováno za důkaz účinnosti suplementační terapie inhibitorem alfa-1 proteázy u pacientů s těžkým deficitem alfa-1 antitrypsinu. Léčba může zpomalovat progresivní úbytek plicní tkáně, k němuž u těchto pacientů dochází.

Studie RAPID Extension na studii RAPID navázala. Šlo o otevřenou, pokračující studii, ve které měli nemocní z jiných zemí než z USA, kteří se zúčastnili studie RAPID po dobu dalších dvou let, možnost dostávat suplementační terapii inhibitorem alfa-1 proteázy. Účinnost léčby byla v této „open-label extension study“ hodnocena srovnáním nálezů ve skupině pacientů, kteří léčbu dostávali od počátku, se skupinou, jež byla původně léčena placebem. Pacienti léčení inhibitorem alfa-1 proteázy po celou dobu (48 měsíců) vykazovali v absolutním vyjádření pomalejší progresi onemocnění ve srovnání s pacienty, kteří původně dostávali placebo. Relativní úbytek denzity plicní tkáně byl srovnatelný. Pacientům, kteří započali s augmentační léčbou opožděně, se nepodařilo ve sledovaných parametrech dohnat skupinu pacientů, kteří léčbu dostávali od začátku.

Poslední přednáška se zabývala praktickými otázkami suplementační terapie inhibitorem alfa-1 proteázy.

Guidelines pro léčbu deficitu alfa-1 antitrypsinu totiž neposkytují jasná pravidla, jak by měla

být péče o pacienty s deficitem alfa-1 antitrypsinu organizována, aby byla co nejefektivnější a pro pacienty co nejpohodlnější. Organizace péče se v různých zemích liší. Standardy často používají jako indikátor hodnocení progresu onemocnění sledování progresu bronchiální obstrukce – vyšetření plicních funkcí s měřením FEV₁ jednou ročně, dalšími ze sledovaných parametrů jsou klinický stav pacienta, hodnocení kvality života pomocí dotazníků, počtu a tíže exacerbací, sledování hodnot jaterních enzymů i provádění CT skenů. Byla řešena otázka výhod a nedostatků jednotlivých metod.

Provádění spirometrie s hodnocením FEV₁ je poměrně levnou, dostupnou, neinvazivní metodou, jež přináší reprodukovatelné výsledky, a proto bývá doporučováno často. Hodnota FEV₁ se ale v čase mění jen pomalu a málo koreluje s úrovní emfyzému. Sledování počtu exacerbací je také metodou snadno měřitelnou, frekvence exacerbací se ale může v čase měnit, je závislá na více okolnostech, přesném hlášení pacientem i rozdílností definic exacerbace. Dotazníky kvality života (QoL) jsou snadno proveditelné, jsou ale zatíženy chybou subjektivního hodnocení, nízkou senzitivitou a dosud chybí také standardizované dotazníky pro hodnocení kvality života u nemocných s deficitem alfa-1 antitrypsinu. Měření denzity plicní tkáně pomocí CT je snadno opakovatelné, vysoce senzitivní a nálezy korelují s ostatními parametry (FEV₁, mortalita). Vyšetření je ale drahé a vyžaduje speciální programy, jelikož běžné CT skeny mají v hodnocení vývoje onemocnění jen omezené použití. Toto vyšetření nebývá rutinně dostupné a je zatíženo vysokou radiační zátěží.

Obvyklá doporučená dávka inhibitoru alfa-1 proteázy je 60 mg/kg tělesné hmotnosti, aplikována jednou týdně intravenózní infuzí trvající cca 15 minut. Jiné alternativy, pohodlnější a levnější pro pacienta, jako prodloužení intervalu mezi aplikacemi, či otázka domácí aplikace v současných standardech zahrnuté nejsou. Odhaduje se, že léčba inhibitorem alfa-1 proteázy vede k prodloužení doby do úmrtí či potřeby plicní transplantace. U léčených pacientů ze studie RAPID je odhadovaná doba zlepšení přežití asi o 6 let. Účinnost léčby je ale závislá na dosažené hladině sérové koncentrace inhibitoru alfa-1 proteázy.

V diskuzi pak byla řešena otázka, u kterých pacientů hladinu alfa-1 antitrypsinu vyšetřovat a zda by měly být stanoveny nějaké hranice pro indikaci suplementační terapie, případně jaké.

Péče o pacienty s CHOPN s prokázanou deficiencí alfa-1 antitrypsinu bývá koncentrována do

specializovaných center, jejichž počet se v okolních zemích liší. U nás je to jedno centrum při Pneumologické klinice 1. LF UK v Thomayerově nemocnici v Praze. Jak je tato péče organizována, je podrobně uvedeno ve standardu ČPFS, který je dostupný na stránkách naší odborné společnosti. Aktuálně je na suplementační terapii lidským inhibitorem alfa-1 proteázy v ČR 18 pacientů [2]. Počet takto nemocných, kteří by na léčbu dosáhli, je ale nepochybně vyšší a naše pozornost by měla do budoucna být zaměřena na jejich vyhledávání.

Vyšetření sérové hladiny alfa-1 antitrypsinu je poměrně dostupné a levné vyšetření, jež provádí řada imunologických či biochemických laboratoří v celé ČR. Za normální se považuje rozmezí mezi 1,0–2,0 g/l. V průběhu probíhajícího zánětu sérová hladina alfa-1 antitrypsinu stoupá. Na to bychom měli myslet při interpretaci výsledků a odběr provádět zásadně ve stabilní fázi onemocnění. Za hranici těžkého, klinicky významného snížení se považuje hodnota alfa-1 antitrypsinu pod 0,5 g/l. Všichni nemocní se zachycenou sníženou hladinou alfa-1 antitrypsinu by měli být odesláni do centra.

Dříve se doporučovalo vyšetřovat sérovou hladinu alfa-1 antitrypsinu především u mladších jedinců s emfyzémem, zejména těch, co neměli typické rizikové faktory, jako je kouření cigaret či expozice jiným škodlivým inhalačním látkám. Dnes se doporučuje vyšetřovat nemocné i vyšších věkových kategorií, hladinu alfa-1 antitrypsinu se alespoň jednou doporučuje vyšetřit u každého pacienta se stanovenou diagnózou CHOPN. I když tyto pacienti na léčbu nedosáhnou, vyšetření může pomoci odhalit přenašeče špatné genetické informace, což může mít význam v dalším sledování potomků těchto jedinců. Predilekce emfyzému u nemocných s deficitem alfa-1 antitrypsinu bývá bazální.

Na základě svých zkušeností z klinické praxe jsem přesvědčena, že se na možnost deficitu alfa-1 antitrypsinu myslí málo a že nám mnoho takto nemocných uniká.

Otázkou zůstává, zda by bylo vhodné navyšovat počet center pro zlepšení dostupnosti pacientům, jelikož suplementace se provádí intravenózní infuzí jednou týdně. Odpověď na tuto otázku se jistě odvíjí od výše uvedeného a počtu léčených pacientů, či kapacity jednoho centra. Trendem budoucí péče o pacienty s CHOPN na podkladě deficiencie alfa-1 antitrypsinu by se mohla stát také domácí terapie, jež je známá z jiných oborů, a to v podobě domácí aplikace infuze za využití služeb agentur domácí péče, či aplikace infuze

samotným pacientem (tzv. „self-infusion“). Ty by mohly významně přispět k redukci návštěv pacienta v centru.

O problematice diagnostiky a léčby pacientů s CHOPN s prokázanou deficiencí alfa-1 antitrypsinu je možné se více dozvědět také v kurzu na výukovém portálu EUNI.cz (www.euni.cz) po bezplatné registraci.

LITERATURA

1. Chapman KR, Burdon JG, Piitulainen E et al. Intravenous augmentation treatment and lung density in severe α 1 antitrypsin deficiency (RAPID): a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2015; 386(9991):360–368.
2. Chlumský J. Nové možnosti léčby CHOPN na podkladě deficitu alfa-1 antitrypsinu. *Acta medicae* 2016; 5:44–46.

Pokyny autorům

Zásady vztahu mezi autory a redakcí:

Redakce přijímá příspěvky v češtině, ve slovenštině nebo v angličtině, které odpovídají odbornému profilu časopisu. Zasláný příspěvek musí být určen výhradně pro publikaci v časopisu *Studia Pneumologica et Phthiseologica* a musí být doplněn prohlášením, že nebyl a nebude zadán k uveřejnění v jiném časopise. Uveřejněná práce se stává majetkem časopisu a přetisknout její část přesahující rozsah abstraktu lze jen se souhlasem vydavatele. Zároveň musí být imprimován všemi autory, kteří svým podpisem stvrdí, že souhlasí s údaji v rukopise, s jejich rozbořem a závěry. Redakce netrvá na „imprimatur“ přednosti pracoviště autora (autorů). Na konci rukopisu uveďte celá jména, vědecké hodnosti a tituly všech autorů a adresy jejich pracovišť. Hlavní autor uvede navíc číslo telefonu, faxu, rodné číslo, a pokud je možné i e-mailovou adresu.

Nebude-li článek přijat, budou všechny zasláné materiály vráceny na adresu hlavního autora. Bude-li přijat, zůstanou všechny materiály v redakci, vráceny budou jen na vyzádnání autorů.

Jestliže je zasláný text dílem více autorů, bude redakce komunikovat jen s jedním z nich (zpravidla prvním uvedeným). Tento autor pošle redakci čestné prohlášení, že zastupuje celý autorský kolektiv a má plnou moc jednat jeho jménem. Autorské výstisky se posílají hlavně autorovi.

Práce je po stránce obsahové a formální posuzována jedním či dvěma recenzenty a podle jejich posudku rozhodne redakční rada o přijetí či odmítnutí textu. O výsledku bude autor vyrozuměn písemně. Podle připomínek recenzentů může být práce vrácena autorům na doplnění, na drobné či větší úpravy či na přepracování. Redakce si vyhrazuje právo provádět drobné stylistické úpravy textu a upravovat pravopis podle progresivní verze (v případě zkrácení rukopisu bude vyzádnán autorův souhlas). U přehledných článků, původních prací a krátkých sdělení zašle redakce již vyzašovaný text autorovi k poslední korektuře. Neodpoví-li autor do stanovené lhůty (obvykle do 7 dnů), bude text považován za schválený.

Z důvodů právní ochrany nelze příspěvky, zejména titulní stranu s prohlášením autorů, zasílat redakci pouze elektronickou poštou ani jinými elektronickými prostředky pro přenos dat. Při jakémkoli právním řízení se lze odvolávat jen na originály na papíru.

Formální náležitosti příspěvků:

Rukopis zasílejte na adresu redakce spolu s CD nebo je možné text zaslat redakci elektronicky. Přílohy (diapozitivy, fotografie, obrázky) stačí poslat v jediném provedení, které musí být reprodukovatelné. Texty je nutné zasílat pouze ve formátu MS Word. Při psaní rukopisu na počítači je třeba psát řádky plynule (tzv. „nekonečný řádek“), tzn. klávesu ENTER stisknout pouze na konci každého odstavce. Rozlišujte znaky I (malé I) a 1 (jedna), O (velké O) a 0 (nula).

Pro míry, váhy a další fyzikální a chemické veličiny je nutné užívat SI normu. Pouze hodnoty pulzové a dechové frekvence, krevního tlaku a teploty je možné uvádět v jednotkách obvyklých v praxi.

Použije-li autor v textu zkratky, musí být příslušné výrazy poprvé použity v plném znění a následovány zkratkou uvedenou v závorce. Obsahuje-li text zkratek více, je alternativní možností připojit seznam použitých zkratek jako zvláštní přílohu.

Rukopis musí mít tyto náležitosti:

1. Vlastní text.
2. Souhrn s názvem práce, 3–6 klíčovými slovy, jména autorů, názvy a adresami pracovišť autorů.
3. Seznam literatury.
4. Dokumentaci (grafy, tabulky, obrázky, schémata) v provedení použitelném pro tisk.
5. Texty k dokumentaci.

Souhrn je v současné době důležitou součástí sdělení, je obvykle jedinou informací o obsahu práce, která se ukládá do elektronických databází. Proto je třeba, aby byl při zachované stručnosti co nejvíce informativní. Originální práce mají být členěny do následujících kapitol:

Úvod – Materiál a metodika – Výsledky – Diskuze – Závěr.

Práci je možno doplnit tabulkami a obrazovou dokumentací ve formě grafů, schémat, vzorců a černobílých obrázků, případně černobílých diapozitivů nebo fotografií. Barevné fotografie budou v časopise uveřejněny v černobílém provedení. Případná publikace barevných obrázků nebo fotografií bude možná jen výjimečně, po individuální domluvě s redakcí.

Přílohy připojte volně na konec rukopisu, každou zvlášť, v pořadí podle odkazů v textu (znovu upozorňujeme: tabulky, schémata a grafy nekládejte do textu!). Všechny přílohy je třeba na zadní straně označit pořadovým číslem, jménem prvního autora a názvem práce (stačí zkráceným).

Titulní strana všech typů příspěvků s výjimkou dopisů redakci obsahuje název práce, jména autorů a jejich imprimatur. Název práce musí být stručný a výstižný, bez použití zkratek. Jména autorů budou uvedena včetně titulů a vědeckých hodností i doplněna názvy jejich pracovišť.

Literatura může být uvedena buď podle pořadí, v němž je poprvé citována v textu, nebo v abecedním pořadí podle jmen prvních autorů. Jednotlivé položky budou očíslovány, odkazy budou v textu vyznačeny pomocí příslušných čísel uvedených v hranatých závorkách.

Formální úprava seznamu literatury se řídí normou obvyklou v kvalitních odborných časopisech.

Obecně se uvádějí příjmení a zkratky jmen prvních čtyř autorů; je-li autorů pět a více, uvádí se jen první tři a zkratka „et al.“. Užívá se plné formy citací: příjmení a zkratky křestních jmen autorů, plný název citované práce, event. podnázev práce v jazyce originálu, název časopisu uznanou zkratkou, popř. v plném znění, ročník, rok vydání, číslo svazku a stránkový rozsah. Inicialy prvních jmen autorů a zkratky názvu časopisu se píšou bez teček, za znaky oddělovacími rok vydání, ročník a stránky se píše čárka, středník a dělá mezeru.

Příklady:

1. Gelb AF, Zamel N. Lung recoil and density dependence of maximum expiratory flow in emphysema. *Bull Eur Physiopathol respir* 1981; 17: 793–798.
2. Hyatt RE, Mead J, Rodarte JR, Wilson TA. Changes in lung mechanics. Flow-volume relationships. In: Macklem PT, Permutt S, Eds. *The lung in transition between health and disease*. New York, Dekker, 1979; pp 73–112.

Redakce přijímá texty podle následujících kategorií:

- **Původní sdělení** (Original articles): Obvykle jde o výsledky retrospektivních či prospektivních klinických studií nebo studií laboratorních. Patří sem i metodické práce. Při hodnocení těchto textů klade redakce důraz na vhodnost použitých metod, správnost interpretace získaných výsledků (včetně statistického zpracování) a srozumitelnost. Počet tabulek, grafů a schémat musí být přiměřený rozsahu a významu sdělení (obvykle nepřestoupí deset). Rozsah: 7–10 stran, maximálně 20 literárních citací.
- **Přehledné články** (Reviews): Podávají souborný výklad určité problematiky. Při hodnocení se posuzuje zejména vyváženost a srozumitelnost textu, objektivita a aktuálnost zpracování. Optimální počet citací je 25–35, minimálně třetina by měla pocházet z doby posledních 5 let. Maximálně 15 stran textu.
- **Krátká sdělení** (Short communications): Jsou to zprávy z praxe, klinické i laboratorní. Může se jednat o kazuistické sdělení, informace o zajímavých pozorováních nebo i anotace výzkumných úkolů. Sdělení tohoto typu mají omezený rozsah (do 6 stran normovaného textu včetně souhrnu a literatury) a procházejí jen omezenou recenzí.
- **Dopisy redakci** (Letters to the editor): Znamenají polemiku na stránkách časopisu. Obvykle se jedná o reakce na dříve otištěné články, podle okolností se k nim připojuje odpověď autora původního sdělení nebo komentář redakce.
- **Zprávy** (Reports): U recenzí knih a společenských zpráv předpokládáme délku 1 normostrany. Zprávy ze sjezdů a konferencí se svým charakterem a redakčním zpracováním podobají krátkým sdělením. Žádáme uceleně prezentované informace, zabývající se pokud možno jednou problematikou. Výchozími akcemi mohou být monotematicky zaměřené sjezdy, ale i zajímavá symposia nebo workshopy.

Etické aspekty:

Sdělení (psaný text, tabulky ani obrazová část) nesmí porušit anonymitu pacienta. Neuvádějte proto v textu jména ani inicialy nemocných, nemocniční a protokolová čísla apod. Pokud se jedná o výsledky klinické studie, je nutno redakci zaslat ještě čestné prohlášení, že studie proběhla podle zásad správné klinické praxe; toto prohlášení musí být opatřeno datem a podpisem hlavního autora. Analogické čestné prohlášení je třeba připojit i v případě pokusů na zvířatech. Text rukopisu nesmí obsahovat skrytou reklamu.

Příspěvky zasílejte na adresu:

Redakce časopisu
Studia Pneumologica et Phthiseologica
 TRIOS, s. r. o.
 Zakouřilova 142, 149 00 Praha 4-Chodov
 tel.: 267 912 030, fax: 267 915 563