

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Lékařská fakulta



MUDr. Markéta Pospíšková

Prognostické a prediktivní faktory u vybraných nádorových
onemocnění- karcinom děložního hrdla

Disertační práce

Doktorský studijní program: Onkologie

Školitel: prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.

Olomouc 2021

PALACKÝ UNIVERZITY OLOMOUČ

Faculty of Medicine



Markéta Pospíšková, M.D.

Prognostic and predictive factors in selected cancers – cervical
cancer

Doctoral Thesis

Doctoral Study Programme in Clinical Oncology

Supervisor: prof. Bohuslav Melichar M.D., Ph.D.

Olomouc 2021

Prohlášení

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k zařazení své práce do Lékařské knihovny Lékařské fakulty UP v Olomouci, kde může být užívána ke studijním účelům za předpokladu, že v případě použití pro publikační či přednáškové účely bude tento zdroj řádně citován.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze své práce v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne 1.9.2021

MUDr. Markéta Pospíšková

Tato studie byla podporována projektem IGA-LF-2020-005 Univerzity Palackého.

Poděkování:

Na prvním místě bych chtěla poděkovat prof. MUDr. Bohuslavu Melicharovi, Ph.D., mému školiteli, za neuvěřitelnou trpělivost a podporu při realizaci tohoto projektu, hlavně v době „covidové“, kdy měl určitě plno jiných povinností.

Děkuji všem, kteří mně pomohli s realizací této práce, laboratoři LEM, Mgr. Ondřeji Strouhalovi za úžasnou práci při zpracování vzorků na vyšetření na kynurenin a tryptofan, a dále kolektivu biochemie FN Olomouc za pomoc při stanovování neopterinu a citrulinu. Děkuji naší staniční sestře Bc. Svatavě Večerkové za odběry vzorků a v neposlední řadě pacientům, za účast ve studii.

A samozřejmě všem ve svém okolí, kteří to se mnou ve finále vydrželi.

Cíl disertační práce:

Karcinom čípku děložního je přes pokrok v onkologii ve vyšších stádiích stále nevyлéčitelným onemocněním. Je snaha o stanovení dalších prediktivních a prognostických markerů, které by nejen lépe rozdělily pacientky do prognostických skupin, ale které by také pomohly v predikci možných vedlejších účinků, či efektu léčby.

V práci byly vytyčeny 2 primární cíle:

Vyhodnotit vztah hladiny citrulinu a gastrointestinální toxicity (postižení střevní sliznice) způsobené chemoradioterapií.

Sledovat sérové koncentrace neopterinu, tryptofanu a kynureninu a vyhodnotit jejich změny a korelace v průběhu léčby

Obsah

Teoretická část

1. Karcinom čípku děložního - obecná část

1.1 Epidemiologie

1.2 Rizikové faktory

1.3 Prognostické faktory

1.4 Prevence a screening

1.5 Diagnostika

1.6 Staging

1.7 Histologické typy

1.8 Léčebné možnosti

1.8.1 Chirurgická léčba

1.8.2 Radioterapie , brachyterapie

1.8.3 Systémová léčba

1.8.4 Terapie dle stádií

1.9 Dispenzarizace

2.0 Gastrointestinální toxicita chemoradioterapie karcinomu čípku, význam citrulinu

2.1 Citrulin jako možný prediktor gastrointestinální toxicity.

3.0 Neopterin, kynurenin a tryptofan jako prognostické a prediktivní faktory- východisko dizertační práce

3.1 Neopterin

3.2 Tryptofan, Kynurenin a IDO1

Praktická část

4. Východiska dizertační práce
5. Cíle dizertační práce
6. Soubor pacientů a použitá metodika
7. Výsledky
8. Diskuze
9. Závěr
10. Tabulky
11. Seznam obrázků
12. Seznam zkratk
13. Seznam použité literatury
14. Seznam publikací autora

1. Karcinom čípku děložního - obecná část

1.1 Epidemiologie

Rakovina děložního čípku je celosvětově čtvrtou nejčastější rakovinou postihující ženy (1). V zemích s nízkými příjmy je častější a zaujímá dokonce druhé místo v incidenci u žen a třetí místo v mortalitě. Většina nových případů a úmrtí se vyskytuje v socioekonomicky slabších oblastech (Obr.1).

V České republice je ročně diagnostikováno kolem 900 nových případů a kolem 300 žen na tento nádor ročně zemře. Incidence je i přes screeningové programy a možnost vakcinace stále vysoká (13/100000), i když v posledních deseti letech dochází k jejímu poklesu (Obr.2). V roce 2008 byla 19 /100000 a v roce 2018 jen 13.6/100000 (2).

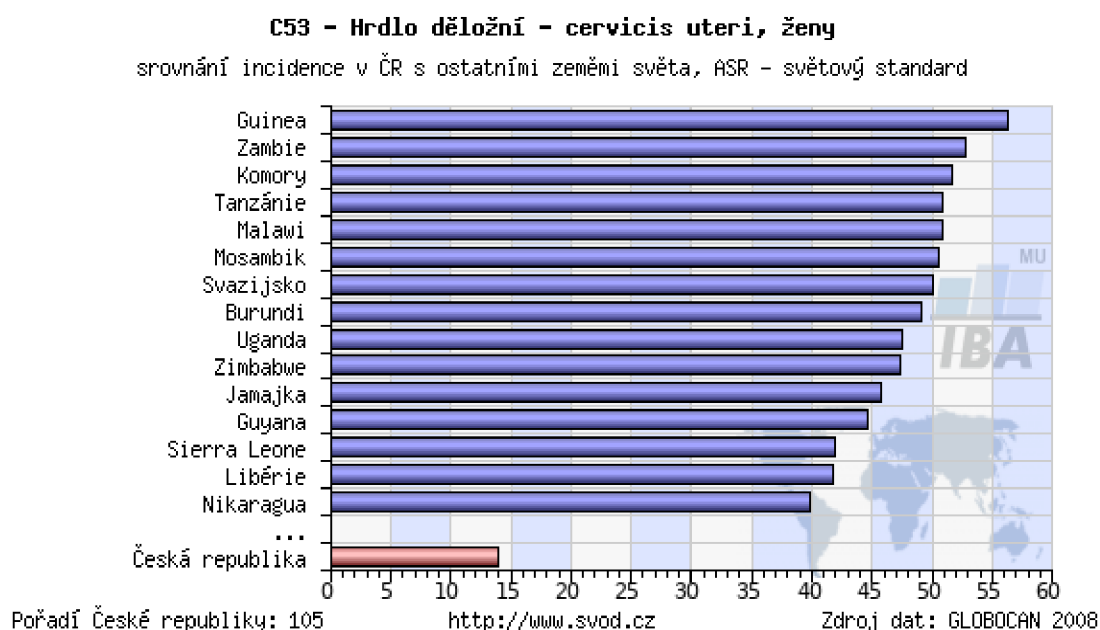
Prognóza onemocnění v časném stádiu je velmi dobrá, s pokročilostí choroby se ale výrazně zhoršuje (Tab.1) (3). 40% pacientek je diagnostikováno ve stádiu I, ale bohužel část pacientek přichází s pokročilými tumory a až kolem 8-17% pacientek má vzdálené metastázy (Obr.3,4).

Nejvyšší incidence spadá do věkové skupiny 40-44 let (Obr.4).

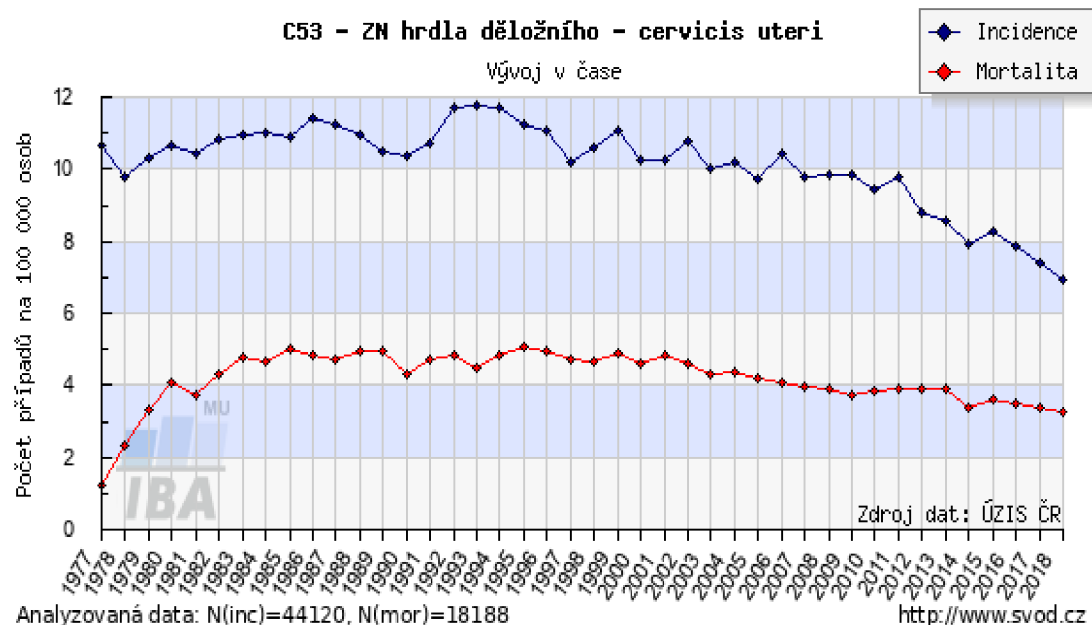
Regionálně je nejvyšší výskyt v Karlovarském a Ústeckém kraji a v Praze (Obr.5).

Obr. 1: Srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi.

Graf zobrazuje srovnání incidence C 53 v jednotlivých zemích



Obr. 2: Časový vývoj hrubé incidence karcinomu děložního čípku
Graf zobrazuje časový vývoj hrubé incidence (počet nových případů na 100 000 osob).

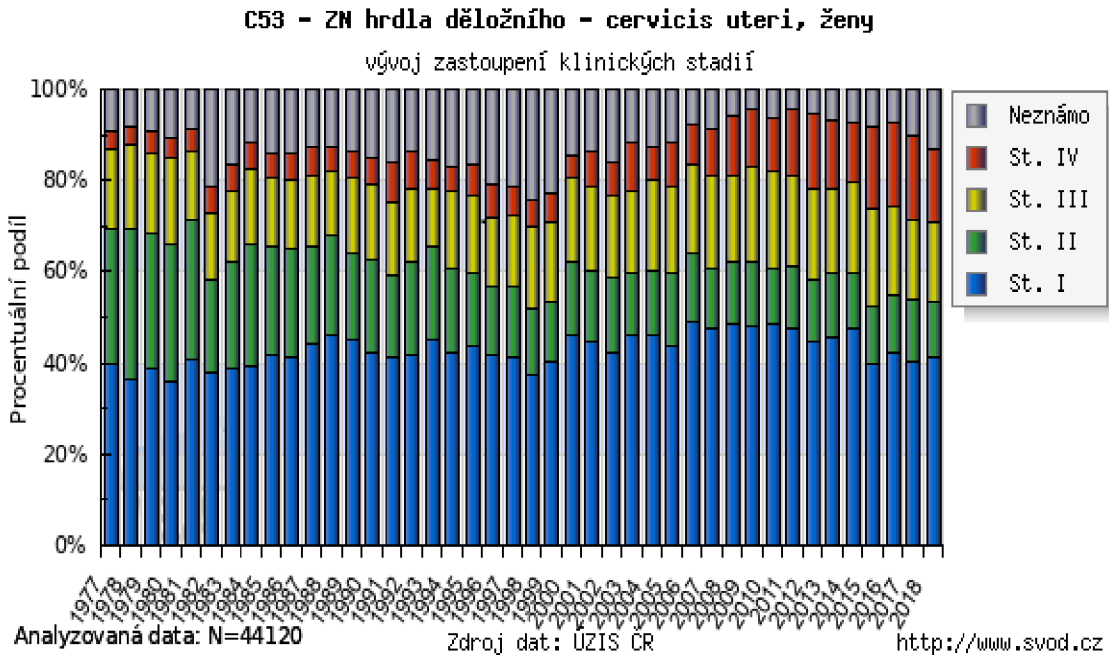


Tab.1 prognóza pětiletého přežití u karcinomu děložního hrdla podle jednotlivých stádií (DiSaia,2007)

Stadium	% patientek přežívajících pětiletý interval
IA	98-99
IB	87-90
IIA	62-83
IIB	62-68
III	33-48
IV	14

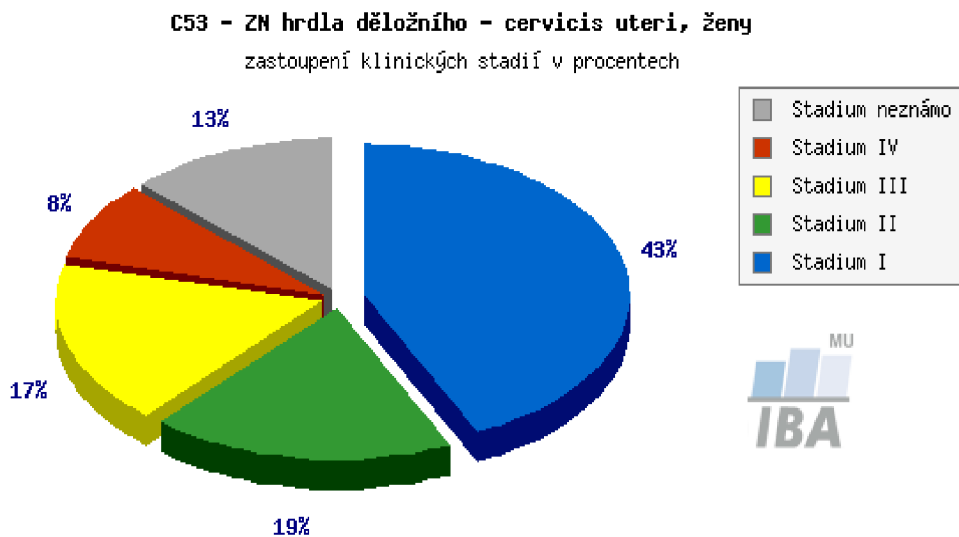
Obr. 3: Zastoupení klinických stádií v čase

Graf zobrazuje časový vývoj % zastoupení klinických stádií. Klinická stádia jsou určována na základě TNM klasifikace v době stanovení diagnózy pacienta



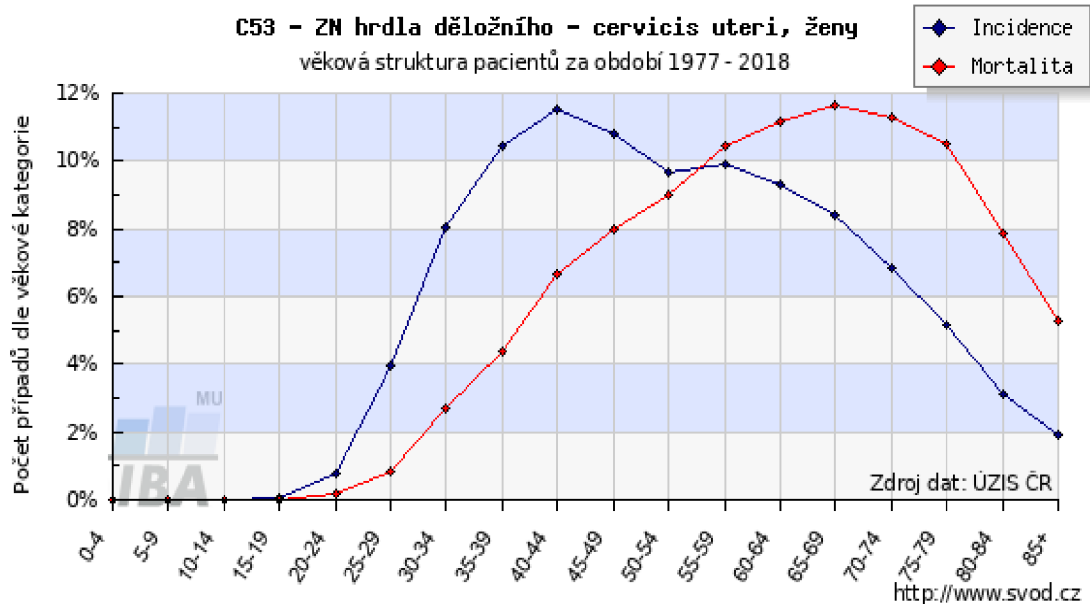
Obr. 4: Zastoupení klinických stádií

Graf zobrazuje zastoupení klinických stádií



Obr. 5: Věková struktura pacientů

Graf zobrazuje věkovou strukturu pacientů s karcinomem děložního čípku a zemřelých na tuto diagnózu



1.2 Rizikové faktory

Rizikové faktory karcinomu čípku jsou poměrně dobře známy. Většina faktorů souvisí se sexuálním chováním ženy.

Nejdůležitějším rizikovým faktorem je perzistující infekce rizikovými typy papilomavirů (HR HPV). Jedná se o faktor etiopatogenetický. Po zahájení sexuálního života se HPV virem do dvou let nakazí až 60 % lidí, do pěti let dokonce 80 %. Většina žen prodělá infekci, aniž by si něčeho všimla. Infekce je totiž velmi nenápadná, navíc během 6 až 12 měsíců často sama odezní. Během sexuálního života se proces nákazy a vymizení viru několikrát opakuje.

Až 94% karcinomů děložního čípku je HR HPV pozitivních. Ze dvou třetin se jedná hlavně o HR typy 16 a 18, ve 20% pak typy 31,33,45,52 a 58.(4). Hlavní roli v efektu HPV hrají onkoproteiny genů E6 a E7. Ty jsou schopny inaktivovat proteiny supresorových genů pRb a p53 a tím dochází ke ztrátě jejich antiproliferační funkce(5,6).

Rizikové faktory:

- Časné koitarche (zahájením sexuálního života před 16 rokem věku)
- Větší počet sexuálních partnerů (10 a více partnerů zvyšuje riziko 2-3x)
- Multiparita – i když tady signifikantně vyšší riziko lze prokázat až od 3 a více porodů
- Nízký socioekonomický status
- Nízký věk prvního porodu (souvisí s vzorcem sexuálního chování)
- Imunodeficit (imunopresiva, kortikoidy, HIV – byla doložena akcelerace vývoje karcinomu z prekarcenóz)
- Další STD infekce
- Rizikový (promiskuitní) partner – více partnerek, anamnéza sexuálně přenosné choroby
- Dieta s nedostatkem folátů, betakarotenu a vitamínu c
- Kouření – včetně pasivního, jedná se o nezávislý rizikový faktor, alteruje lokální imunitu (týká se hlavně spinocellulárního karcinomu, RR 3)
- Rodinná zátěž (RR 2-3 při postižení matky či sestry)
- Hormonální antikoncepce (7) působí jen při současném vlivu dalších faktorů, zejména při HR HPV pozitivitě, stimulační vliv estradiolu na transkripci mRNA HPV viru a imunopresivní vliv gestagenu zvyšují riziko perzistence HPV infekce, u uživatelék nad 10 let je RR 2,5, za 10 let po vysazení se riziko vrací k normě, riziko je vyšší u adenokarcinomu
- Některé alely a holotypy HLA systému
- Absence cytologického screeningu

1.3 Prognostické faktory:

Dle doporučení ESGO/ESTRO a OESP z roku 2018 (8)

1: TNM a FIGO stádium, zahrnující maximální velikost nádoru a detailní popis extracervikální extenze a postižení lymfatických uzlin (počet, velikost lokalizace)

2: patologický typ tumoru

3: hloubka stromální cervikální invaze a šířka nepostiženého cervikálního stromatu

4: přítomnost či absence lymfovaskulární invaze (LVSI)

5: přítomnost či nepřítomnost vzdálených metastáz

Mimo klasické prognostické faktory se v poslední době objevují nové práce zabývající se stanovením nových prognostických faktorů – např. míra apoptózy, exprese Bax, BCL-2 a p 53, amplifikace onkogenu c myc, stanovení cévní density nádorů a další, které vypadají slibně, ale jejich dopad na léčbu zatím není jasný(9).

1.4 Prevence a screening:

Díky znalosti etiopatogeneze karcinomu čípku a dobrým anatomickým poměrům se karcinom čípku děložního řadí mezi nejlépe preventabilní karcinomy.

Primární prevence: základem očkování proti HPV a dále dodržování zásad bezpečného sexu a nekuřáctví.

Od 1. 4. 2012 Česká republika se řadí po bok vyspělých zemí světa, které zařadily HPV vakcinaci do plošného systému očkování v úhradovém systému. Očkovací programy běží prakticky v celé vyspělé Evropě. Očkování proti HPV je nejúčinnější u dívek, které ještě nezahájily sexuální život, díky čemuž se s virem ještě pravděpodobně nesetkaly. Ovšem existují i teorie, které říkají, že očkování je prospěšné i pro ženy do 45 let věku. Očkovat proti HPV je možné děti od 10 let věku, ale doporučeno je až kolem 13 roku věku. Vakcinace nezahrnuje ochranu proti všem typům HPV, ale chrání pouze před těmi typy HPV, které jsou uvedeny na přípravku.

Momentálně jsou dostupné 3 druhy vakcín - Gardasil 9 - Sedm typů je účinných přímo proti HPV, které vyvolávají karcinom děložního čípku, těmito typy jsou 16, 18, 31, 33, 45, 52 a 58. Ostatní dva typy HPV 6 a 11 způsobují vznik špičatých kondylomů (genitální bradavice). Druhá vakcína Silgard je účinná pouze proti dvěma typům lidského papillomaviru, a to typům 16 a 18. Cervarix, stejně jako Silgard, působí proti HPV typům 16 a 18.

Sekundární prevence: screening karcinomu čípku děložního

Probíhá v ČR od roku 2008. Jde o preventivní vyšetření žen, probíhající během každoroční preventivní kontroly gynekologem. Jeho součástí je kolposkopie, cytologické vyšetření a od roku 2021 HPV DNA test.

Rozvoj nádoru z prekanceróz trvá zhruba 3 roky, což je dost dlouhá doba na to, aby byla nemoc včas podchycena a залéčena. Ačkoliv jsou preventivní gynekologické

prohlídky plně hrazené zdravotními pojišťovnami, podstupuje je pouze kolem 40 % žen v reprodukčním věku (25 – 59 let)- data z roku 2008, v roce 2010 55% (10).

1.5 Diagnostika:

Základem diagnostiky karcinomu děložního čípku je komplexní gynekologické vyšetření s kolposkopií a bioptickou verifikací léze. U klinicky jasných lézí se používá punch biopsie - minibiopsie. U klinicky nejasných lézí s podezřením na mikroinvazivní karcinom pak LEEP (loop electrosurgical excision) eventuálně konizace.

Při získání pozitivního nálezu jsou indikovány další vyšetřovací metody.

Ultrazvukové vyšetření je nejdostupnější, ale pro jeho maximální využití je nutné mít dostatečné zkušenosti. Lze využít transvaginální a transrektální endoluminální sondu. Výhodou transrektální sondy je trojrozměrný obraz tumoru, možnost zhodnocení infiltrace parametrií, infiltrace pochvy, ale i močového měchýře či rekta, navíc při exofytickém nádoru nedochází ke krvácení. V NCCN standardech není ultrazvuk doporučen jako stagingové vyšetření, ale v doporučení ESGO/ESTRO z r 2018 je již na zvážení ultrazvukové vyšetření namísto MRI pokud je provádí zkušený sonografista. Je to na základě několika publikací, kde se potvrdila stejná efektivita UZ a MRI. V publikaci Epstein a kolektiv z roku 2013 dokonce shoda mezi histologií a UZ byla významně lepší při hodnocení reziduálního tumoru ($p < 0.001$) a invaze do parametrií ($p < 0.001$), než výsledky získané pomocí MRI.

Magnetická rezonance malé pánve (MRI) je mandatorním vyšetřením ve stagingu cervikálního karcinomu. Ve studiích je uváděna její přesnost ve stážování cervikálního karcinomu 81% pro šíření do parametrií s 69% senzitivitou a 80% specifitou.

Počítačová tomografie (CT) je ve stagingu využívána spíše k zjištění vzdálených metastáz, než určení invaze tumoru. V literatuře se uvádí přesnost CT v hodnocení parametriální invaze 62% se senzitivitou 63% a specifitou 62%(11).

A v dnešní době klesá také jeho využití ke zjištění generalizace a je stále častěji nahrazován pozitronovou emisní tomografií (PETCT), eventuálně pozitronovou emisní magnetickou rezonancí.

PETCT je stále častěji využíváno ke stagingu cervikální karcinomu. Je to na základě několika prací, které prokázaly významnou senzitivitu i specifickost pro diagnostiku postižení lymfatických uzlin. Pro uzliny malé pánve 79% a 99%, pro paraortální lymfatika 84% a 95% a pro nadklíčkové uzliny byla popsána dokonce 100% specifickost (7,12).

Rektoskopie a cystoskopie - dle doporučení FIGO 2000 patří mezi standardní obligatorní vyšetření. Dle ESGO/ESTRO guidelines nemusí být tato vyšetření provedena, ale mohou být zvažena k provedení biopsie při podezření na prorůstání do rekta či močového měchýře dle MRI či UZ.

1.6 Staging:

TNM /FIGO(13)

T - primární nádor

TX	primární nádor nelze hodnotit
T0	bez známek primárního nádoru
Tis	karcinom in situ (preinvazivní karcinom)
T1 ¹	nádor omezen na hrdlo (šíření na tělo děložní by nemělo být zohledněno) FIGO I
T1a	invazivní karcinom diagnostikovaný pouze mikroskopicky FIGO IA
T1a1	stromální invaze ≤ 3 mm do hloubky a horizontální šíření ≤ 7 mm FIGO IA1
T1a2	stromální invaze 3-5 mm do hloubky a horizontální šíření ≤ 7 mm FIGO IA2
T1b	klinicky zřetelná léze nebo mikroskopická léze větší než T1a2 FIGO IB
T1b1	klinicky zřetelná léze 4 cm nebo méně v největším rozměru FIGO IB1
T1b2	klinicky zřetelná léze větší než 4 cm v největším rozměru FIGO IB2

T2	šíření mimo dělohu, ale ne ke stěně pánevní a ne do dolní třetiny pochvy FIGO II
T2a	nádor bez šíření do parametria FIGO IIA
T2a1	klinicky zřetelná léze ne větší než 4 cm FIGO IIA1
T2a2	klinicky zřetelná léze větší než 4 cm FIGO IIA2
T2b	nádor se šířením do parametrií FIGO IIB
T3	nádor se šíří ke stěně pánevní a/nebo se šíří na dolní třetinu pochvy a/nebo způsobuje hydronefrózu či afunkci ledviny FIGO III
T3a	nádor postihuje dolní třetinu pochvy, bez šíření ke stěně pánevní FIGO IIIA
T3b	nádor se šíří ke stěně pánevní a/nebo způsobuje hydronefrózu či afunkci FIGO IIIB
T4 ^{2 3}	nádor postihuje sliznici měchýře nebo rekta a/nebo se šíří mimo malou pánev FIGO IVA

Pozn. 1) Všechny makroskopicky viditelné léze, byť jen s povrchovou invazí, jsou T1b/IB. 2) Bulózní edém sliznice močového měchýře nepostačuje ke klasifikaci nádoru jako T4. 3) Podle FIGO by mělo být postižení sliznice močového měchýře či rekta biopticky ověřeno

N – Regionální mízní uzliny

Regionálními mízními uzlinami jsou uzliny paracervikální, parametriální, hypogastrické (vnitřní ilické, obturatorní), společné a zevní ilické, presakrální a laterální sakrální uzliny. Uzliny paraaortální a inguinální nejsou regionální.

NX	regionální mízní uzliny nelze zhodnotit
N0	regionální mízní uzliny bez metastáz

N1	metastázy v regionálních mízních uzlinách

M – Vzdálené metastázy

MX	vzdálené metastázy nelze hodnotit
M0	nejsou vzdálené metastázy
M1	přítomnost vzdálených metastáz (včetně uzlin paraaortálních, inguinálních) FIGO IVB Vyloučeny jsou metastázy pochvy, pánevní serózy a adnex.

pTNM patologické klasifikace Kategorie pT, pN, pM odpovídají kategoriím T, N, M pN – Histologické vyšetření vzorků z pánevní lymfadenektomie má zahrnovat 10 a více mízních uzlin. Jsou-li mízní uzliny negativní, ale nebylo dosaženo standardně vyšetřovaného počtu, klasifikuje se jako pN0. (FIGO považuje tyto případy za pNX)

1.7 Histologické typy

Tabulka 2. Histologická klasifikace epitelových a smíšených epitelových a mezenchymálních nádorů děložního hrdla (WHO 2014)(14)

	Histologický typ		M kód
Dlaždicobuněčné karcinomy a prekurzorové léze	Skvamózní intraepiteliální léze (SIL)	Low-grade SIL	8077/0
		High-grade SIL	8077/2
	Dlaždicobuněčný NOS		8070/3
	Rohovějící		8071/3
	Nerohovějící		8072/3

	Papilární		8052/3
	Basalioidní		8083/3
	Warty		8051/3
	Skvamotranzionální		8120/3
	Lymfoepitelioma-like		8082/3
Adenokarcinomy prekurzorové léze	a Adenokarcinoma in situ		8140/2
	Endocervikální, obvyklý typ		8104/3
	Mucinózní karcinom	NOS	8480/3
		Gastrický	8482/3
		Intestinální	8144/3
		Z prstenčitých buněk	8490/3
	Viloglandulární		8263/3
	Endometroidní karcinom		8380/3
	Světlobuněčný karcinom		8310/3
	Serózní karcinom		8441/3
	Mezonefrický karcinom		9110/3
	Adenokarcinom smíšený s neuroendokrinním karcinomem		8574/3
Některé další epitelové nádory	Adenoskvamózní karcinom		8560/3
	Nediferencovaný karcinom		8020/3
Neuroendokrinní tumory	Low grade neuroendokrinní tumory	Karcinoid	8240/3
		Atypický karcinoid	8249/3
	High grade neuroendokrinní tumory	Malobuněčný neuroendokrinní karcinom	8041/3
		Velkobuněčný neuroendokrinní karcinom	8013/3

Smíšené epitelové a mezenchymové nádory	Adenomyom	8932/0
	Adenosarkom	8933/3
	Karcinosarkom	8980/3

1.7.1 Maligní epitelové nádory

Dlaždicobuněčné karcinomy: většina těchto nádorů je spojena s infekcí HR HPV. Dlaždicobuněčné karcinomy tvoří 60-80% všech nádorů cervixu. Většina nádorů vzniká v transformační zóně hrdla. Invazivní karcinom vzniká z prekurzorových lézí, tj. high grade cervikální intraepiteliální neoplazie (CIN2, CIN3, carcinoma in situ). Ze skupiny invazivních karcinomů je vyčleněna jednotka tzv. mikroinvazivního dlaždicobuněčného karcinomu, tj. karcinomu s časnou invazí (stromální invaze do 1mm), které nejlépe odpovídá pT1a1 bez invaze do lymfatických a krevních cév.

Podle WHO 2014 se dlaždicobuněčné karcinomy rozdělují do 8 subtypů se samostatným morfologickým kódem. Typizace nádorů má prognostický význam. Ze vzácnějších typů například verukózní a kondylomatózní karcinom mají dobrou prognózu. Naopak bazaloidní dlaždicobuněčný karcinom je agresivní nádor se špatnou prognózou. Výjimkou jsou některé vzácné typy, jako je „lymphoelithelioma-like“ SCC, jehož chování není vzhledem k limitovaným znalostem dobře známé

- rohovějící – typickým rysem je přítomnost keratinizace
- nerohovějící
- papilární
- bazaloidní
- „warty“ (kondylomatózní)
- verukózní
- skvamotranzicionální- podobný uroteliálnímu karcinomu
- „lymphoepithelioma-like“

Maligní nádory ze žlázoého epitelu :

Adenokarcinomy: nejčastějším typem je tzv. endocervikální adenokarcinom, obvyklý typ („usual type“). Stejně jako u dalždicobuněčných karcinomů je ve většině případů spojen s infekcí high-risk typu HPV. Méně časté typy adenokarcinomů zahrnují endometroidní karcinom, mezonefrický karcinom, světlobuněčný karcinom, mucinózní karcinom (NOS, gastrický, intestinální, z prstenčitých buněk), serózní karcinom – tyto nádory nejsou obvykle spojeny s HPV infekcí a některé mají agresivní chování i v časných stádiích (např. gastrický typ mucinózního karcinomu).

Serózní karcinomy jsou velmi vzácné. Většina nádorů označovaných jako primární serózní karcinomy spíše představují šíření nebo metastázy z děložního těla či extrauterinních oblastí, event. obvyklý typ adenokarcinomu, související s HPV infekcí, s papilární úpravou, deplecí hlenu a výraznými jadernými atypiami.

Endometroidní karcinomy tvoří 30% endocervikálních karcinomů. Důležité je jejich rozlišení od nádoru prorůstajícího z těla děložního, což může být v některých případech obtížné.

Neuroendokrinní karcinomy (malobuněčný a velkobuněčný karcinom) jsou vzácné, ale mohou se vyskytnout v čisté formě nebo smíšené s jiným typem karcinomu. V případě smíšených nádorů se uvádí rozsah neuroendokrinní komponenty. Bez ohledu na její rozsah je doporučeno tyto nádory klasifikovat jako smíšené, protože i v případě úplně minoritní složky mají velmi špatnou prognózu. Malobuněčné karcinomy je doporučeno označovat jako „malobuněčné neuroendokrinní karcinomy“, k vyloučení záměny s malobuněčnou variantou SCC.

Adenoskvamózní karcinom

Podle WHO klasifikace 2014 se jedná z definice o maligní epitelový nádor s maligní komponentou charakteru adenokarcinomu i SC, která má být identifikovatelná z barvení imunohistochemií. Adenoskvamózní karcinom by také měl být odlišen od současného výskytu SCC a adenokarcinomu, u něž jsou komponenty nádoru oddělené, nikoliv vzájemně komplexně prolnuté.

1.7.2 Maligní mezenchymální nádory

Jsou v oblasti hrdla velmi vzácné, nejčastější je leiomyosarkom. Dále se může vyskytnout embryonální rybdomyosarkom, endometriální stromální sarkom a nediferencovaný endocervikální sarkom.

1.7.3 Léčebná strategie

V léčbě karcinomu cervixu se využívají tři hlavní modalitty, a to je chirurgie, radioterapie a systémová léčba. Léčebná strategie by měla být stanovena multidisciplinárním týmem na podkladě rozsahu tumoru, komorbidit a celkového stavu pacientky, a hlavně na základě jejího přání.

1.8.1 Chirurgická léčba (7,15)

Chirurgická léčba je hlavní volbou u časných stádií nemoci. Její radikalita závisí na rozsahu postižení a snahy o zachování fertility.

1.8.1.1 Konizace je současně diagnostickým a terapeutickým výkonem, jehož cílem je odstranění celé tumorózní léze s minimálně 5 mm bezpečnostním lemem. Provádí se pomocí vysokofrekvenčních elektrochirurgických nástrojů (LEEP).

1.8.1.2 Prostá trachelektomie – jedná se o odstranění téměř celého děložního hrdla. Jde tedy o amputaci děložního hrdla.

1.8.1.3 Trachelektomie radikální – zahrnuje oproti prosté trachelektomii odstranění kraniální části pochvy a parametrií. Rozsah závisí na velikosti tumoru. Provádí se u pacientek s přáním zachování fertility. Nezbytné je zachování dostatečného lemu zdravé tkáně. Operaci je možno provést vaginálním nebo adominálním přístupem, eventuálně laparoskopicky či roboticky. Trachelektomie by měla být doplněna systematickou lymfadenektomií.

1.8.1.4 Prostá hysterektomie - jedná se o odstranění celé dělohy. Je alternativou konizace a trachelektomie u pacientek, které neplánují graviditu. Výkon může být opět vaginální, abdominální, laparoskopický.

1.8.1.5 Radikální hysterektomie – rozděluje se na 4 základní typy podle stupně rozsahu resekce parametrií a proximální pochvy (16).

Typ A – extrafasciální hysterektomie – odstranění dělohy včetně pericervikální tkáně až po úpon poševních kleneb.

Typ B – zahrnuje resekci parametrií v rozsahu cca 2 cm u postranních a zadních parametrií. Hranicí resekce předních parametrií je průběh ureteru.

Typ C – resekce postranních a zadních parametrií na hranici pánevní stěny a předních parametrií u stěny močového měchýře.

Tato skupina se dále ještě rozčleňuje na podskupiny:

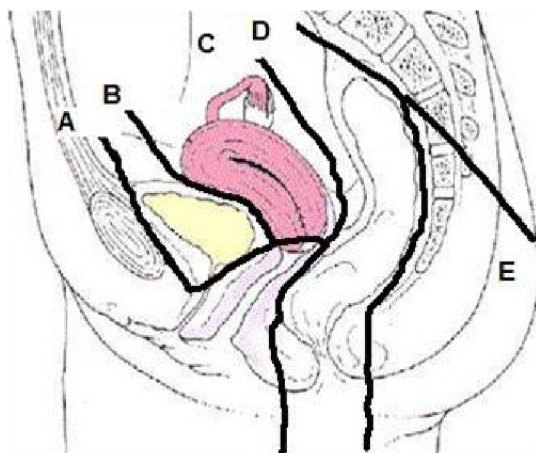
typ C1 – nerve-sparing modifikace – zachování autonomních nervových vláken

typ C2 – s větší radikalitou resekce a poškozením autonomního nervového systému pánve

Typ D – nejradikálnější výkon, je odstraněna i vnitřní ilická céva a artérie s jejich větvemi. Tento typ je indikován vzácně u lokálně pokročilých nádorů a u recidiv karcinomu děložního hrdla v pánvi.

1.8.1.6 Pánevní exenterace: nejčastější indikací je recidiva či progresse karcinomu čípku děložního po radioterapii. Indikace musí být pečlivě zvažována, protože sebou přináší četné komplikace obzvláště vzhledem k vysokým dávkám radioterapie používaným při kurativní terapii. Nejlépe je ji indikovat u centrálních lézí, které nejsou fixovány ke stěnám pánevním a nejsou spojeny s hydronefrózou, a dále u pacientek, které mají dlouhou dobu do relapsu (DFS) a u kterých je velikost recidivy menší než 3 cm. Mortalita tohoto výkonu je kolem 5-10%, morbidita 40-60%, ale přináší sebou 5 leté přežití kolem 50-60%(17-23). Exenterační výkon má 3 fáze: explorativní, ablativní a rekonstrukční. Rekonstrukční část výkonu zajišťuje rekonstrukci pánevního dna a derivaci moče (po odstranění močového měchýře) a stolice (po odstranění konečníku). Máme 4 typy exenteračních výkonů - přední, zadní, totální a supralevátorové (Obr.6)(24).

Obr. 6 – typy exenteračních výkonů



Přední pánevní exenterace přichází v úvahu nejčastěji u žen při léčbě pokročilého nádoru děložního čípku. Operace zahrnuje odstranění dělohy, vaječníků oboustranně, části pochvy a močového měchýře. Konečník zůstává zachován. Na obrázku rozsah resekce A-C.

Zadní pánevní exenterace přichází v úvahu u žen s primárním nebo recidivujícím karcinomem rekta, který v různém rozsahu prorůstá do okolí (do pochvy, resp. dělohy). Odstraňuje se konečník, děloha, vaječníky oboustranně a část pochvy. Močový měchýř je zachován, na obrázku rozsah resekce B-D.

Totální pánevní exenterace znamená odstranění všech orgánů malé pánve. Její součástí u mužů je konečník, močový měchýř s prostatou a semennými váčky. U žen se odstraňuje konečník, děloha, vaječníky oboustranně, pochva a močový měchýř. Na obrázku rozsah resekce A-D

Kompozitní totální pánevní exenterace znamená ještě resekci kostrče a/nebo sakra, na obrázku A-E

Supralevátorová pánevní exenterace přichází v úvahu u pokročilých nádorů vyšších částí konečníku rekta nebo tlustého střeva. Po odstranění zůstává dostatečně dlouhý pahýl konečníku s funkčním svěračem, který umožňuje střevní anastomózu. Odstraňuje se močový měchýř (25).

1.8.1.7 Systematická pánevní lymfadenektomie – jedná se odstranění spádových lymfatických uzlin, respektive lymfatické tkáně z povodí cév: presakrálních, společných ilických, zevních ilických, supra-infraobtrurátorových (hypogastrické) a parametriálních.

Význam odstranění lymfatických uzlin je prognostický (nádorová infiltrace uzlin je výrazným negativním prognostickým faktorem) a diagnostický (operační staging). V případě peroperačního prokázání metastatického postižení pánevních uzlin je možno rozsah lymfadenektomie rozšířit o paraaortální lymfadenektomii (důležité pro upřesnění stagingu pro plánování adjuvantní radioterapie). Navíc odstranění postižených lymfatických uzlin umožňuje ozáření těchto oblastí nižší dávkou. V chirurgickém stagingu, kterým se řídí TNM klasifikace, je pro kategorii N0 třeba minimální zisk 10 lymfatických uzlin. Tento počet byl stanoven s ohledem na rozvojové země. Pokud není provedena detekce sentinelové uzliny ve standardním chirurgickém postupu, odpovídá

zisk do 20 uzlin samplingu. Při systematicky provedené pánevní lymfadenektomii je za adekvátní považován zisk více než 20 lymfatických uzlin (26).

1.8.1.8 Sentinelová lymfatická uzlina (SLU) – u časných stádií je indikována identifikace SLU patentovou modří a radiokolidem technecia (Tc 99m) s její extirpací a vyšetření peroperačně. Její význam je prognostický a ovlivní další postup. Detekce může být provedena abdominální nebo laparoskopickou cestou. Pozitivita sentinelové uzliny má vést k indikaci radikální hysterektomie v rozsahu C2, nebo k ukončení operace a indikaci primární radikální chemoradioterapie nebo k stagingové operaci - lymfadenektomii v oblasti pánevní a paraaortální. Detekce sentinelové uzliny v současné době nenahrazuje provedení pánevní lymfadenektomie (27-30).

1.8.1.9 Transpozice adnex – adenexectomie není standardní součástí radikální operace v léčbě karcinomu děložního hrdla. Ženám ve fertilním věku by měla být nabídnuta možnost zachování adnex. V případě jejich ponechání se provádí transpozice, nejlépe do parakolických prostor. Je to z důvodu možných komplikací způsobených adhezemi v malé pánvi a dále kvůli jejich vysunutí mimo ozařované pole.

1.8.2 Radioterapie, brachyterapie a chemoradioterapie

Radioterapie je základní léčebnou modalitou v terapii karcinomu děložního čípku. Je vysoce efektivní. V časných stádiích jsou její výsledky srovnatelné s chirurgickou léčbou. Od stádia IIB je pak jedinou možnou kurativní léčbou. Radioterapie pokročilých nádorů je kombinována s brachyterapií a chemoterapií.

1.8.2.1 Zevní radioterapie

V dnešní době se k radioterapii využívají lineární urychlovače. Lineární urychlovače fungují na principu působení vysokofrekvenčních vysokoenergetických elektromagnetických vln na částice (elektrony) pohybující se na přímkové dráze. K léčbě se mohou použít dvojím způsobem: jako urychlené elektrony, nebo ve formě fotonového brzdného záření. Fotonové záření vzniká nárazem urychlených elektronů na terčík z těžkého materiálu, například wolframu. Homogenizaci a tvarování svazku zajišťuje kolimátor. Pomocí kolimátoru je svazek fotonového záření následně usměrněn na požadovaný tvar ozařovaného pole. První přístroje pracovaly pouze s jedinou možnou energií záření. Dnes je možné volit mezi několika energiemi, 4–18 MV pro fotony a 4–

20 MeV pro elektrony. To je výhodné zejména pro modulaci hloubkové distribuce dávky (31)

Konformní radioterapie neboli 3D – CRT je ozařovací technikou, při které jsou hranice tumoru v trojrozměrném zobrazení zároveň hranicemi cílového objemu. Velikost a tvar ozařované oblasti je přizpůsobena nepravidelnému tvaru nádorového ložiska. Základy k 3DCRT se objevily již v 60. letech 20. století, kdy byla vyvinuta rotační technika (32,33). Vznik konformní radioterapie umožnilo až zavedení CT přístrojů. V roce 1979 byla vytvořena nová možnost zobrazení, která umožnila pohled z perspektivy svazku záření (BEV) (34). Další vytvořené systémy plánování pak umožnily i možnost digitální rekonstrukce CT obrazu (DDR). Konformní radioterapie se ve větším měřítku do klinické praxe dostala až v osmdesátých a zejména devadesátých letech dvacátého století. 3D plánování přineslo proti plánování ve dvou rovinách mnoho výhod, hlavně umožnilo zmenšení ochranných lemů cílového objemu a dodání vyšší dávky do ložiska a tím zlepšení kontroly až o 20% (35-38)

IMRT – Intensity Modulated RadioTherapy- radioterapie s intenzitou svazku

Jedná se techniku, která umožňuje ozáření objemu s lepším rozložením dávky, se snížením ozáření okolních zdravých tkání a rychlejším spádem na okrajích ozářeného objemu. Je to díky tomu, že využívá na rozdíl od konformní radioterapie cíleně nehomogenní modulované svazky. Modulaci svazku lze vytvořit několika způsoby. Nejčastější je použití kompenzátoru z absorpčního materiálu nebo vícelistového kolimátoru (MLC). Pro výpočet se využívá inverzní plánování.

K IMRT se v praxi nejvíce využívají dvě statické techniky (s fixní polohou ramena ozařovače). První je metoda Step and Shoot což je metoda násobných segmentů. Dochází při ní k postupnému skládání několika statických segmentů vytvořených MLC, přičemž intenzita uvnitř každého segmentu je konstantní. Tvar segmentu, tedy pohyb více lamelového kolimátoru se mění vždy jen při vypnutém svazku záření. Dochází tedy buď jen k dodání dávky nebo k pohybu lamel MLC, nikdy nelze provádět obojí současně. Druhou metodou je technika s dynamickým kolimátorem (DMLC), dochází při ní ke kontinuálnímu pohybu MLC při aktivovaném svazku záření. Změna tvaru vymezeného MLC probíhá tedy bez nutnosti přerušování svazku záření.

V poslední době se do popředí dostává dynamická terapie. Jedná se o formu radioterapie IMRT (radioterapie s modulovanou intenzitou), kde se ale na fluenci svazku nepodílí jen lamely kolimátoru, ale přidává se modulovaný pohyb ramene (gantry)

urychlovače, modulace dávkového příkonu a u nejmodernějších přístrojů také dynamická změna polohy clon (jaw tracking). Dodání dávky probíhá za současného pohybu ramene. Jedná se o metodu VMAT (Volumetric Modulated Arc Therapy) – starší označení IMAT. S pomocí této techniky lze dosáhnout vysoce konformního prozáření cílového objemu (nádoru) a zároveň zajistit potřebný strmý spád dávky do okolí, aby bylo zajištěno maximální šetření zdravých tkání. Dalším přínosem je zkrácení doby potřebné pro ozáření a tím snížení nebezpečí pohybu pacienta (39).

IGRT(Image guide radiotherapy- obrazem řízená radioterapie)

Jedná se o další vylepšení radioterapie s cílem dosažení větší přesnosti léčby. Je to proces založený na srovnání obrazů získaných na lineárním urychlovači a obrazů získaných v průběhu přípravy radioterapie. Zaměřuje se na srovnání vnitřních struktur na rozdíl od klasického přístupu, kdy se přesnost polohy odvíjí od značek na kůži pacienta. Cílem je snížení nepřesností, způsobených pohybem orgánů (intra-fraction motion), ale hlavně redukce chyb v nastavení mezi frakcemi (inter-fraction motion). Chyby způsobené inter-fraction motion jsou eliminovány verifikací polohy před ozářením pomocí EPID (electronic portal imaging device), jedná se plošný detektor megavoltových (MV) fotonů z amorfního křemíku (nejčastěji), silikonu, selenu či jiného materiálu, který je umístěný proti hlavici přístroje. Provedený MV dvojrozměrný portálový snímek (dvě kolmé projekce), se srovná s DRR – digitálně rekonstruovaným rentgenogramem z CT plánovacích řezů. Z důvodu použití terapeutického megavoltážního záření je EPID snímek méně kontrastní než DRR. V dnešní době mají moderní přístroje kV rentgenku a flat panel detektor v úhlu 90° (resp. 270°) stupňů vůči ozařovací hlavici (XVI, OBI). Postup verifikace je v tomto případě shodný jako EPID, ale snímky jsou více kontrastní. Další možností využití kV je pořízení CT snímku kuželovitým svazkem neboli cone-beam CT (CBCT), které umožňuje získání CT obrazů na radioterapeutických zařízeních. Nasnímání obrazů probíhá zpravidla po dobu rotace gantry o 360°. Výsledkem je získání sady CT řezů a rekonstrukce 3D obrazu v oblasti zájmu a možném porovnání postavení vnitřních orgánů. Díky technice IGRT se daří opět zmenšit lem pro PTV.

1.8.2.2 Brachyterapie

Brachyterapie je metodou radioterapie, ale na rozdíl od zevní terapie je zdroj záření zaváděn přímo do nádoru nebo co nejbliže k nádoru. Jedná se o ozařování na krátkou

vzdálenost (brachys). Výhodou brachyterapie je vysoká dávka záření v oblasti aplikátorů. Díky nehomogenitě dávky s maximem v okolí radionuklidového zářiče (URZ), máme možnost do této oblasti aplikovat vyšší dávku, která vede k lepší lokální kontrole, a navíc díky rychlému poklesu dávky, vztažené ke vzdálenosti od zářiče, dosáhneme většího šetření okolních zdravých tkání. Navíc jsou účinné dávky záření, aplikovány v kratším časovém intervalu, než při frakcionované radioterapii, což vede ke snížení repopulace nádorových buněk(40).

Brachyterapie se začala pomalu využívat krátce po tom, co Marie Curie Sklodovská objevila v roce 1898 radium. K léčbě bylo radium použito v roce 1899 při léčbě karcinomu kůže nosu. Postupně byly vyvinuty i intersticiální techniky a v r 1903 se objevují i pokusy o první afterloading.

Zdroje záření v brachyterapii:

Mezi nejčastěji používané zdroje záření v brachyterapii patří (41):

Iridium-192: poločas rozpadu 73,83 dne a emituje gama záření o průměrné energii 0,38 MeV. Vyžaduje méně stínění, iridiové zdroje jsou vhodně pro použití v afterloadingových přístrojích ve formě zrn vel 3-6 mm

Radium-226: poločas rozpadu je 1620 let. Jedná se o zářič alfa o energii 0,18 mega elektronvoltů (MeV). Vzhledem k poločasu rozpadu není nutné měnit zdroj, bohužel hlavní nevýhodou je, že se rozpadá na radon, těžký inertní radioaktivní plyn, a navíc se musí pracovat přímo se zdrojem záření. To vede k velké radiační zátěži personálu

Cesium-137: poločas rozpadu je 30 let. Emituje gama záření s energií 662 keV. Pro afterloading se používají mikrokuličky značené cesiem v obalu z nerezové oceli.

Zlato-198: poločas rozpadu je 2,7 dne. Zlato emituje gama záření o energii 0,412 MeV a beta záření o energii 0,96 MeV. Vzhledem ke krátkému poločasu rozpadu se používá k permanentním aplikacím ve formě zlatých zrn

Stroncium-90: poločas rozpadu je 28,9 let a přeměňuje se na Ytrium-90 a beta záření s energií 0,5 MeV. Jedná se o čistý beta zářič a je vhodný k léčbě zejména povrchových lézí a používá se i pomocí očních aplikátorů

Typy aplikace brachyterapie:

Muláž: aplikátory jsou umístovány ve speciálních formách na povrch nádoru. Povrchová brachyterapie se využívá hlavně v terapii kožních nádorů

Intrakavitární: zdroj je zaváděn pomocí aplikátorů do tělních dutin – pochva, děloha, čípek

Intraluminální: radioaktivní materiál se pomocí aplikátorů aplikuje do lumen bronchů, jícnu, nebo žlučvodů.

Intersticiální: implantace aplikátorů do tkáně (prs, vulva, jazyk, spodina DU, rty, prostat, anus, měkké tkáně)

Rozdělení podle typu nakládání se zdroji: afterloading manuální a automatický

Afterloading funguje na principu zavedení dutých aplikátorů do dutin či tkání dle přesné geometrie a následně se u manuálního afterloadingu ručně zavádějí zářiče, anebo se aplikátory napojí na automatický afterloading řízený počítačem. U něj jsou zdroje záření umístěny ve stíněném trezoru a odtud jsou pneumaticky nebo motoricky transportovány do aplikátorů.

Objemem automatického afterloadingu se významně snížila radiační zátěž pracovníků.

Podle dávkového příkonu rozlišujeme afterloadingové přístroje na přístroje s nízkým, středním a vysokým dávkovým příkonem. (Nag, 1997, s. 6). Podle ICRU 38 léčebné dávky spadají do tří kategorií, a to do LDR (nízký dávkový příkon), MDR (střední dávkový příkon) a HDR (vysoký dávkový příkon). V poslední době je zařazena kategorie PDR (pulzní dávkový příkon) (42).

LDR přístroj má dávkový příkon 0,4 – 2,0 Gy, ale v praxi se běžně používá 0,3 – 1,0 Gy za hodinu. Nejčastěji využívají zdrojů ve tvaru kuliček Cesia 137. Délka aplikace se obvykle pohybuje kolem 24-168 hodin. Pacient musí být umístěn ve stíněné místnosti. (43)

MDR přístroj má dávkový příkon 2 – 12 Gy za hodinu. Tento dávkový příkon se používá jen zřídka, protože v manuálním afterloadingu je personál vystaven nadměrné expozici záření.

HDR přístroje používají zpravidla jediného zdroje IR 192 o vysoké nominální aktivitě, mají dávkový příkon 12 Gy za hodinu a více. Díky vysokému dávkovému příkonu, dochází ke zkrácení ozařovacího času i na několik málo minut a umožňuje nám léčbu aplikovat ambulantně. Pomocí pohybu zdroje, který zůstává v předem dané pozici po určité době, dosáhneme výhodné distribuce dávky v cílovém objemu.

PDR přístroje využívají výhod jediného zdroje záření při radiobiologicky příznivějším nízkém dávkovém příkonu. Aktivita zdroje se pohybuje kolem 37GBq a zdroj je každou hodinu zasouván přibližně na 10 až 30 minut. Výsledný dávkový příkon je podobný jako u LDR, stejně jako celková doba záření (44).

Brachyterapie u karcinomu čípku:

Na základě několika studií bylo zjištěno, že zařazení brachyterapie po teleterapii v léčbě karcinomu čípku přineslo pacientkám prodloužení přežití (45-49).

Zhoubný nádor děložního čípku se začal léčit pomocí brachyterapie už v roce 1913 a využívalo se k ní radium 226. Od té doby byly vytvořeny tři základní konvenční metody plánování odlišující se dobou aplikace, množstvím použitého izotopu a tím příkonem a frakcionací. Šlo o metodu Pařížskou, Stockholmskou a Manchesterskou techniku (Petera, 1998, s. 17; Binarová, 2010, s. 149). Nejzásadnější Manchesterská škola používala různých délek uterinních sond, velikosti ovoidů a množství zářiče, a hlavně stanovila body A B, do kterých specifikoval dávku.

Bod A je místem křížení děložní tepny a ureteru. Je 2 cm nad poševní klenbou a 2 cm laterálně od zavedené sondy

Bod B je v oblasti parametrií. Leží 2 cm nad linií kleneb a 5 cm laterálně od uterinní sondy (nachází se 3 cm od bodu A) (Binarová, 2010, s. 149).

Výsledný plán má v předozadním pohledu tvar hrušky a referenční izodóza prochází bodem A.

Na základě snahy o sjednocení jednotlivých škol, vydala ICRU (International commission on radiation units and measurements) v roce 1985 doporučení číslo 38, které specifikuje techniky, zdroje, užití aplikátory, popisuje referenční objem, absorbovanou dávku v referenčních bodech, vztah dávky a času a určuje referenční vzduchové kermy v Gy. ICRU 38 nebylo přijato v celkovém znění, ale zavedlo standard určování dávky v

kritických orgánech (močový měchýř, rektum). Rozložení terapeutické dávky a dávka na OAR byla vypočítána díky RTG snímkům aplikátorů a do močového měchýře a rekta zavedených markerů. Byly provedeny dva, nejčastěji ortogonální, snímky na C rameni či simulátoru. Následně byla data přenesena do plánovacího systému a vyhodnocena.

3D plánování

S rozvojem zobrazovacích metod dochází k posunu v plánování brachyterapie. Díky CT a MRI kompatibilním aplikátorům se zavedlo trojrozměrné plánování. Díky lepším zobrazovacím metodám jsme schopni přesně stanovit cílový objem a přesně určit rizikové orgány.

GEC-ESTRO Working group vydala v r 2005 doporučení pro 3D brachyterapii (50,51), která doporučuje stanovení high risk clinical target volume a intermediate risk clinical target volume. Vše bylo završeno vydáním ICRU 89 v r 2016, které poskytuje ucelený pohled na brachyterapii gynekologických malignit.

Gross tumour volume at BRT je makroskopický rozsah tumoru v době BRT

High risk clinical target volume (HRCTV) je reziduální makroskopická nemoc v době diagnózy, a tím i místo s největší pravděpodobností recidivy. Zahrnuje vlastní tumor (GTVB), celý cervix, extracervikální část v době BRT (dle klinického vyšetření + reziduální šedé zóny dle MRI)

Intermediate risk clinical target volume (IRCTV)- je objem odpovídající velikosti tumoru v době diagnózy, zahrnuje HRCTV s lemem 5-15mm dle lokalizace tumoru, regrese nemoci, léčebné strategie a možného potencionálního šíření.

Na základě vytvořeného plánu je možné vyhodnotit parametry DVH a určit dávky nejen na Body A B, ale určit parametry ***D90, D100 pro GTV, HRCTV, IRCTV*** - minimální dávky v 90% a 100% daného objemu, ***V100, V150, V200*** pro vyhodnocení objemů s vysokou dávkou

Dávky v kritických orgánech: D0.1cc v 0.1cm³, D1cc v 1 cm³ a D2cc ve 2cm³

Aplikace brachyterapie

Uterovaginální aplikace se provádí v celkové anestézii. Nejdříve je zaveden močový katetr a pak je vyšetřena pacientka pomocí gynekologických zrcadel. Pomocí

cervikálních kleští je vytažen cervix a změřena délka děložní dutiny (uterinní sonda), pak je zaveden nejčastěji Fletcherův aplikátor – uterinní sonda s dvěma ovoidy. Ovoidy jsou vybírány podle velikosti tumoru a prostornosti poševních kleneb. Je možné využít i ring. Následně je provedena tamponáda a pacientka je převezena CT a je provedena simulace a výpočet.

V současnosti je k dispozici velké množství aplikátorů, které umožňují kombinovat intrakavitární aplikaci s intersticiální a tím zlepšit geometrii plánu.

1.8.3 Systémová léčba:

Neoadjuvantní chemoterapie (NAC): U stádií Ib2-IIA2 bohužel stále nepanuje jednoznačný konsensus mezi gynekology a onkology. Dle studií fáze III by měla být tato stádia léčena kurativní chemoradioterapií (52-54). Na pracovištích s hůře dostupnou radioterapií jsou tato stádia léčena chirurgicky anebo neoadjuvantní chemoterapií. Cílem neoadjuvantní léčby je předpokládané zmenšení tumoru a snížení rizika přítomnosti rizikových faktorů (velikost nádoru, hloubka invaze, přítomnost lymfangioinvaze) s předpokladem vyhnutí se následné radioterapii eventuálně radiochemoterapii (55). Pacientky, které musí podstoupit multimodální léčbu (NAC, operace, radioterapie, CHRT), jsou zatíženy nadměrným rizikem terapií způsobené morbiditoy. Oproti primární radikální hysterektomii předoperační chemoterapie nepřináší zlepšení přežití pacientek s časným karcinomem hrdla dělohy (55-58). Ve studiích je proto snaha o navýšení density a intenzity neoadjuvantní léčby (59). Dle mezinárodních doporučení, neoadjuvantní chemoterapie nesplňuje podmínky evidence based medicine (EBM). Aby mohla být doporučena jako standardní, chybí srovnávací studie fáze III s CHRT.

Konkomitantní chemoterapie: Dvě metaanalýzy a několik randomizovaných studií prokázalo, že konkomitantní chemoterapie, podávaná během definitivní radioterapie lokálně či regionálně pokročilého karcinomu hrdla dělohy, výrazně zlepšuje celkové přežití, i přežití bez známek nemoci ve srovnání s radioterapií samotnou (52-54).

Konkomitantní podání chemoterapie zvyšuje citlivost onemocnění k radioterapii, a kromě toho zlepšuje kontrolu metastického šíření. Bylo zkoumáno několik cytostatických režimů, ale nejlepší data vyšla u platiny (CDDP) 40mg/m² aplikovaná týdně v průběhu radioterapie (60-63). Přidání cisplatiny přineslo zlepšení přežití i u adjuvantní chemoradioterapie - studie SWOG 8797. (64). Podání samotné adjuvantní

chemoterapie bez adjuvantní radioterapie není u karcinomu hrdla dělohy podpořeno prospektivními daty.

Systémová léčba metastatického karcinomu. Dle NCCN je preferovanou 1. linií léčby kategorie 1 kombinace cisplatina, paclitaxel + bevacizumab (eventuálně carboplatina). Aktivita bevacizumabu byla prokázána studií GOG 240, ve které bylo 452 pacientek randomizováno do ramen se samotnou chemoterapií CDDP + paclitaxel a topotecan + paclitaxel anebo chemoterapií s bevacizumabem. Ze studie vychází významné zlepšení přežití ve srovnání se samotnou chemoterapií (mOS 17 vs 13,3 měsíce) a u žen, které nebyly léčeny v předchozí době radioterapií, dokonce 24,5 měsíců vs 16,8 měsíců. Bylo zjištěno také prodloužení doby do progresu (8,2 měsíce vs 6 měsíců) a lepší léčebná odpověď (ORR 48% vs 36%). Na základě této práce byl bevacizumab schválen v r 2014 do terapie metastatického karcinomu čípku.

Studie také potvrdila již dříve zjištěnou superioritu kombinací s cisplatinou. Při porovnání ramen samotné chemoterapie byl režim bez CDDP horší nejen v celkovém přežití, i když ne se statistickou významností (12,5 vs 15,0 měsíců, $p = 0,88$), ale byla významně kratší doba do progresu (5,7 vs 7,6 měsíců $p = 0,008$). Platinový derivát zůstává tedy na prvním místě v terapii. Je otázkou, v jaké kombinaci, pokud není indikována kombinace s bevacizumabem. Na to nám může pomoci odpovědět studie GOG 204, ve které byly zkoumány dublety s paclitaxelem, vinorelbinem, gemcitabinem a topotecanem. Přežití i doba do progresu byly ve všech ramenech bez statisticky signifikantního rozdílu, jen RR byl mírně vyšší u dubletu s paclitaxelem 29,26,22 a 23%. Rozdíly byly hlavně v toxicitě léčby.

Další otázkou je výměna cisplatinu (CDDP) za karboplatinu (CBDCA). U pacientek s komorbiditami (renální insuficience) a těch, které již absolvovaly terapii cisplatinou v primární léčbě, je vhodnou alternativou podání kombinace s karboplatinou. Je to na základě studie JCOG 505, kde byly pacientky randomizovány do dvou ramen CDDP + paclitaxel a CBDCA + paclitaxel. U obou ramen bylo dosaženo stejné léčebné odpovědi, celkového přežití i doby do progresu. Jediný rozdíl byl pozorován u pacientek, které zatím nebyly léčeny cisplatinou. U těch z post hoc analýzy vychází lepší celkové přežití pro kombinaci s cisplatinou (mediánOS 13 vs 23 měsíců).

U pacientek v horší kondici a u pacientek ve II. linii léčby je na zvážení monoterapie. Tu vybíráme na základě dat o léčebné odpovědi a jejích možných vedlejších účincích. Dle dostupných dat jsou odpovědi u těchto preparátů následující: karboplatina

15%, paclitaxel 20-25%, topotecan 19%, vinorelbin 15%, ifosfamid 22%, irinotecan 15%, gemcitabin 18% (65). Další z léčebných možností ve II linii léčby je dle NCCN pembrolizumab. Jeho efekt byl potvrzen u PDL1 pozitivních CPS ≥ 1 tumorů, anebo u MSI-H/dMMR tumorů na základě studií fáze II KEYNOTE 158 a 028. U nás tento režim není hrazen, ale je možnost žádat úhradu na paragraf 16. Je otázkou, zda se jeho indikace neposune o linii výš na základě studie KEYNOTE 826. V poslední době je samozřejmě zkoumáno daleko více preparátů, na výsledky studií zatím čekáme (př. BEATcc/ENGOT-Cx10/ GEICO 68-C/ JGOG1084/ GOG-3030, ENGOT--cx13/AGO/FERMATA, VACCIBODY..)

1.8.4 Terapie dle stádií : (66-68)

a) stadium 0 (Tis)

- Konizace je postačujícím výkonem za předpokladu „čistých“ okrajů
- Hysterektomie (abdominální, vaginální či laparoskopicky asistovaná vaginální hysterektomie - LAVH) je metodou volby u žen nepřejících si další těhotenství a v případech, kdy v konizátu dosahuje nádor do okrajů chirurgického řezu či do apexu konusu nebo u karcinoma in situ (CIS) se spornou invazí, CIS ve zbytku hrdla, event. v případech sdružené indikace s myomatózní dělohou.

b) stadium IA1

- Konizace je postačující u žen přejících si další těhotenství, je-li nádor bez angioinvaze a okraje konizátu bez známek tumoru. Konizace na klinicky jasný invazivní nádor je chybou.
- V případech s angioinvazí se doporučuje provést rekonizaci (tracheloplastiku) se současnou laparoskopickou lymfadenektomií. Při peroperační pozitivitě uzlin je pak indikována konverze na radikální hysterektomii dle Wertheim-Meigs.
- U žen, nepřejících si další těhotenství je indikována extrafasciální hysterektomie. Při kontraindikaci chirurgického výkonu je metodou volby samostatná brachyterapie.

c) stadium IA2, IB1, nonbulky IIA

- Jak radikální chirurgický výkon, tak primární kombinovaná radioterapie jsou akceptovatelné u pacientek uvedených klinických stadií. U mladších pacientek je dáována přednost chirurgickému přístupu z důvodu menšího výskytu komplikací. Indikována je radikální hysterektomie dle Wertheim-Meigse s pánevní a případně i paraaortální lymfadenektomií. Pokud se během chirurgického výkonu zjistí metastázy v lymfatických uzlinách, směřujeme pacientku k definitivní chemoradioterapii. Pacientky indikované k radikální hysterektomii by neměly mít tumor větší než 3 cm, aby bylo možné se vyvarovat adjuvantní radioterapie.

- **U pacientek stadia IA2 a IB1 (do 2 cm)** lze v případě přání dalšího těhotenství zvážit radikální trachelektomii s pánevní a případně i paraaortální lymfadenektomií.

- Samostatná kombinace zevní radioterapie s brachyterapií do celkové dávky 80-85Gy, příp. s konkomitantní chemoradioterapií poskytují srovnatelné výsledky pětiletého přežití ve srovnání s radikální operací. U stadia IA2 lze použít i samostatnou brachyterapii.

d) Stadium IB2 a bulky IIA:

- Radikální hysterectomie plus adjuvantní radioterapie nezlepšují celkové přežití ani bezpříznakové přežití v porovnání s radioterapií samotnou, ale zvyšuje se 6 signifikantně morbidita. Metodou volby je kombinovaná radikální chemoradioterapie do celkové dávky ≥ 85 Gy.

e) Stadium IIB, IIIA, IIIB:

- Metodou volby je kurativní kombinovaná chemoradioterapie do celkové dávky ≥ 85 Gy. U pacientek odmítajících radioterapii lze zvážit radikální hystrektomii s pánevní a paraaortální lymfadenektomií.

f) Stadium IVA:

- V tomto stadiu je indikována radioterapie event. konkomitantní chemoradioterapie (podle celkového stavu pacientky s paliativním nebo kurativním cílem). Brachyterapie je zvažována individuálně.

g) Stadium IVB

- Provádí se pouze paliativní léčba, paliativní radioterapie a chemoterapie.

CAVE: Celková léčba by neměla přesáhnout 8 týdnů, při překročení 52 dni, každý den navíc představuje přibližně 1% snížení pravděpodobnosti dosažení lokální kontroly. BRT vhodné zahájit nejdříve ve 4 týdnu zevní RT, u větších nádorů po 40-45 Gy-tedy cca v 5 týdnu nebo po ukončení zevní RT, BRT se v průběhu TRT aplikuje 1x týdně po ukončení TRT 2x týdně

Kontraindikace RT:

absolutní – nespolutpráce pacientky, akutní zánětlivý proces v pánvi či DB, předchozí ozáření s vysokou dávkou v oblasti pánve

Relativní KI: chronické zánětlivé změny dolního GIT (Morbus Crohn, těžká divertikulóza)

Kurativní radioterapie- Samostatná TRT

Pokud nelze BRT - V těchto případech se lze pokusit o kurativní přístup použitím shrinking techniky až do dávky 70 Gy.

Adjuvantní radioterapie

V případě kombinovaná radioterapie:

zevní radioterapie 45-50,4 Gy (25-28x1,8 Gy, celkem 5-5,5 týdnů) + **brachyterapie**;

zevní radioterapie na oblast malé pánve po rozhraní obratlů L₄₋₅.

Při **pozitivních uzlinách, pozitivním resekčním okraji či šířením nádoru do parametrií** se doporučuje vyšší dávka (**50,4 Gy**) s konkomitantním podáním cisplatiny.

Při postižení **pánevních uzlin** ozařujeme i paraaortální uzliny k rozhraní obratlových těl Th₁₂-L₁, s ohledem na lokalizaci patologických pánevních uzlin a celkový stav pacientky, individuálně lze zvolit kraniální hranici na rozhraní těl obratlů L₃₋₄.

Brachyterapie: aplikace vaginálních ovoidů (kolpostatu) do apexu pochvy. Dávka se určuje ve vzdálenosti 0,5 cm od ovoidů. Dávka u HDR: 2x5,0 Gy.

Paliativní radioterapie

jednorázová dávka 8-10 Gy zevním ozářením na oblast celé dělohy a nádoru - za 1-3 týdny lze opakovat

vaginální BRT - vaginální krvácející meta

u pac. s přežitím několika měsíců - řádné plánování léčby s individuálně volenou dávkou i frakcionací.

Doporučené dávky dle stadií onemocnění

Doporučené dávky při konvenčním plánování brachyterapie-SROBF

stádium FIGO radioterapie dávka v bodě A dávka v bodě B

IA2, IB1	BRT	60 Gy	
IB1 < 1cm	BRT	65 Gy	
IB1 ostatní	TRT+BRT	75 Gy	50 Gy
IB2, IIA, IIB	TRT+BRT	75-80 Gy	60 Gy + CHT
IIB (bulky), IIIA, IIIB	TRT+BRT	80-85 Gy	62-64 Gy + CHT

(TRT - zevní radioterapie, BRT - brachyterapie, CHT - chemoterapie)

FIGO KLASIFIKACE	RADIOTERAPIE	DÁVKY, KTERÉ JSOU V BODĚ A
IA2	Zevní radioterapie a brachyterapie	75-80 Gy
IB1, IIA1	zevní radioterapie a brachyterapie	80-84 Gy
IB2, IIA2	zevní radioterapie, brachyterapie a chemoterapie	více jak 84 Gy
IIB, IIIA, IIIB ,IVA	zevní radioterapie, brachyterapie a chemoterapie	více jak 84 Gy

Brachyradioterapie: HDR

IB do 1 cm

Samostatný UVAG 6 x 7 Gy – bod A (Deq2 = 60 Gy)

6 x 7,5Gy – bod A (Deq2 = 60 Gy)

IA2,IB1,IIA1 nonbulky

Zevní RT 45 Gy

BRT 5x5,5 Gy celková Deq2=80 Gy

IB2,IIA2,IIB,IIIA,IVA

Zevní RT Mp 45 Gy
Parametria 3x2Gy Gy u IIB bulky –IIB

BRT 5x6 Gy celková Deq2=84Gy
4x7Gy celková Deq2=80Gy

adjuvantní BRT

zevní 45-50,4 Gy

BRT 2x5 Gy

KRITICKÉ ORGÁNY A TOLERANČNÍ DÁVKY (TD_{5/5})(OAR)

REKTUM 60 Gy

MOČOVÝ MĚCHÝŘ 60-65 Gy

TENKÉ STŘEVO 45-50 Gy

MÍCHA 45-50 Gy

LEDVINY 20 Gy

1.9 Dispenzarizace

Sledování probíhá ve spolupráci s gynekologickým pracovištěm. Akutní a chronické vedlejší účinky léčby jsou vyhodnocovány podle mezinárodně uznávaných stupnic, např. podle EORTC-RTOG stupnice.

Intervaly sledování: První 2 roky každé 3 měsíce 2. až 5. rok každých 6 měsíců

Další roky kontroly 1x ročně.

2.0 Gastrointestinální toxicita chemoradioterapie karcinomu čípku, význam citrulinu

Zlatým standardem léčby lokoregionálně pokročilého karcinomu děložního čípku stádia IIb-IVa je, jak už bylo uvedeno výše, konkomitantní chemoradioterapie a brachyterapie. (52-54). Tato kombinovaná léčba sebou nese četné nežádoucí účinky. Jak radioterapie, tak i cytostatická léčba totiž nepůsobí pouze na nádorové buňky, ale na všechny aktivně se dělící tkáně. To se pak projeví toxicitou, nejvíce ohrožený je hematopoetický aparát a sliznice gastrointestinálního traktu (76).

Léčba chemoradioterapií způsobuje jednak akutní nežádoucí účinky, které se projeví do 90 dní od zahájení léčby, a dále chronickou, pozdní toxicitu, která může vznikat měsíce a roky po ukončení terapie. Až u 84% pacientek léčených pro karcinom hrdla děložního se objeví nějaká forma akutní radiační toxicity (69-71). Nejčastěji se jedná o gastrointestinální, hematologickou nebo genitourinální toxicitu. Její závažnost závisí na délce léčby, frakcionaci, dávce záření, použité cytostatické léčbě, a hlavně na technice ozáření s níž souvisí velikost ozářeného objemu (71).

Z prováděných studií, ale vyplývá, že jsou další faktory, které mohou ovlivnit závažnost poléčebné reakce jako jsou stádium choroby, výkonnostní stav pacienta, stav výživy, jeho věk, komorbidity, genetické aspekty (72-75).

Příznaky gastrointestinální vychází z oblasti trávicího traktu, která byla radioterapií či chemoterapií postižena, jelikož inhibice proliferace buněk epitelu může postihnout celý trakt.

V dutině ústní může bývá nejčastěji k zastižení erytém, edém, stomatitida až ulcerózní často komplikovaná xerostomií při postižení slinných žláz. Častá je mykotická superinfekce. V oblasti jícnu se podobně projeví ezofagitida spojená s dysfagií a opět mykotickou superinfekcí. V žaludku lze vzácně pozorovat antrální gastritidu spojenou s nechutenstvím a zvracením (76). V oblasti tlustého střeva dochází u části pacientů k rozvoji kolitidy spojené s průjmy, či proktitidy, která pak může vést k enterorhagií.

Bohužel nejvíce postiženy bývají rychle proliferující buňky stěny tenkého střeva, které reagují edémem, malabsorpcí, únikem živin a zrychlením peristaltiky, což vede k průjmům, zhoršení výživy až kachexii pacienta. Zhoršení nutričního stavu je přitom

jedním z prognostických faktorů účinnosti léčby a prediktivním faktorem toxicity (77-82).

Abychom se vyhnuly fatálním důsledkům vedlejších účinků protinádorové léčby je nutné ji zachytit v časném stádiu a reagovat na ni.

U hematologické toxicity není problémem její kvantifikace, jelikož je založena na přesném měření parametrů krevního obrazu. Tím je možné jednoduše určit její grade a doporučit léčbu. U gastrointestinální toxicity je možnost vyšetření aspektů (dutina ústní, žaludek, tlusté střevo), ale toxicita na tenkém střevě je hůře verifikovatelná (enteroskopie, kapslová endoskopie).

V dnešní době používáme ke stážování gastrointestinální toxicity několik schémat. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)- hlavně pro hodnocení toxicity cytostatické a cílené léčby a ve studiích, momentálně u nás používáme verzi 5.0 (83). Další možnosti vyhodnocení nežádoucích účinků je pomocí doporučení Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) a The European Organization for Research and Treatment (EORTC) a dle World Health Organization (WHO) (84). Bohužel zařazení do jednotlivých gradů, závisí na subjektivním vnímání potíží pacientem, a navíc se systémy klasifikace mírně liší. U nás používáme pro vyhodnocení nežádoucích účinků po radioterapii doporučení RTOG.

Dle stupně poškození a místa se odvíjí jeho terapie. U postižení dolního gastrointestinálního traktu je základem péče o střevo. Je snaha o zachování správného střevního mikroprostředí. Je zde možnost podání probiotik. V dnešní době nelépe kombinovaných. Příkladem je tasectan DUO, který kromě tyndalizovaných mléčných bakterií, obsahuje tanát želatiny. Ten vytváří na střevní sliznici ochranný film, který chrání střevo před toxiny a neutralizuje zánětlivé procesy ve střevě. Zároveň podporuje rychlejší odchod škodlivých látek z těla.

Při průjmech je dále nutné ovlivnění motility parasimpatikolytiky a dále snaha o zahuštění stolice (loperon, smecta, u nás efektem dělané tablety s codeinem a beladonou). Dále je nezbytné kontrolovat vnitřní prostředí, hladiny minerálů a eventuálně je substituovat.

Tabulka 3. Srovnání kritérií hodnocení toxicity onkologické léčby WHO vs EORTC/RTOG

	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Stupeň 4
WHO toxicity grade	žádná	Zvýšení o 2-3 stolice za den oproti stavu před léčbou	Zvýšení o 4-6 stolic za den, nebo noční stolice, nebo mírné křeče	Zvýšení o 7-9 stolic za den, nebo inkontinence, nebo silní křeče	Zvýšení o více jak 10 stolic za den nebo silný krvavý průjem nebo nutnost parenterální podpory
EORTC-RTOG měřítko dolní gastrointestinální toxicity	žádná	Zvýšení frekvence nebo změny v kvalitě střevních návyků bez nutnosti medikace, nebo rektální diskomfort nevyžadující analgetika	Průjem vyžadující parasimpatikolytika, slizniční výtok nevyžadující vložky, rektální nebo břišní bolesti vyžadující analgetika	Průjem vyžadující parenterální podporu, silný slizniční nebo krvavý výtok vyžadující vložky/vzednutí břicha s RTG nálezem distendovaných střevních kliček	Akutní a subakutní střevní obstrukce, píštěl, perforace, GIT krvácení vyžadující transfuze, bolesti břicha nebo tenesmy vyžadující dekompresi nebo stomii

Je snaha o přesnější stanovení stupně toxicity a tím určení správné léčby.

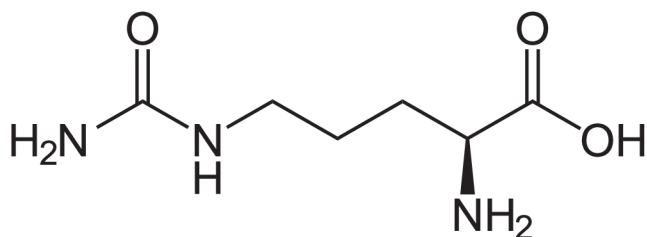
Z toho důvodu, se stále více do popředí dostávají biomarkery, které by nám měli nejen pomoci kvantifikovat závažnost postižení, ale i predikovat její vývoj (85-87).

Jedním z možných biomarkerů je hladina citrulinu, jak bylo potvrzeno v několika studiích (88-89)

2.1 Citrulin jako možný prediktor gastrointestinální toxicity

Citrulin je neesenciální aminokyselina (2-amino-5-(karbamoylamino) pentanová kyselina). Je meziproductem močového cyklu, v němž se v tělech savců přeměňuje amoniak na močovinu (90). L-citrulin je syntetizován v cyklu močoviny přidáním oxidu uhličitého a amoniaku k ornithinu, a také se vytváří jako vedlejší produkt enzymatické tvorby oxidu dusnatého z argininu(91).

Obr.4 Citrulin – strukturní vzorec



Jeho název je odvozen z latinského *citrullus* - [vodní meloun](#), jelikož právě z něj byla tato látka roku 1914 poprvé izolována (92). Test na její přítomnost byl vyvinut v roce 1930 (93).

Téměř exkluzivně se tvoří v enterocytech a není součástí proteinů. Tvorba citrulinu probíhá převážně v orálních částech tenkého střeva a ve střední a horní části střevních klků. Játra mají na produkci minimální vliv. Osmdesát procent citrulinu je konvertováno v ledvinách na arginin. Porucha clearance v ledvinách má za následek zvýšení hladiny. Z klinického hlediska má význam snížená hladina, která odráží nedostatek funkční masy enterocytů (94,95).

Vzhledem k tomu, bylo měření koncentrace této aminokyseliny, navrženo jako jeden z možných biomarkerů k určování poškození střeva.

Vstupní data vycházela ze studií s nenádorovou tematikou (nespecifické střevní záněty, syndrom krátkého střeva, transplantace tenkého střeva) (94-99).

Postupně jsme ale získali data, potvrzující možnost jeho využití i k měření gastrointestinální toxicity u protinádorové léčby, a to nejen u terapie cytostatiky (89,100-103). Již byla publikována data využívající měření hladin citrulinu u pacientů po radioterapii (88,94,104-106).

Díky těmto znalostem, jsme se v naší práci rozhodli u pacientek s karcinomem čípku děložního léčených chemoradioterapií a brachyterapií vyhodnotit, zda hladiny citrulinu a také neopterinu (biomarker aktivace imunity) korelují s gastrointestinální toxicitou měřenou dle doporučení RTOG.

3.0 Neopterin, kynurenin a tryptofan jako prognostické a prediktivní faktory- východisko dizertační práce

Jak již bylo uvedeno výše, tak karcinomy čípku děložního i přes pokrok v léčbě stále patří, pokud jsou diagnostikovány ve vyšších stádiích, mezi špatně kurabilní nádory a mortalita stále zůstává vysoká (Tab. 1). Navíc je multimodální léčba, používaná u těchto stádií, velmi náročná a nese s sebou velkou morbiditu. Je proto snaha o stanovení dalších prediktivních a prognostických markerů, které by nejen lépe rozdělily pacientky do prognostických skupin, ale které by také pomohly v predikci možných vedlejších účinků, či efektu léčby.

Z literatury vyplývá, že laboratorní medicína je v léčbě onkologických pacientů velmi významná (107). Prováděné studie byly nejdříve zaměřeny na biomarkery související a aktivitou nádorových buněk, ale získáváme stále více důkazů, že je podstatné zabývat se znaky, které odrážejí reakci hostitele na nádor. Tyto můžeme měřit jak v nádorové tkáni, tak tělesných tekutinách. Může se jednat o buňky imunitního systému (např. tumor infiltrující lymfocyty) (108-110), ale také o molekuly účastnící se imunitních reakcí (neopterin, tryptofan a další) (111-115).

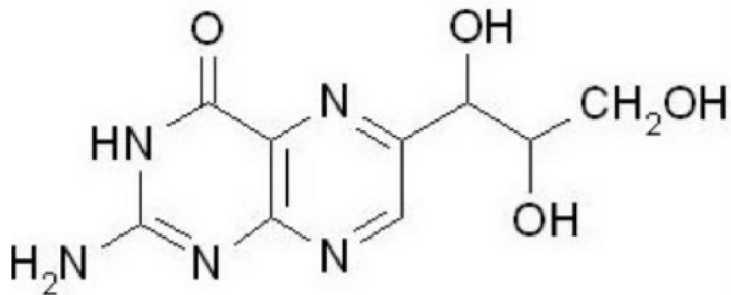
3.1 Neopterin

Neopterin patří do chemické skupiny známé jako pteridiny. Pteridiny jsou aromatické chemické sloučeniny složené z kondenzovaných pyrimidinových a pyrazinových kruhů.

Název pteridinů vychází z řeckého slova pteron a znamená v překladu křídlo. Tento název je odvozen od žlutého pigmentu objeveného v motýlích křídlech 2-amino-4,6-pteridinedion (xathopterin- žlutý pigment)

Obr.8: Neopterin - strukturální vzorec

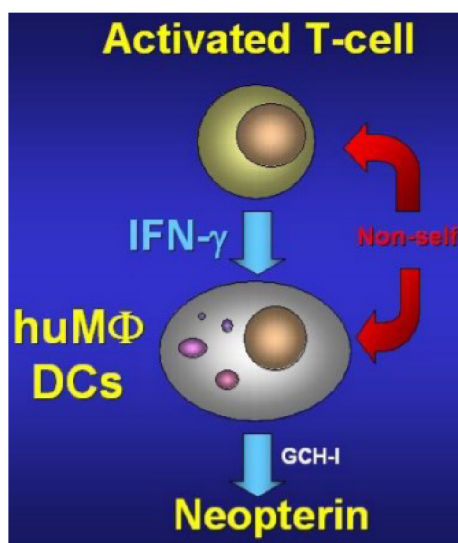
(*D-erythro-1', 2', 3'-trihydroxypropylpterin*)



Jedná se o nízkomolekulární sloučeninu, která se v organismu zvyšuje při probíhající imunitní reakci. Neopterin, 6-D-erythrotrihydroxypropyl-pterin se biosyntetizuje z guanosintrifosfátu (GTP)- klíčovým enzymem biosyntézy pteridinu – GPT- cyklohydrolázou I. Guanosintrifosfát je štěpen tímto enzymem za vzniku meziproductu 7,8- dihydroneopterin-trifosfátu.

Pokud T lymfocyty podtypu TH 1 rozpoznají vlastní modifikované buněčné struktury nebo cizí struktury, začnou produkovat různé mediátory tzv. lymfokiny, jako je interferon γ . Interferon γ , pak v lidských makrofázích (M ϕ) a dendritických buňkách (DC) stimuluje enzym GTP-cyklohydrolázu (GCH) a tím produkci neopterinu a 7,8 dihydroneopterin-trifosfátu(155).

Obr.9: Imunitní odpověď a tvorba neopterinu



Interferon γ byl identifikován jako jediný cytokin, který indukuje významnou produkci neopterinu (147). Interferon γ je tvořen T lymfocyty a přirozenými zabíječi

(natural killers- NK buňkami), ale hlavní produkce je na T lymfocytech. Proto stupeň aktivace T lymfocytů (především TH1) má velký význam pro zvyšující se hladinu neopterinu. Látky, které mohou ovlivňovat aktivitu této subpopulace buněk jsou schopny modifikovat i tvorbu neopterinu. Příkladem je exogenní přidání interleukinu -2 do periferních mononukleárních buněk, které vede k jejich aktivaci a tím navýšení hladiny neopterinu. Podobné je to s interleukinem-12. I když neexistuje žádný přímý vliv.

Naopak imunosupresiva, která inhibují tvorbu cytokinů T lymfocyty, snižují jeho produkci.

Monitorováním hladiny neopterinu můžeme odhadnout aktivitu interferonu γ . Interferon gama, se na rozdíl od neopterinu, velmi časně váže na cílovou strukturu nebo se neutralizuje a tím se nedostane při lokální reakci do krevního oběhu a není vhodný pro rutinní laboratorní diagnostiku.

Neopterin je biochemicky inertní a jeho hladina v organismu je pak ovlivněna pouze renální exkrecí. Navíc měření jeho hladiny neodráží pouze účinek interferonu γ , ale umožňuje zhodnotit celou imunologickou reakci.

Jeho hladina může být měřena ve všech tělních tekutinách (plazma, sérum, moč, mozkomíšni mok) (116).

Mezi hodnotami neopterinu v séru nebo plazmě není žádný rozdíl. Normální hodnoty závisí na věku, proto je nutné klasifikovat koncentrace neopterinu podle tří věkových skupin.

Obr.9: Koncentrace neopterinu (průměr \pm standardní odchylka a 97,5. percentil) v tělních tekutinách zdravých jedinců (123)

Neopterin v moči ($\mu\text{mol/mol}$ kreatininu):				
věk	Muži	97.5 th	Ženy	97.5 th
19-25	123 \pm 30	195	128 \pm 33	208
26-35	101 \pm 33	182	124 \pm 33	209
36-45	109 \pm 28	176	140 \pm 39	239
46-55	105 \pm 36	197	147 \pm 32	229
56-65	119 \pm 39	218	156 \pm 35	249
>65	133 \pm 38	229	151 \pm 40	251
Neopterin v séru (nmol/l)				

věk	Muži a ženy			
19-75	5.3±2,7	8.7		
>75	9.7±5.0	19.0		
Neopterin v mozkomíšním moku (nmol/l):				
věk	Ženy a muži			
19-75	4.2±1.0	5.5		

Další význam neopterinu je jeho účast v cytotoxickém působení makrofágů. Existuje korelace mezi detekcí neopterinu a schopností monocyto/makrofágového systému uvolňovat reaktivní formy kyslíku (156,157). Neopterin lze tedy považovat za nepřímý biomarker imunologicky indukovaného oxidačního stresu.

Navíc neopterin sám a jeho deriváty jsou schopny ovlivňovat účinky dusíku, chloru, reaktivního kyslíku a dalších. Ze studií vyplývá, že neopterin hraje důležitou roli jako endogenní regulátor cytotoxické efektorové funkce aktivovaných makrofágů a 7,8,-dihydroneopterin působí jako scavenger (zametač) volných kyslíkových radikálů.

Deriváty neopterinu in vitro indukují expresi jaderného faktoru- κ B a genu iNOS(158,159,160). Faktor- κ B je všude přítomný transkripční faktor, který regulováním exprese mnoha zánětlivých a imunitních genů hraje rozhodující roli v obraně hostitele při chronických zánětlivých onemocněních. Je to heterodimer přítomný v cytoplazmě v neaktivní formě v komplexu s inhibičním proteinem I kappa B.

NOS jsou enzymy katalyzující produkci oxidu dusnatého (NO) z argininu. Oxid dusnatý je důležitá buněčná signální molekula. Inducibilní izoforma iNOS při zapojení do imunitní odpovědi váže kalmodulin a produkuje oxid dusnatý jako imunitní obranný mechanismus. Je bezprostřední příčinou septického šoku a může fungovat u autoimunitních onemocnění.

V neposlední řadě, nedávné studie ukazují, že neopterin a jeho deriváty ovlivňují regulaci (upregulace) protokonkogenu c-fos(161), takže se teoreticky mohou podílet na maligní transformaci buněk.

Z výše uvedeného lze říci, že neopterin může být označen jako biomarker aktivity buněčného imunitního systému, protože jeho hladina odráží jeho aktivaci. Koncentrace neopterinu jsou důležité v predikci prognózy u pacientů s kardiovaskulárními chorobami, neurodegenerativními chorobami a je možné ji využít i k určení prognózy u pacientů s polytraumatem, sepsí či HIV. Může predikovat virové

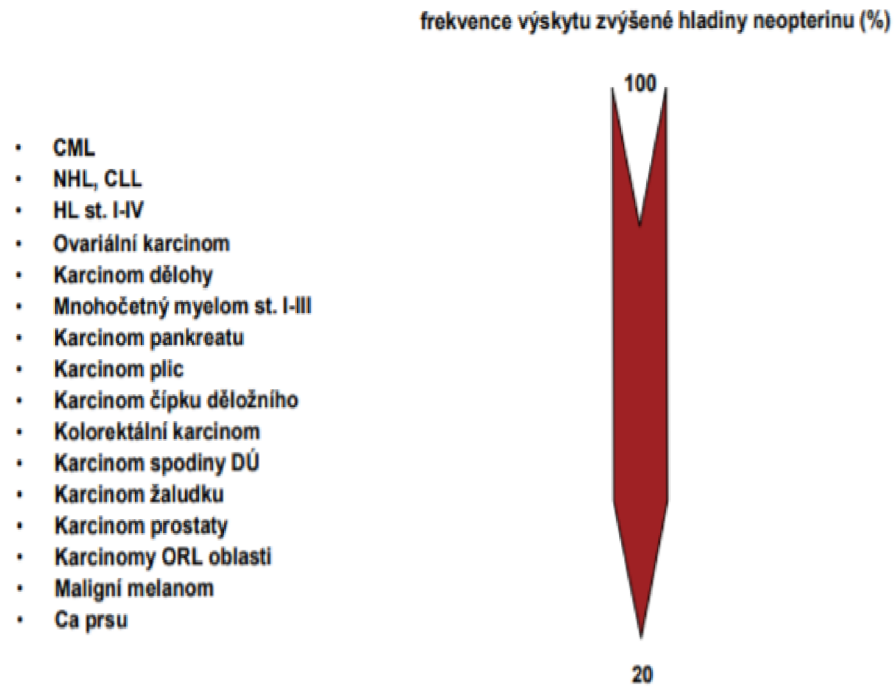
infekce či pravděpodobnost odhojení štěpu (117-119). Podstatné je, že jeho prognostický význam byl studován i u maligních onemocnění (111,112,120-122).

Jeho zvýšená hladina se vyskytuje prakticky u všech nádorů, většinou v závislosti na rozsahu onemocnění. Aktivace T buněk vyvolaná nádorovými buňkami vede pravděpodobně k aktivaci monocyto/makrofágového systému a tím k navýšení hladiny neopterinu. Protože není tvořen nádorovými buňkami, ale imunitním systémem reagujícím na nádor, není tato závislost stoprocentní a nemůže být považován za tumor marker. Senzitivita měření hladiny neopterinu závisí velmi silně na lokalizaci tumoru. Obecně hladina cirkulujícího neopterinu koreluje s rozsahem, respektive s množstvím hmoty nádoru, a indikuje vyšší riziko progresu onemocnění. Měření hladiny neopterinu u maligních onemocnění nespočívá ve screeningu, ale posuzování prognózy a sledování účinků terapie(162,163,164).

Spolu s růstem hladiny neopterinu, indukuje interferon γ také enzym IDO v různých buňkách. Ten kynskou cestou (viz. Kapitola 3.2) degraduje tryptofan na kynurenin. Snížení hladiny tryptofanu, zvýšení hladiny neopterinu a kynureninu je spojeno se zhoršenou prognózou.

Téměř všichni pacienti s hematologickými malignitami mají hladinu neopterinu zvýšenou, zatímco pacienti s karcinomem prsu ji mají zvýšenou jen nepatrně (111,121,122).

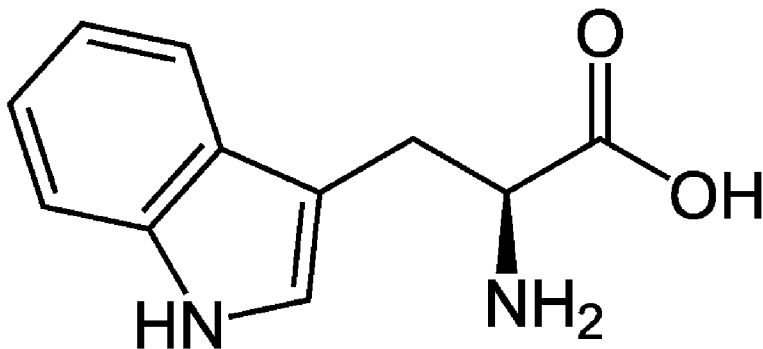
Obr.11: Neopterin u maligních onemocnění- frekvence výskytu zvýšené hladiny neopterinu(%) (125)



3.2 Tryptofan, Kynurenin a IDO1

Tryptofan je jednou z 20 proteinogenních aminokyselin. Řadí se k aminokyselinám s nepolárním, aromatickým postranním řetězcem. Jeho strukturní základ tvoří indol. Patří mezi 9 esenciálních aminokyselin, lidské tělo ho neumí syntetizovat. Kóduje ho kodon UGG, jedná se o vzácnější aminokyselinu s průměrným zastoupením v proteinech 1,4 % (126).

Obr.12: Tryptofan (2S)-2-amino-3-(1H-indol-3-yl)propanová kyselina -strukturální vzorec (<https://cs.wikipedia.org/wiki/Tryptofan>)



Tryptofan je prekurzorem mnohých imunomodulačních metabolitů, které jsou produkovány kynureninovou a serotoninovou cestou. Je nezbytný pro buněčnou proliferaci a hraje důležitou roli ve fungování centrálního nervového systému i imunitního systému.

Je prekurzorem biosyntézy neurotransmiteru serotoninu = 5 – hydroxytryptaminu (5-HT), proto je snížení hladiny tryptofanu asociováno se sníženou produkcí serotoninu. Serotonin má hlavní význam jako neurotransmitter, který ovlivňuje serotoninergní systém, tvořený soustavou neuronů v mezimozku, prodloužené míše, Varolově mostě a ve středním mozku. Ale neurony s těmito receptory se mohou vyskytovat také v mozkové kůře či limbickém systému. Serotonin se účastní především procesů, které se podílejí na vzniku nálad.

Při jeho nedostatku se snižuje přenos nervových vzruchů a způsobuje změny nálady, celkovou depresi, případně poruchy spánku, podrážděnost až agresivitu.

Změny v jeho metabolismu mohou být odpovědné i za určité psychické poruchy. Mohou vyvolávat chorobnou úzkost, bipolární afektivní poruchu atd. Dále jeho činnost souvisí i cyklem spánku a bdění, ovlivňuje receptory chuti, pocity nevolnosti.

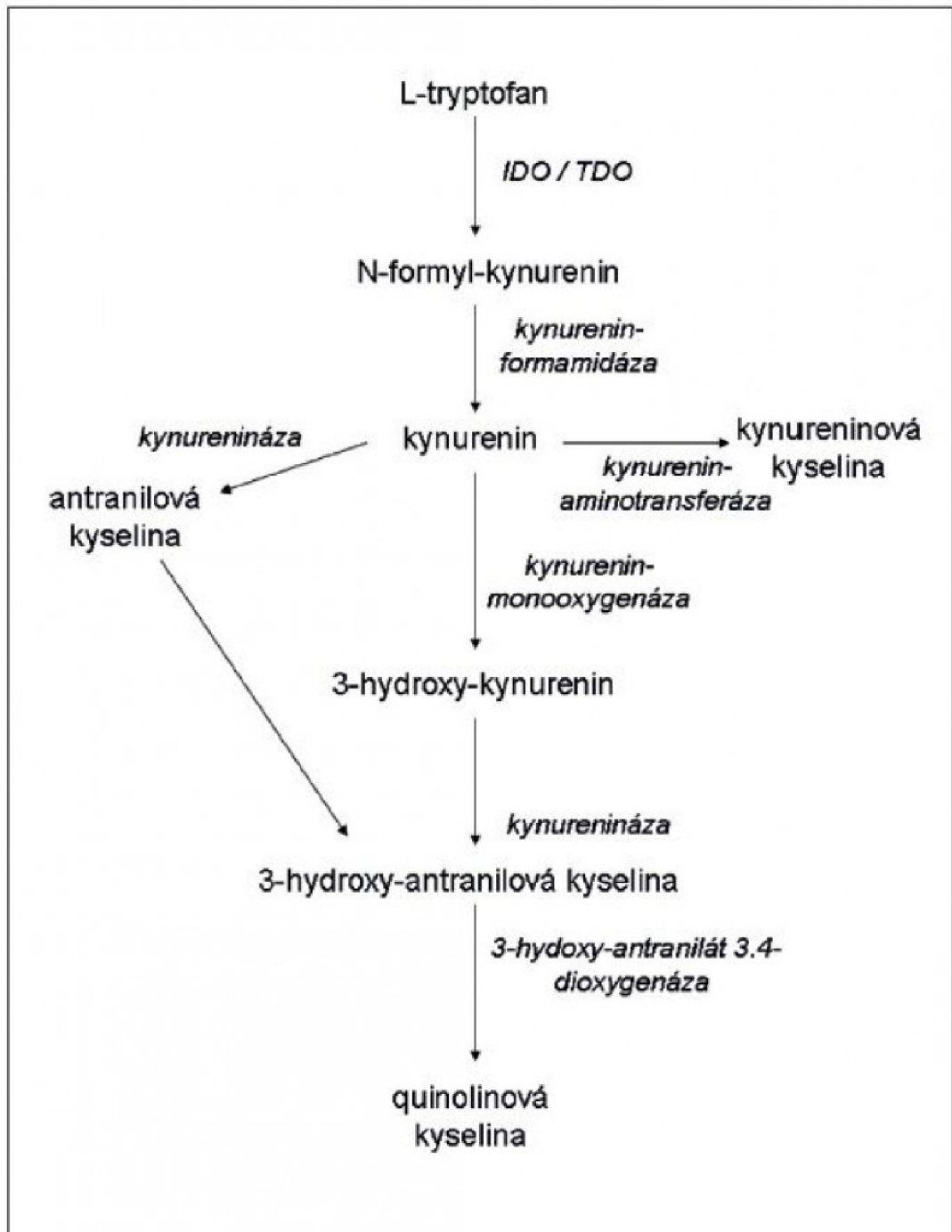
S imunitním systémem a onkologickými onemocněními souvisí spíše metabolity vzniklé štěpením kynureninovou cestou. Působením indolamine 2,3- dioxygenázy 1 (IDO1) a tryptofan-2,3-dioxygenázy (TDO) vzniká L. kynurenin (Kyn). Tryptofan a jeho katabolity kynské dráhy se podílejí na tvorbě imunosupresivního prostředí, které vykazuje toleranci vůči patogenům a přispívá k imunitně privilegovaným míst (mozek, placenta, oči, varlata)(127).

Většina tryptofanu je katabolizována pomocí IDO1. IDO1 byla prokázána v různých orgánech v celém těle. Tvoří se v endotelových, ledvinných, jaterních a dalších buňkách, ale jejím hlavním zdrojem jsou buňky prezentující antigen (APC). Hlavně plazmocytoidní dendritické buňky (165).

Tvorba IDO významně stoupá v místech zánětu, na základě indukce interferonem γ (128), v jejich produkci napomáhají i jiné cytokiny. Ale například granulocyty-makrofágy stimulující faktor (GM-CSF) její aktivitu tlumí, stejně jako některá imunosupresiva. Interferon gama aktivuje také tvorbu tryptofanyl-tRNA syntázy (WRS), která má za úkol kompenzaci úbytku tryptofanu. Kromě IDO1 katalyzují tryptofan ještě tryptofan-2-3 dioxygenáza (TDO) a IDO2. IDO2 má, ale mnohem menší aktivitu. TDO je evolučně mnohem starší a je exprimována hlavně v játrech a její exprese je indukována glukokortikoidy.

Prvním produktem štěpení tryptofanu kynskou cestou je formyl-kynurenin, který je rychle štěpen na kynurenin.

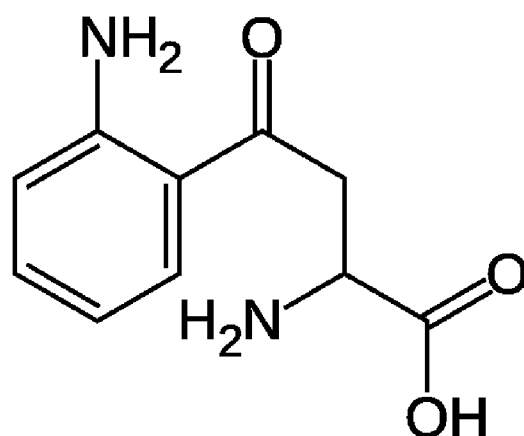
Obr.13 Katabolismu tryptofanu (Schéma katabolismu tryptofanu podél kynureninové dráhy (podle Orabona a Grohmana (166), modifikováno)



Kynurenin je neproteinogenní aromatická aminokyselina. Poprvé byl nalezen v moči (latinsky urina) psů (řecky kyon), od čehož je odvozen název sloučeniny.

Obr. 14: Kynurenin- (2S) -2-amino-4-(2-aminofenyl)-4-oxabutanová kyselina

(<https://en.wikipedia.org/wiki/Kynurenine>)



Kynureniny mají význačné biologické efekty. Asi nejdůležitější je ovlivnění imunitního systému. Kromě toho jsou schopny modulace aktivity mezenchymálních kmenových buněk, ovlivňují tvorbu prostaglandinů a adhezivitu buněk a uplatňují se i v psychiatrii(167,168).

Poměr hladiny tryptofanu a kynureninu (kyn/trp) je obecně používán jako měřítko aktivity IDO1.

Nějaký čas se IDO považovala za inhibitor růstu nádorových buněk. Nyní je ale jednoznačné, že má imunomodulační funkci při potlačování imunitních aktivačních buněk a podporuje imunosupresivní buňky, což souvisí s únikem nádoru imunitnímu systému a tím se špatným přežitím u různých pacientů s rakovinou (129).

Většina nádorů zřejmě produkuje IDO1 konstitutivně (130). V klinických studiích byla prokázána korelace mezi zvýšenými hladinami kynureninu a horším průběhem nemoci.

Funkce IDO je založena na zánětlivém programování, což má vliv na neovaskularizaci nádoru, tvorbu supresorových buněk odvozených od myeloidů (MDSC) a metastázy imunitní tolerance (130). IDO1 spotřebovává tryptofan a produkuje kynurenin čímž pomáhá zmírňovat zánět, blokuje funkci zánětlivých buněk a stimuluje imunologickou toleranci (131,132). IDO1 může snižovat odpověď na stimulaci u INF γ a zvyšovat odpověď na stimulaci interleukinu 6 (IL-6) v časném stadiu tumorigeneze (130).

IDO1 potlačuje imunitní systém a zrychluje růst nádorových buněk, jejich migraci a invazi třemi způsoby:

1. Podporuje tvorbu imunosupresivních buněk předkládajících antigen (APC), na které působí jako přímá signální molekula. Tím vytváří tolerogenní APC, které potom vedou k podpoře tumorogeneze, tím že jsou tolerantní k buňkám nesoucím nádorový antigen (133).
2. Indukce IDO v APC nepřímo reguluje sousední imunitní buňky cestou kynureninu. Spotřeba tryptofanu vede k inhibici mTOR a ta potlačuje zabíječské buňky(NK) a CD8+T efektorové buňky a indukuje regulační buňky(Tregs) (134,135,136).
3. IDO usnadňuje supresivní funkci MDSC, tím že aktivuje IL6 a potlačuje CD8+T buněk a Nk buněk(137).

4. Východiska dizertační práce:

Karcinom děložního čípku přes aktivní screening a vakcinaci stále zaujímá čtvrté místo mezi malignitami. V časných stádiích je dobře samotnou chemoterapií nebo radioterapií. Bohužel až 60% pacientek přichází v pokročilém stádiu, u kterého je nutný multimodální přístup.

Standardem léčby lokoregionálně pokročilého karcinomu děložního čípku stádia IIb-IVa je, jak už bylo uvedeno výše, konkomitantní chemoradioterapie a brachyterapie. (52-54). Tato kombinovaná léčba sebou nese četné nežádoucí účinky. Jak radioterapie, tak i cytostatická léčba totiž nepůsobí pouze na nádorové buňky, ale na všechny aktivně se dělící tkáň. To se pak projeví toxicitou, nejvíce ohrožený je hematopoetický aparát a sliznice gastrointestinálního traktu (76). Vzhledem k tomu je snaha najít prediktivní a prognostický faktor, který by nám pomohl určit, které pacientky je nutné léčit, a jak agresivně a zároveň pomohl predikoval toxicitu léčby.

Z uvedeného teoretického základu vyplývá, že hladiny citruliny by nám měly pomoci s predikcí nežádoucích účinků v oblasti gastrointestinálního traktu. Podle míry postižení střevní sliznice by mělo docházet k poklesu hladin citrulinu.

Dle provedených studií se zdá, že hladina neopterinu a IDO1 (poměr kyn/try) by měla být zvýšena u pokročilejších a agresivnějších tumorů. Měla by se zvyšovat v průběhu léčby na základě vyvolané imunitní reakce a na závěr léčby by naopak mělo při dobrém efektu docházet k jejímu poklesu.

5. Cíle dizertační práce :

1: Sledovat pacientky v průběhu chemoradioterapie pro karcinom čípku děložního a během léčby odebírat vzorky krve

3: v průběhu léčby a po léčbě pečlivě sledovat a vyhodnocovat nežádoucí účinky terapie a vyhodnotit je dle RTOG kritérií

4: vyhodnotit efekt léčby, přežití pacientek

5: vyšetřit vzorky a provést analýzu

6.Soubor pacientů a použítá metodika:

Charakteristika souboru:

V našem souboru bylo zahrnuto celkem 16 pacientek s karcinomem děložního čípku ve věku od 29 let až po 76 let s mediánem 53 ± 15 let (průměr \pm standardní odchylka), které byly léčeny kurativní chemoradioterapií a brachyterapií na onkologickém oddělení KNTB a.s. Zlín v letech 2016 až 2019.

Počáteční staging byl stanoven pomocí klinických, radiologických a endoskopických metod.

Bylo provedeno kompletní fyzikální vyšetření, gynekologické vyšetření s ultrazvukem jak rektální, tak vaginální sondou. Dále hematologické vyšetření (krevní obraz a diferenciál), biochemické vyšetření – metabolický soubor + cystatin C, vyšetření tumorových markerů Cyfra 21-1 a SCCA a nutriční screening. Radiologické vyšetření zahrnovalo RTG plic, CT plic, břicha a malé pánve eventuálně PETCT a v neposlední řadě magnetická rezonance malé pánve (MRI). Při podezření na invazi bylo doplněno rektoskopické a cystoskopické vyšetření. Dále byla u pacientek doplněn dynamická scintigrafie ledvin metodou DTPA.

Nejčastějším histologickým typem byl spinocelulární karcinom a to u 14 pacientek. U jedné se jednalo o mucinózní a u jedné u adenosquamózní karcinom. Většina tumorů byla grade 2 (9 pacientek), 6 bylo grade 3 a jeden grade 1.

Většina pacientek byla stádia IIB dle FIGO (n=11). Pět pacientek byla FIGO IIIB. Sedm pacientek mělo p16 pozitivní tumor a devět negativní.

Radioterapie byla prováděna u většího počtu pacientek metodou trojrozměrné (3D) konformní radioterapie. Jen dvě pacientky byla naplánovány metodou VMAT. Bylo aplikováno 45Gy/25 frakcích na svodná lymfatika a boost 6Gy/3 frakcích na parametria a následně high dose rate (HDR) brachyterapie IR 192 uterivaginální aplikací (UVAG) 5 frakcí po 6 Gy nebo 4 frakce po 7 Gy. Pokud byla používána frakcionace o 7 Gy byla prováděna 1 týdně, 6 Gy bylo aplikováno po ukončení zevní radioterapie 2x týdně. Konkomitantně byla podávána chemoterapie cisplatina CDDP 40mg/m² weekly eventuálně karboplatina CBDCA AUC 2 weekly dle aktuálních renálních a parametrů (kreatinin, Cystatin C, DTPA).

Zevní radioterapie i brachyterapie byla připravována na CT simulátoru, na 5mm řezech, brachyterapie byla plánována také na CT. U teleterapie se konturovaly cílové objemy (nádorový objem - gross tumor volume GTV, klinický cílový objem - clinical target volume CTV a plánovací cílený objem - planning target volume PTV) a rizikové orgány (OAR) (močový měchýř, hlavice femurů, tenké a tlusté střevo a peritoneální dutina). U brachyterapie byl konturován high risk clinical target volume HR CTV a intermediate risk clinical target volume IRCTV a gross tumor volume GTV a orgány v riziku OAR. Ke stanovení objemů GTV byla použita fúze s MRI. V průběhu konturování byla dodržována doporučení mezinárodní komise radiačních jednotek a měření ICRU 50 a 62, a pro radioterapii s modulovanou intenzitou svazku (IMRT) bylo použito ICRU 83. U brachyterapie ICRU 89. Plánování teleterapie bylo prováděno pomocí plánovacího systému PrecisePLAN (Elekta, Stockholm, Sweden). Brachyterapie na plánovacím systému [BrachyVision \(Amedis\)](#). V případě pacientek plánovaných VMAT byl použit plánovací systém Monaco (IMPAC Medical Systems). Všechny plány byly standardně zhodnoceny stran dávkové homogenity, byl vyhodnocen DVH, standardně 95% objemu pokryto 100% dávkou. Byly vyhodnoceny dávky na OAR dle standardů. V průběhu radioterapie byla kontrolována poloha pacienta, cone beam CT bylo prováděno při prvních třech frakcích a pak jedenkrát týdně.

Toxicita léčby byla sledována 1x týdně, byl odebírán krevní obraz, metabolický soubor a moč, k vyhodnocení stupně závažnosti použito hodnocení dle RTOG (84).

V průběhu léčby byly pacientkám spolu se standardními odběry odebrány také vzorky krve na vyšetření citrulinu, neopterinu, kynureninu a tryptofanu a to v týdnu 0,2,4,6 a 8. Výzkumy byly schváleny ústavní etickou komisí a pacienti podepsali informované souhlasy

Zevní radioterapii absolvovaly všechny pacientky v plné dávce bez přerušení. 12 pacientkám byla provedena brachyterapie UVAG 5x6 Gy, 2 měly 4x7 Gy, jen dvě pacientky nedokončily plánovanou BRT 1x7Gy, 4x6 Gy.

Chemoterapie nebyla podána pouze nejstarší 76leté pacientce, pro vysoké N látky, jedna pacientka absolvovala CBDCA, ostatním 14 pacientkám byla podána CDDP od 4 do 7 aplikací s mediánem 5 aplikací.

Všechny pacientky měly gastrointestinální (GIT) toxicitu, jedna grade 3, jedna grade 1 a zbytek grade 2. Čtyři pacientky měli genitourinální (GUS) toxicitu grade 1.

Jedna pacientka, která měla GIT toxicitu grade 3 měla i GUS grade 3 a hematologickou grade 3.

Léčbu pacientky absolvovali během 48 až 56 dní s mediánem 52 dní.

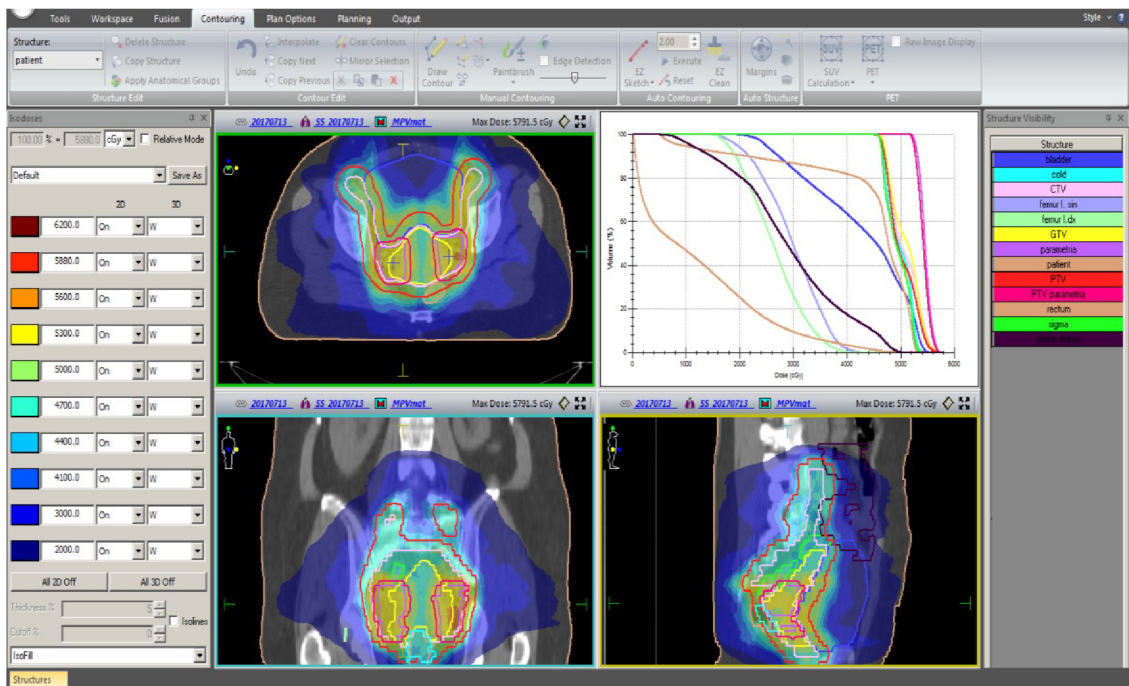
Po ukončení chemoradioterapie byla u 15 pacientek konstatována gynekologickým vyšetřením kompletní odpověď, která byla potvrzena po 3 měsících na MRI. Jen jedna pacientka dosáhla pouze parciální odpovědi.

Po ukončení léčby byly pacientky pravidelně á 3 měsíce sledovány gynekologickým vyšetřením a vaginálním ultrazvukem a za 3 měsíce po ukončení léčby i MRI malé pánve. MRI byla dále prováděna po dobu 3 let á půl roku a následně á rok.

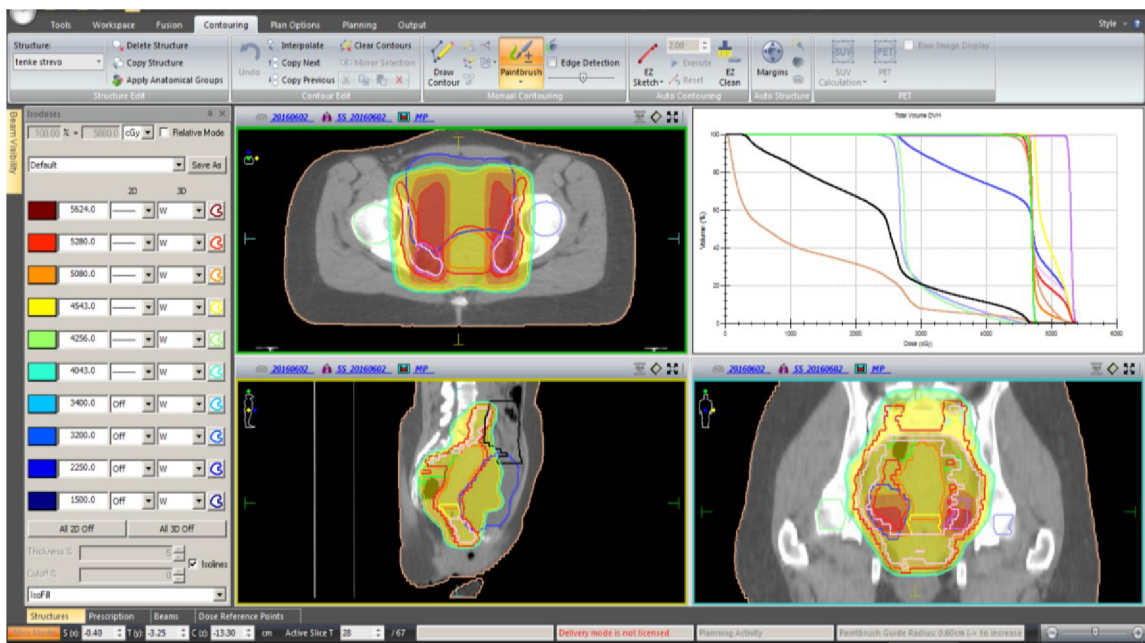
Po léčbě dosud zrecidivovalo 8 pacientek, s mediánem doby do progresu (mDFS) 12 měsíců. (2x meta skeletu, 2x meta plic a 4 pacientky v lymfatických uzlinách). V malé pánvi zrelabovaly 2 pacientky. U jedné byla provedena přední exenterace pánve, ostatní pacientky byly léčeny I.linií léčby. Šest pacientek kombinací CDDP + paclitaxel, čtyři v kombinaci s bevacizumabem. Dvě pacientky kombinací CBDCA + paclitaxel.

Zemřely 4 pacientky s mediánem přežití (mOS)19 měsíců.

Obr.15: VMAT



Obr. 16: 3D CRT



Metody:

Při prvním pohovoru byl u všech pacientek po podpisu informovaného souhlasu stanoven termín odběrů vzorků. Odběry probíhaly v týdnech 0, 2, 4, 6, 8 a 10 od zahájení chemoradioterapie. Byla odebírána venózní krev, vzorky byly centrifugovány (1600 x g po dobu 8 minut při teplotě 16°C), následně separována plazma vzorek byl uchován k dalšímu zpracování při teplotě - 80°C až do analýzy.

Plazmatický citrulin byl stanoven stejně jako je popsáno v práci Dr. Zezulové (138), jak je popsáno (138). Stručně řečeno, 10 μ l vzorků plazmy bylo smícháno se 100 μ l směsí vnitřního standardu (aminokyseliny a acylkarnitiny, nederivatizovaná souprav, Chromsystems, Mnichov, Německo), dále mixováno a centrifugováno (568g, 10min při 4°C). Poté bylo 80 μ l supernatantu přeneseno do 96 jamkových destiček a použito pro přímé injikování do hmotnostního spektrometru k analýze API 400(AB Sciex, Framingham, MA, USA). Citrulin byl měřen v režimu vícenásobného monitorování reakce pod úrovní optimálních parametrů deklusterizačního potenciálu a kolizní energie pro každý hmotnostní přechod. Jednotka rozlišení pro izolaci iontů byla nastavena na hmotnostním spektrometru. Data byla vyhodnocena softwarem Chemoview 2.0 (AB Sciex).

Neopterin byl měřen pomocí komerčně dostupného kitu- Neopterin Elisa Kit (IBL International GmbH, Hamburg, Germany). Při užití automatického mikroprocesoru pro enzymoimmunoassays EVOLIS (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA). Měření bylo prováděno v ISO 15189 akreditované laboratoři. Vlastní proces zpracování vzorku začíná aspirací 110 μ l enzymového konjugátu do špičky, následně je přidáno 20 μ L standardu, kontroly nebo vzorku do každé špičky. Pipetou odebereme celkově 120 μ L mixtury (standardu, kontroly nebo vzorku s enzymovým konjugátem. Přeneseme na destičku. Přidáme mikropipetou 50 μ L antiséra. Následně probíhá inkubace v délce 90 \pm 5 minut, při teplotě 18-25°C ve tmě. Nasaje se supernatant. Destička se proplachuje 6x 300 μ L Buffrem. Dále se pipetou přidá 150 μ L TMB roztoku substrátu (TMB, Buffer, stabilizátor), po sloučení dochází ke vzniku barevné reakce (žlutá – různé intenzity), po další inkubaci asi 10 \pm 1 minuta v teplotě 18-25 °C. Poté je přidán roztok 1M kyseliny sírové = „TMB stop solution“ a následuje měření je prováděno fotometricky (ve 450 nm) 15 minut.

Plazmatický kynurenin a tryptofan byly stanoveny pomocí komerčních kitů (ImmuSmol SAS, Talence France) podle pokynů výrobce

Rozdíly mezi podskupinami byly studovány Mann-Whitney U testem. Rozdíly před a během terapie byly porovnány Wilcoxonovým znaménkovým testem. Korelace byly analyzovány pomocí Spearmanova koeficientu pořadové korelace.

Rozhodnutí o statistické významnosti bylo založeno na hladině p 0,05. Analýzy byly provedeny pomocí softwaru NCSS) Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville, UT, USA).

7. Výsledky

Koncentrace citrulinu se v průběhu léčby měnila. Ve srovnání s hodnotami před léčbou (výchozí hodnota) byla výrazně a statisticky významně snížena při návštěvě 2, 3 a 4. Což je 2, 4 a 6 týdnů po zahájení chemoradioterapie. Ke koncentracím před léčbou se vrátila dva týdny po ukončení terapie (tabulka 4).

Na druhé straně bylo pozorováno významné zvýšení plazmatických koncentrací neopterinu při návštěvě 4 a 5 (v šestém a osmém týdnu od zahájení terapie), se zvýšením hraniční významnosti při návštěvě 2 (ve 2 týdnu od zahájení léčby). S výjimkou snížené poměru kynurenin/tryptofan při návštěvě 3 (4 týdny od zahájení léčby) nebyly pozorovány žádné významné změny koncentrace kynureninu, tryptofanu a poměru kynurenin/tryptofan v průběhu léčby.

Nebyly pozorovány žádné rozdíly v koncentracích zkoumaných biomarkerů mezi podskupinami podle stádia nebo pozitivitu p16 a v průběhu léčby (data nejsou uvedena).

Koncentrace citrulinu významně nekorelovaly s věkem (data nejsou uvedena), ale jak je uvedeno v tabulce 5, byly pozorovány významné korelace mezi věkem a koncentracemi neopterinu na začátku a v průběhu léčby. Byly pozorovány signifikantní korelace mezi koncentracemi neopterinu a sérovými koncentracemi kynureninu a poměrem kynurenin/tryptofan před a v průběhu léčby (tabulka 6).

Nebyly pozorovány žádné významné korelace mezi koncentracemi neopterinu a citrulinu (data nejsou uvedena) a negativní korelace mezi koncentracemi citrulinu a kynureninu a poměrem kynureninu/tryptofanu dosáhla statistické významnosti pouze při návštěvě 2 (dva týdny od zahájení léčby) (tabulka 7).

Obecně byly pozorovány negativní korelace mezi stupněm toxicity a koncentrací neopterinu, kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan, ale tyto korelace dosáhly statistické významnosti pouze u některých návštěv (tabulka 8).

Dále nás zajímalo, zda prodloužení doby terapie nad 52 dní vedlo k horší léčebné odpovědi. Ale to se u našich pacientek nepotvrdilo. Pouze jedna odpověděla jen částečně a u ní byla doba léčby 48 dní. U 4 pacientek, které přesáhly 52 dní byla dosažena kompletní odpověď a ta stále trvá.

Tabulka 4. Koncentrace sledovaných biomarkerů v průběhu léčby

návštěva	1(0)	2(2 týdny)	3(4 týdny)	4(6 týdnů)	5 (8týdnů)
Interval od zahájení radioterapie (dny)	-2±3	15±6	29±8	43±8	58±10
Citrulline (μmol/l)	30.0±8.4	18.2±5.1*	19.8±5.9*	22.3±8.8**	31.6±8.2
Neopterin (μg/l)	2.9±1.6	3.6±1.9§	3.1±1.8	4.8±4.6**	5.3±3.7**
Tryptophan (μg/ml)	15.6±4.7	15.8±4.7	16.7±6.2	15.2±5.6	14.5±4.3
Kynurenine (μg/l)	893±454	868±562	688±383	945±629	973±589
Kynurenine/tryptophan Ratio	61±29	59±42	43±24**	76±87	76±59

*p<0.001;**p<0.01;***p<0.05; §p=0.05 srovnání s návštěvou 1, všechny ostatní rozdíly nebyly statisticky signifikantní ve srovnání s koncentracemi před zahájením léčby

Tabulka 5. Korelace mezi věkem a sérovými koncentracemi neopterinu, kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan, hodnoty před a během trvání léčby

Návštěva, týden	1(0)	2(2)	3(4)	4(6)	5(8)
Neopterin	0.738 (0.001)	0.712 (0.002)	0.560 (0.030)	0.646 (0.009)	0.733 (0.004)
Kynurenine	0.339 (0.199)	0.464 <u>(0.070)</u>	0.406 (0.133)	0.623 (0.013)	0.782 (0.016)
Kynurenine/tryptophan ratio	0.424 (0.101)	0.550 (0.027)	0.553 (0.032)	0.568 (0.027)	0.736 (0.004)

Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu (rs) odpovídající p-hodnotě uvedené v závorkách. Statisticky významné rozdíly jsou zvýrazněny tučným písmem

Tabulka 6. Korelace sérových koncentrací neopterinu a kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan, hodnoty před a v průběhu léčby

Návštěva, týden	1(0)	2(2)	3(4)	4(6)	5(8)
Kynurenine	0.547 (0.028)	0.532 (0.034)	0.268 (0.334)	0.604 (0.017)	0.714 (0.006)
Kynurenine/tryptophan ratio	0.600 (0.014)	0.706 (0.002)	0.532 (0.041)	0.761 (0.001)	0.835 (0.0004)

Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu (rs) odpovídající p-hodnotě uvedené v závorkách. Statisticky významné rozdíly jsou zvýrazněny tučným písmem

Tabulka 7. Korelace mezi koncentrací citrulinu a koncentrací sérového kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan, hodnoty před a v průběhu léčby

Návštěva, týden	1(0)	2(2)	3(4)	4(6)	5(8)
Kynurenine	-0.182 (0.499)	-0.725 (0.002)	-0.235 (0.398)	-0.318 (0.248)	0.247 (0.415)
Kynurenine/tryptofan ratio	-0.247 (0.356)	-0.689 (0.004)	-0.482 <u>(0.069)</u>	-0.404 (0.136)	0.385 (0.194)

Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu (rs) odpovídající p-hodnotě uvedené v závorkách. Statisticky významné rozdíly jsou zvýrazněny tučným písmem

Tabulka 8. Korelace mezi stupněm toxicity a sérovou koncentrací neopterinu a kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan

Návštěva, týden	1(0)	2(2)	3(4)	4(6)	5(8)
Neopterin	-0.428 (0.098)	-0.456 (0.076)	-0.560 (0.030)	-0.322 (0.241)	-0.648 (0.0167)
Kynurenine	-0.519 (0.040)	-0.331 (0.211)	-0.420 (0.120)	-0.376 (0.167)	-0.380 (0.200)
Kynurenine/tryptophan ratio	-0.583 (0.018)	-0.454 (0.078)	-0.425 (0.115)	-0.381 (0.161)	-0.607 (0.028)

Hodnoty Spearmanova korelačního koeficientu (rs) odpovídající p-hodnotě uvedené v závorkách. Statisticky významné rozdíly jsou zvýrazněny tučným písmem

8. Diskuze

Jak se očekávalo, koncentrace citrulinu se v průběhu léčby významně snížily a při poslední návštěvě, dva týdny po ukončení chemoradioterapie, se vrátily k hodnotám před léčbou. Což je v souladu s předchozími studiemi o chemoradiaci (88, 89, 102, 104, 105, 127, 139). Pokles začal 2 týdny po zahájení léčby, kdy bylo střevo ozářeno 20Gy. Naopak k vzestupu dochází od 6 týdne léčby, kdy již pacientky absolvovaly jen brachyterapii. Při brachyterapii byl ozářen jen minimální objem tenkého střeva. Naproti tomu sérové koncentrace neopterinu se později v průběhu léčby zvýšily.

Korelace sérových koncentrací neopterinu, kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan s věkem se očekávaly a byly dokumentovány v mnoha studiích (112, 123, 125, 142-153).

Na rozdíl od předchozí studie u pacientů s karcinomem rekta nebyla patrná žádná korelace mezi koncentracemi neopterinu a citrulinu.

Byla však pozorována významná negativní korelace mezi citrulinem a kynureninem a poměrem kynurenin/tryptofan ihned po zahájení léčby (po dvou týdnech) (89,142,151).

V průběhu pozorování byla zřejmá signifikantní korelace neopterinu s koncentracemi kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan. Což by odpovídalo předpokladu, že tvorbu neopterinu i IDO 1 indukuje intereferon gama.

Na rozdíl od očekávání byl pozorován trend inverzní korelace mezi stupněm toxicity a koncentracemi zánětlivých biomarkerů neopterinu, kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan, který při některých návštěvách dosáhl významnosti. To může naznačovat, že toxicita by také mohla vést k inhibici imunitní odpovědi (např. supresi T lymfocytů), tím možnému eventuálnímu poklesu tvorby interferonu gama a tím nižší produkcí neopterinu i IDO1. Je otázkou, zda imunosupresi na rozdíl od prací s chemoradioterapií u karcinomu rekta, mohla ovlivnit přidaná platina. V některých studiích bylo prokázáno, že platina inhibuje T lymfocyty sleziny(169,170). Přesný mechanismus, ale zůstává spekulativní.

Inverzní korelace pozorovaná mezi koncentracemi kynureninu a poměrem kynurenin/tryptofan na začátku léčby a následnou toxicitou by mohla naznačovat, že

imunitní aktivace by mohla být dokonce protektivní proti následné toxicitě, ale opět to zůstává spekulací.

Další studie by měly toto na první pohled překvapivé zjištění potvrdit a podrobněji zhodnotit.

Citrulin jistě představuje zajímavý biomarker gastrointestinální toxicity. U pacientů léčených cytostatickou chemoterapií nebo ozařováním byl dokumentován pokles koncentrací cirkulujícího citrulinu (89, 105, 106, 154).

Hodnocení intestinální toxicity stále do značné míry závisí na datech získaných anamnesticky od pacienta, která jsou náchylná k subjektivní chybě. Měření citrulinu může představovat jednoduchý test, který by umožnil objektivní posouzení toxicity a efektu intervencí (155).

V tomto pozorování lze spatřovat největší přínos této studie, který ale bude muset být potvrzen v dalších prospektivních studiích na větších kohortách pacientek, než měla současná pilotní studie. Na větších kohortách pacientek bude také moci být spolehlivěji hodnocen případný prediktivní význam citrulinu či biomarkerů zánětlivé odpovědi ve vztahu k pozdější toxicitě léčby.

Současná studie má zjevné slabiny. Za prvé počet subjektů byl omezený a je možné, že některé trendy změn nebo korelací biomarkerů by byly významné s vyšším počtem zkoumaných subjektů. To platí také pro korelace s klinickými parametry, jako je stupeň toxicity, který mohl být ovlivněn změnami pozorovanými u několika jedinců.

Všichni pacienti v této studii reagovali na léčbu, a proto není možné vyhodnotit, zda by zkoumané biomarkery mohly sloužit jako prediktory odpovědi

9. Závěr

Závěrem lze říct, že citrulin představuje u této populace biomarker střevní toxicity. V naší pilotní studii bylo zjištěno, že koncentrace citrulinu klesají časně a koncentrace neopterinu se zvyšují pozdě v průběhu chemoradiace u pacientek s cervikálním karcinomem.

Pokles citrulinu je reakcí na ozáření střevní sliznice, ale z naší studie nemůžeme potvrdit vztah mezi objemem ozářeného střeva a závažností gastrointestinální toxicity, protože pouze jedna pacientka měla gastrointestinální toxicitu grade 3.

Předpokládali jsme, že dojde ke korelaci mezi hladinou citrulinu a neopterinu. Vycházeli jsme z předchozích studií u karcinomu rekta (138), kde autoři předestřeli, že aktivace imunitního systému může způsobit poškození a změny střevních funkcí, stejně jako změny střevních funkcí mohou způsobit aktivaci imunitního systému. To by mělo vést k poklesu hladiny citrulinu a ke zvýšení hladiny neopterinu. Na našem malém souboru se toto nepotvrdilo. Je otázkou, zda na to měla vliv přidaná platina, jak jsem zmiňovala v diskuzi. Bohužel v tak malém souboru se jedná jen o spekulace. Ale vzestup neopterinu v závěru léčby odpovídá studiím s neopterinem u chemoradioterapie karcinomů hlavy a krku, kde ke statisticky signifikantnímu zvýšení neopterinu docházelo až v průběhu šestého týdne (125).

Neopterin, IDO1, kynurenin a tryptofan jsou nezávislými biomarkery, které odrážejí imunitní a zánětlivou aktivaci a stojí za další zkoumání. A to nejen z hlediska predikování průběhu onemocnění a toxicity léčby, ale také jako možný léčebný cíl viz studie s inhibitory IDO(128).

10. Tabulky

Tabulka.1 Prognóza pětiletého přežití u karcinomu děložního hrdla podle jednotlivých stádií (DiSaia,2007)

Tabulka 2. Histologická klasifikace epitelových a smíšených epitelových a mezenchymálních nádorů děložního hrdla (WHO 2014) (13)

Tabulka 3. Srovnání kritérií hodnocení toxicity onkologické léčby

Tabulka 4. Koncentrace sledovaných biomarkerů v průběhu léčby

Tabulka 5. Korelace mezi věkem a sérovými koncentracemi neopterinu, kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan, hodnoty před a během trvání léčby

Tabulka 6. Korelace sérových koncentrací neopterinu a kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan, hodnoty před a v průběhu léčby

Tabulka 8. Korelace mezi stupněm toxicity a sérovou koncentrací neopterinu a kynureninu a poměru kynurenin/tryptofan

11. Seznam obrázků

Obr. 1: Srovnání incidence v ČR s ostatními zeměmi.

Graf zobrazuje srovnání incidence C 53 v jednotlivých zemích

Obr. 2: Časový vývoj hrubé incidence karcinomu děložního čípku

Graf zobrazuje časový vývoj hrubé incidence (počet nových případů na 100 000 osob).

Obr. 3: Zastoupení klinických stádií v čase

Graf zobrazuje časový vývoj % zastoupení klinických stádií. Klinická stádia jsou určována na základě TNM klasifikace v době stanovení diagnózy pacienta

Obr. 4: Zastoupení klinických stádií

Graf zobrazuje zastoupení klinických stádií

Obr. 5: Věková struktura pacientů

Graf zobrazuje věkovou strukturu pacientů s karcinomem děložního čípku a zemřelých na tuto diagnózu

Obr. 6 : typy exenteračních výkonů

Obr. 7 : Citrulin – strukturální vzorec

Obr.8: Neopterin- strukturální vzorec

Obr.9: Imunitní odpověď a tvorba neopterinu

Obr.10: Koncentrace neopterinu (průměr ± standardní odchylka a 97,5. percentil) v tělních tekutinách zdravých jedinců

Obr.11: Neopterin u maligních onemocnění- frekvence výskytu zvýšené hladiny neopterinu(%) (125)

Obr.12: Tryptofan (2S)-2-amino-3-(1H-indol-3-yl)propanová kyselina -strukturální vzorec (<https://cs.wikipedia.org/wiki/Tryptofan>)

Obr.13: Katabolismus tryptofanu(Schéma katabolismu tryptofanu podél kynureninové dráhy (podle Orabona a Grohmana (166), modifikováno)

Obr. 14: Kynurenin- (2S) -2-amino-4-(2-aminofenyl)-4-oxabutanová kyselina (<https://en.wikipedia.org/wiki/Kynurenine>)

Obr.15: VMAT

Obr. 16: 3D CRT

12. Seznam zkratek

3D CRT - three-dimensional conformal radiation therapy

BEV – Beam Eye View

CIN – cervikální intraepiteliální neoplazie

CBCT – cone beam CT

CBDCA – Carboplatin

CDDP- Cis platina

CPS – combined positive score

Cs – Cesium

CT – Computed Tomography

CTV – Clinical Target Volume

DFS – Disease Free Survival

DMCL – Dynamic Multileaf Collimator

d MMR - deficient mismatch repair

DNA – Deoxyribonucleic Acid

DRR - Digitálně rekonstruované radiografy

EPID - electronic portal imaging device

EQD2 – ekvivalentní dávka 2 Gy

ESGO-The European Society of Gynaecological Oncology

ESTRO – European Society for Radiotherapy and Oncology

FIGO – International Federation of Gynecology and Obstetrics

GIT – gastrointestinální

GTV - Gross Tumor Volume - nádorový objem

GOG – Gynecologic Oncology Group

HPV - Human papilloma virus

HR HPV- High risk human papilloma virus

CHRT - chemoradioterapie

ICRU – International Commission on Radiation Units and Measurements

IMRT - intensity modulated radiotherapy

IGRT - Image-guided radiation therapy

LEEP – Loop Electrosurgical Excision

LVSI- lymfovaskulární invaze

mOS- medián overall survival

MRI – magnetic resonance imaging
MSI -H - microsatellite instability-high
MV – megavoltážní
NCCN - The National Comprehensive Cancer Network
OAR – organs at risk
ORR – overall response rate
OS – Overall Survival
PDL 1 - Programmed death-ligand 1
PET CT – pozitronová emisní tomografie v kombinaci s počítačovou tomografií
PFS – Progression Free Survival
RR – Response Rate SEER – Epidemiology, and End Results Database
SCC – spinocelulární karcinom
SLU – sentinelová lymfatická uzlina
STD – Sexually Transmitted Disease
TTR – Time To Relaps
URZ - Uzavřené radionuklidové zářiče
UZ - ultrazvuk
WHO - World Health Organization
VMAT - Volumetric Modulated Arc Therapy

13. Seznam použité literatury:

- 1) Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394–424.
- 2) [https://www.svod.cz/\(citace 1.9.2021\)](https://www.svod.cz/(citace 1.9.2021))
- 3) DiSaia P, Creasman W. *Clinical gynecologic Oncology 7th Edition*, 2007, Hardcover ISBN: 9780323039789,
- 4) Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002; 55: 244–265.
- 5) Nahmias AJ, Naib ZM, Josey WE. Epidemiological studies relating genital herpetic infection to cervical carcinoma. *Cancer Res* 1974; 34:1111–1117.
- 6) Wright TC, Ellerbrock TV, Chiasson MA, et al. Cervical intraepithelial neoplasia in women infected with human immunodeficiency virus: prevalence, risk factors, and validity of Papanicolaou smears. *Obstet Gynecol* 1994; 84:591–597.
- 7) Cibula D, Petruželka L et al. *Onkogynekologie*, Grada 2010, ISBN-13:978-80-247-2665-6, EAN: 9788024726656
- 8) Cibula D, Potter R, Planchamp F et al *The European Society of Gynaecological Oncology/European Society for Radiotherapy and Oncology/European Society of Pathology Guidelines for the Management of Patients With Cervical Cancer*, *International Journal of Gynecological Cancer* 2018; 28: 4
- 9) Mouková L, Nenutil R, Fabián P, Chovanec J. Prognostické faktory karcinomu děložního hrdla. *Klin Onkol* 2013; 26(2): 83–90. Doi: DOI: 10.14735/amko201383.
- 10) Rob L, Tachezy R, Robová H. Cervical cancer: what is the optimal g efor routine testing, *Future medicine* 2015;11(8)
- 11) Mitchell DG, Snyder B, Coakley F et al. Early invasive cervical cancer: MRI and CR'T predictor of lymphatic metastases in the ACRIN 6651/GOG 183 intergroup study. *Gynecol Oncol* 2009;95-103
- 12) Grigsby PW, Siegel BA, Dehdashti F. Lymph node staging by positron emission tomography in patients with carcinoma of the cervix. *J Clin Oncol* 2001; 19:3745–3749.
- 13) [https://www.uzis.cz/index.php?pg=registry-sber-dat--klasifikace--tnm-klasifikace-zhoubnych-novotvaru\(citace 1.9.2021\)](https://www.uzis.cz/index.php?pg=registry-sber-dat--klasifikace--tnm-klasifikace-zhoubnych-novotvaru(citace 1.9.2021))
- 14) <http://www.patologie.info/soubory/all/Guideline%20-%20Prekancer%20a%20karcinomy%20d%C4%Blo%C5%BE%C3%ADho%20hrdla.pdf> (citace 1.9.2021)

- 15) Chovavanec M, Náležinská M. Overview of the diagnostics and treatment of the cervical cancer, *Onkologie* 2014; 8(6): 269-274
- 16) Querleu D, Morrow CP. Classification of radical hysterectomy. *Lancet Oncol.* 2008; 9(3): 297–303.
- 17) Friedlander M, Grogan M, U.S. Preventative Services Task Force, Guidelines for the treatment of recurrent and metastatic cervical cancer. *Oncologist.* 2002;7(4):342.
- 18) <https://www.uptodate.com/contents/management-of-recurrent-or-metastatic-cervical-cancer> (citace 1.9.2021)
- 19) Gadducci A, Tana R, Cosio S, Cionini L. Treatment options in recurrent cervical cancer (Review). *Oncol Lett.* 2010 Jan;1(1):3-11. doi: 10.3892/ol_00000001. Epub 2010 Jan 1. PMID: 22966247; PMCID: PMC3436344.
- 20) Maneo A, Landoni F, Cormio G, Colombo A, Mangioni C. Radical hysterectomy for recurrent or persistent cervical cancer following radiation therapy. *SOInt J Gynecol Cancer.* 1999;9(4):295.
- 21) Sardain H, Lavoue V, Redpath M, et al. Curative pelvic exenteration for recurrent cervical carcinoma in the era of concurrent chemotherapy and radiation therapy. A systematic review. *Eur J Surg Oncol.* 2015;41(8):975–85.
- 22) Estape R, Angioli R. Surgical management of advanced and recurrent cervical cancer. *Semin Surg Oncol* 1999; 16:236-241.
- 23) Ruth-Sahd LA, Zulkovsky KD. Cervical cancer: caring for patients undergoing total pelvic exenteration. *Crit Care Nurse* 1999; 19:46-57
- 24) <https://www.chirurgietn.cz/sluzby/ordinacni-hodiny/pokrocily-kolorektalni-karcinom-pelvicke-exenterace/> (citace 1.9.2021)
- 25) Cibula D, Babjuk M, Mareš P et al Exenterace pánve *Klin Onkol* 2005; 18(5): 184-187.
- 26) http://www.onkogynekologie.com/wp-content/uploads/2011/03/Guideline_C51-2013.pdf (citace 1.9.2021)
- 27) Salvo G, Ramirez PT, Levenback CF, Munsell MF, Euscher ED, Soliman PT, Frumovitz M Sensitivity and negative predictive value for sentinel lymph node biopsy in women with early-stage cervical cancer. *Gynecol Oncol.* 2017 Apr;145(1):96-101. doi: 10.1016/j.ygyno.2017.02.005.
- 28) Kim JH, Kim DY, Suh DS, Kim JH, Kim YM, Kim YT, Nam JH. The efficacy of sentinel lymph node mapping with indocyanine green in cervical cancer. *World J Surg Oncol.* 2018 Mar 9;16(1):52. doi: 10.1186/s12957-018-1341-6. PMID: 29523141
- 29) Paley PJ, Veljovich DS, Press JZ, Isacson C, Pizer E, Shah C. Am J A prospective investigation of fluorescence imaging to detect sentinel lymph nodes at robotic-assisted endometrial cancer staging. *Obstet Gynecol.* 2016 Jul;215(1): 117.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2015.12.046
- 30) Plotti F, Messina G, Terranova C, Montera R, De Cicco Nardone C, Guzzo F, Luvero D, Gatti A, Schirò T, Rossini G, De Luca C, Ficarola F, Feole L, Angioli R. Sentinel lymph node in cervical cancer: a literature review on the use of conservative surgery techniques. *Minerva Ginecol.* 2020 Dec;72(6):391-398. doi: 10.23736/S0026-4784.20.04634-1.

- 31) <http://hdl.handle.net/11025/13864> (citace 1.9.2021)
- 32) Takahashi S. Conformation radiotherapy: Rotation techniques as applied to radiography and radiotherapy of cancer. *Acta Radiol.* 1965; 242(Suppl):1-42.
- 33) Umegaki Y. Dose distribution in the moving field radiotherapy. *Nippon Acta Radiol.* 1960; 20:2191-2209
- 34) McShan DL, Silverman A, Lanza D, Reinstein LE, Glicksman AS. A computerized three-dimensional treatment planning system utilizing interactive colour graphics. *Br. J. Radiol.* 1979; 52:478-481.
- 35) ŠLAMPA, Pavel. PETERA, Jiří a kolektiv. *Radiační onkologie*. Praha: Galén a Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2007. První vydání. ISBN 978-80-7262-469-0 (Galén). ISBN 978-80-246-1443-4 (Karolinum).
- 36) Goldner G, Bombosch V, Geinitz H, et al. Moderate Risk-Adapted Dose Escalation with Three-Dimensional Conformal Radiotherapy of Localized Prostate Cancer from 70 to 74 Gy. First Report on 5-Year Morbidity and Biochemical Control from a Prospective Austrian-German Multicenter Phase II Trial. *Strahlenther Onkol* 2009; 185:94–100.
- 37) Weiss E, Richter S, Krauss T, et al. Conformal radiotherapy planning of cervix carcinoma: differences in the delineation of the clinical target volume. A comparison between gynaecologic and radiation oncologists. *Radiother Oncol* 2003; 67:87-95.
- 38) Yamazaki A, Shirato H, Nishioka T, et al. Reduction of late complications after irregularly shaped four-field whole pelvicrotherapy using computed tomographic simulation compared with parallel-opposed whole pelvic radiotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2000; 30:180-4.
- 39) Klaclová T, Přehled principů moderních metod v radioterapii, 2005 2. ročník semináře o brachyterapii a technice IMRT, abstrakt 020
- 40) Nag S , Principles and practice of brachytherapy, Armon 1997 ISBN 0-87993-654-1
- 41) PETERA, Jiří. *Moderní radioterapeutické metody*. V. díl, Brachyterapie. 1. vydání. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1998. ISBN 80-7013-266-3.
- 42) Gerbault R, Pötter A et al, *The GEC ESTRO Handbook of Brachytherapy* 2002
- 43) Soumarová R, Homola L, *Intersticiální brachyterapie* 2006, ISBN: 80-210-4107-2
- 44) Šlampa P, Petera J *Radiační onkologie*, 2007, ISBN 8072624690
- 45) Hanks GE, Herring DF, Kramer S. Patterns of care outcome studies. results of the national practice in cancer of the cervix. *Cancer* 1983; 51:959–967.
- 46) Montana GS, Fowler WC, Varia MA, et al. Analysis of results of radiation therapy for stage II carcinoma of the cervix. *Cancer* 1985; 55(5):956–962
- 47) Lanciano RM, Martz K, Coia LR, et al. Tumor and treatment factors improving outcome in stage III-B cervix cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 20:95–100.

- 48) Lanciano RM, Won M, Coia L, et al. Pretreatment and treatment factors associated with improved outcome in squamous cell carcinoma of the uterine cervix: a final report of the 1973 and 1978 patterns of care studies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 20:667–676.
- 49) Montana GS, Martz KL, Hanks GE. Patterns and sites of failure in cervix cancer treated in the USA in 1978. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 20:87–93.
- 50) Haie-Meder C, Pötter R, van Limbergen E, et al. Recommendations from the Gynaecological (GYN) GEC ESTRO Working Group: Concepts and terms in 3D image based 3D-treatment planning in cervix cancer brachytherapy with emphasis on MRI assessment of GTV and CTV. *Radiother Oncol* 2004;74: 235– 245.
- 51) Pötter R, Haie-Meder C, vanLimbergen E, et al. Recommendations from gynaecological (GYN) GEC ESTRO working group (II): Concepts and terms in 3D image-based treatment planning in cervix cancer brachytherapy-3D dose-volume parameters and aspects of 3D-image-based anatomy, radiation physics, radiobiology. *Radiother Oncol* 2006; 78:67–77.
- 52) Green JA, Kirwan JM, Tierney JF, et al. Survival and recurrence after concomitant chemotherapy and radiotherapy for cancer of the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2001; 358(9284): 781–786.
- 53) Lukka H, Hirte H, Fyles A, et al. Concurrent Cisplatin-based Chemotherapy plus Radiotherapy for Cervical Cancer - a Meta-analysis. *Clinical Oncology* 2002; 14: 203–212.
- 54) Sirák I Systémová terapie v léčbě karcinomu děložního hrdla. *Onkologie* 2017; 11(2): 78–82
- 55) Kim HS, Sardi JE, Katsumata N, et al. Efficacy of neoadjuvant chemotherapy in patients with FIGO stage IB1 to IIA cervical cancer: an international collaborative meta-analysis. *Eur J Surg Oncol* 2013; 39: 115–124.
- 56) Gong L, Lou JY, Wang P, et al. Clinical evaluation of neoadjuvant chemotherapy followed by radical surgery in the management of stage IB2-IIB cervical cancer. *Int J Gynaecol Obstet* 2012; 117: 23–26.
- 57) Eddy GL, Bundy BN, Creasman WT, et al. Treatment of ("bulky") stage IB cervical cancer with or without neoadjuvant vincristine and cisplatin prior to radical hysterectomy and pelvic/ para-aortic lymphadenectomy: a phase III trial of the gynecologic oncology group. *Gynecol Oncol* 2007; 106: 362–369.
- 58) Rydzewska L, Tierney J, Vale CL, Symonds PR. Neoadjuvant chemotherapy plus surgery versus surgery for cervical cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2010
- 59) Robova H, Rob L, Halaska MJ, et al. High-dose density neoadjuvant chemotherapy in bulky IB cervical cancer. *Gynecol Oncol* 2013; 128: 49–53
- 60) Sirák I, Petera J, Odrážka K, et al. Význam intenzity chemoterapie v konkomitantní chemoradioterapii lokálně pokročilého karcinomu čípku děložního. *Česká gynekologie* 2006; 4: 308–311.

- 61) Sirák I, Petera J, Zoul Z. The Influence of Cisplatin Dose upon Survival in Concurrent Chemoradiotherapy of Locally Advanced Cervical Carcinoma with Weekly Cisplatin. *Acta Medica* 2008; 51(2): 95–99.
- 62) Sirák I, Kašaová L, Vošmik M, et al. Technika IMRT v léčbě gynekologických malignit. *Čes gynek* 2010; 75(3): 177–181.
- 63) Mell LK, Sirák I, Wei L, et al. Bone marrow-sparing intensity modulated radiation therapy with concurrent cisplatin for stage IB-IV cervical cancer: An international multi-center phase II clinical trial (Intertecc-2). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017; 97(3): 536–545.
- 64) Peters WA, Liu PY, Barrett RJ, et al. Concurrent chemotherapy and pelvic radiation therapy compared with pelvic radiation therapy alone as adjuvant therapy after radical surgery in high-risk early-stage cancer of the cervix. *J Clin Oncol* 2000; 18(8): 1606–1613.
- 65) <https://www.uptodate.com/contents/management-of-recurrent-or-metastatic-cervical-cancer> (citace 1.9.2021)
- 66) <https://www.fnhk.cz/onko/standardy> (citace 15.10.2021)
- 67) https://www.nccn.org/login?ReturnURL=https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cervical.pdf (citace 15.10.2021)
- 68) <https://guidelines.esgo.org/media/2018/04/Cibula-et-al-2018.pdf> (citace 1.9.2021)
- 69) Dutta S, Nguyen NP, Vock J, Kerr C, Godinez J, Bose S, et al., International Geriatric Radiotherapy Group. Image-guided radiotherapy and brachytherapy for cervical cancer. *Front Oncol*. 2015;5:64.
- 70) Liberman D, Mehus B, Elliott SP. Urinary adverse effects of pelvic radiotherapy. *Transl Androl Urol*. 2014;3(2):186–95.
- 71) Hernández-Moreno A, Vidal-Casariago A, Calleja-Fernández A, Kyriakos G, Villar-Taibo R, Urioste-Fondo A, et al. Chronic enteritis in patients undergoing pelvic radiotherapy: prevalence, risk factors and associated complications. *Nutr Hosp*. 2015;32(5):2178–83
- 72) Roszak A, Wareńczak-Florczak Z, Bratos K, Milecki P. Incidence of radiation toxicity in cervical cancer and endometrial cancer patients treated with radiotherapy alone versus adjuvant radiotherapy. *Rep Pract Oncol Radiother*. 2012;17(6):332–8.
- 73) Kuku S, Fragkos C, McCormack M, Forbes A. Radiation-induced bowel injury: the impact of radiotherapy on survivorship after treatment for gynaecological cancers. *Br J Cancer*. 2013;109(6):1504–12.
- 74) Qin Q, Huang Q, Zhong Q, Fan X, Chen D, Wang L. Clinical risk factors for late intestinal toxicity after radiotherapy: a systematic review protocol. *Syst Rev*. 2013;2:39.

- 75) Meng XY, Liao Y, Liu XP, Li S, Shi MJ, Zeng XT. Concurrent cisplatin-based chemoradiotherapy versus exclusive radiotherapy in high-risk cervical cancer: a meta-analysis. *Onco Targets Ther.* 2016;9:1875–88
- 76) Klenner P, *Klinická onkologie*, Galén 2002, ISBN 8072621513
- 77) Prado CMM, Antoun S, Sawyer MB, Baracos VE. Two faces of drug therapy in cancer: drug related lean tissue loss and its adverse consequences to survival and toxicity. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2011;14:250-254.
- 78) Antoun S, Baracos VE, Birdsell L, et al. Low body mass index and sarcopenia associated with dose-limiting toxicity of sorafenib in patients with renal cell carcinoma. *Ann Oncol* 2010; 21:1594-1598.
- 79) Prado CM, Baracos VE, McCargar LJ, et al. Body composition as an independent determinant of 5- fluorouracil -based chemotherapy toxicity. *Clin Cancer Res* 2007; 13:3264-3268.
- 80) Mošnová V, Šachlová M, Benešová V, Holečková P, Maňásek V, et al. Nutriaction-nutriční screening v onkologických ambulancích. 2011 XXXV. Brněnské onkologické dny. Poster. Číslo abstraktu: 212 p
- 81) Lopes JP, et al. Nutritional status assessment in colorectal cancer patients. *Nutr Hosp* 2013;28(2):412-418
- 82) Barret, et al. Cancer cachexia affects treatment toxicity in metastatic colorectal cancer patients.
- 83) https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/CTCAE_v5_Quick_Reference_5x7.pdf 24-33 (citace 1.9.2021)
- 84) Cox JD, Stetz J, Pajak TF. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995 Mar 30;31(5):1341-6. doi: 10.1016/0360-3016(95)00060-C. PMID: 7713792.
- 85) Ree AH, Meltzer S, Flatmark K, Dueland S, Kalanxhi E. Biomarkers of treatment toxicity in combined-modality cancer therapies with radiation and systemic drugs: study design, multiplex methods, molecular networks. *Int J Mol Sci.* 2014;15(12):22835-22856.
- 86) Vinnikov V, Hande MP, Wilkins R, Wojcik A et al, Prediction of the Acute or Late Radiation Toxicity Effects in Radiotherapy Patients Using Ex Vivo Induced Biodosimetric Markers: A Review *J Pers Med.* 2020 Dec; 10(4): 285
- 87) Lacombe, J., Brengues, M., Mangé, A. et al. Quantitative proteomic analysis reveals AK2 as potential biomarker for late normal tissue radiotoxicity. *Radiat Oncol* 14, 142 (2019). <https://doi.org/10.1186/s13014-019-1351-8>
- 88) Zezulová M, Bartoušková M, Hlídková E, Adam T, Kujovská Krčmová L, et al Citrulline as a biomarker of gastrointestinal toxicity in patients with rectal carcinoma treated with chemoradiation. *Clin Chem Lab Med.* 2016 Feb;54(2):305-14. doi: 10.1515/cclm-2015-0326. PMID: 26167980

- 89) van Vliet MJ, Tissing WJ, Rings EH, Koetse HA, Stellaard F, Kamps WA, de Bont ES. Citrulline as a marker for chemotherapy induced mucosal barrier injury in pediatric patients. *Pediatr Blood Cancer*. 2009 Dec 15;53(7):1188-94. doi: 10.1002/pbc.22210. PMID: 19688831.
- 90) PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 9750, Citrulline; [cited 2021 Oct 30]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Citrulline>
- 91) Nos2- Nitric Oxide Synthase [online]. Uniprot Consortium [cit. 2015-02-10].
- 92) FRAGKOS, Konstantinos C.; FORBES, Alastair. Was citrulline first a laxative substance? The truth about modern citrulline and its isolation. *Nihon Ishigaku Zasshi*. [Journal of Japanese History of Medicine]. September 2011, s. 275–292.
- 93) FEARON, William Robert. The Carbamido Diacetyl Reaction: A Test For Citrulline. *Biochemical Journal*. 1939, s. 902–907
- 94) Crenn P, Messing B, Cynober L. Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clin Nutr* 2008; 27: 328–339.
- 95) Oliverius M, Kudla M, Baláž P, Valsamis A et al Hladina plazmatického citrulinu – spolehlivý neinvazivní ukazatel množství funkčních enterocytů *Lék. čes.* 2010; 149: 160-162
- 96) David, AI, Gaynor, JJ, Zis, PP An association of lower serum citrulline levels within 30 days of acute rejection in patients following small intestine transplantation. *Transplant Proc* 2006; 38: 1731–1732.
- 97) Crenn, P, Vahedi, K, Lavergne-Slove, A Plasma citrulline: A marker of enterocyte mass in villous atrophy-associated small bowel disease. *Gastroenterology* 2003; 124: 1210–1219.
- 98) Blasco Alonso, J, Serrano Nieto, J, Navas Lopez, VM Plasma citrulline as a marker of loss of enterocitary mass in coeliac disease in childhood [article in Spanish]. *Nutr Hosp* 2011; 26: 807–813
- 99) Fragkos KC, Forbes A. Citrulline as a marker of intestinal function and absorption in clinical settings: A systematic review and meta-analysis *United European Gastroenterology Journal* 2018, Vol. 6(2) 181–191
- 100) Lutgens LC, Blijlevens NM, Deutz NE, Donnelly JP, Lambin P, de Pauw BE. Monitoring myeloablative therapy-induced small bowel toxicity by serum citrulline concentration: a comparison with sugar permeability tests. *Cancer*. 2005 Jan 1;103(1):191-9. doi: 10.1002/cncr.20733. PMID: 15573372.
- 101) Blijlevens NM, Lutgens LC, Schattenberg AV, Donnelly JP. Citrulline: a potentially simple quantitative marker of intestinal epithelial damage following myeloablative

- therapy. *Bone Marrow Transplant.* 2004 Aug;34(3):193-6. doi: 10.1038/sj.bmt.1704563.PMID: 15170165
- 102) Van der Velden WJ, Herbers AH, Bruggemann RJ, Feuth T, Donnelly JP, Blijlevens NM. Citrulline and albumin as biomarkers for gastrointestinal mucositis in recipients of hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48:977–81.
- 103) Barzał JA, Szczylik C, Rzepecki P, Jaworska M, Anuszewska E. Plasma citrulline level as a biomarker for cancer therapy-induced small bowel mucosal damage. *Acta Biochim Pol.* 2014;61(4):615-31.
- 104) Cem Onal, Ayse áskok, Birsel Unal, Gungor Arslan, Aydin Yavuz, Erkan Topkan & Melek Yavuz (2011) Plasma citrulline levels predict intestinal toxicity in patients treated with pelvic radiotherapy, *Acta Oncologica*, 50:8, 1167-1174, DOI: 10.3109/0284186X.2011.584557
- 105) Lutgens LC, Deutz N, Granzier-Peeters M, Beets-Tan R, De Ruyscher D, Gueulette J, Cleutjens J, Berger M, Wouters B, von Meyenfeldt M, Lambin P Plasma citrulline concentration: a surrogate end point for radiation-induced mucosal atrophy of the small bowel. A feasibility study in 23 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004 Sep 1;60(1):275-85. doi: 10.1016/j.ijrobp.2004.02.052.PMID: 15337566
- 106) Jakobsson, Sofie et al. "Exploring a link between fatigue and intestinal injury during pelvic radiotherapy." *The oncologist* 2010; 15,9: 1009-15. doi:10.1634/theoncologist.2010-0097
- 107) Melichar, Bohuslav. "Laboratory medicine and medical oncology: the tale of two Cinderellas" *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 2013;51(1): 99-112. <https://doi.org/10.1515/cclm-2012-0496>
- 108) Melichar B, Studentová H, Kalabova H, et al. Predictive and prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy. *Anticancer Res* 2014;34:1115-25.
- 109) Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:105-13. 10.1200/JCO.2009.23.7370
- 110) Absenger G, Szandera J, Pichler M, et al. A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts clinical outcome in stage II and III colon cancer patients. *Br J Cancer* 2013;109:395-400. 10.1038/bjc.2013.346
- 111) Melichar B, Spisarová M, Bartoušková M, Krčmová LK, Javorská L, Študentová H. Neopterin as a biomarker of immune response in cancer patients. *Ann Transl Med.* 2017;5(13):280. doi:10.21037/atm.2017.06.29
- 112) Huber C, Batchelor JR, Fuchs D, et al. Immune response-associated production of neopterin. Release from macrophages primarily under control of interferon-gamma. *J Exp Med* 1984;160:310-6. 10.1084/jem.160.1.310

- 113) Friberg M, Jennings R, Alsarraj M, et al. Indoleamin 2,3- dioxygenase contributes to tumor cell evasion of T cell-mediated rejection. *Int J Cancer* 2002;101:151-5. 10.1002/ijc.10645
- 114) Wachter H, Fuchs D, Hausen A, et al. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application. *Adv Clin Chem* 1989; 27:81-141. 10.1016/S0065-2423(08)60182-1
- 115) Munn DH, Zhou M, Attwood JT, et al. Prevention of allogeneic fetal rejection by tryptophan catabolism. *Science* 1998; 281:1191-3. 10.1126/science.281.5380.1191
- 116) Rembold H, Gyure WL. Biochemistry of the pteridines. *Angew Chem Int Ed Engl.* 1972 Dec;11(12):1061-72. doi: 10.1002/anie.197210611. PMID: 4630475.
- 117) Reibnegger, D. Fuchs, A. Hausen, E. Schmutzhard, E.R. Werner, H. Wachter, The dependence of cell-mediated immune activation in malaria on age and endemicity, *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1987;81(5): 729, [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(87\)90009-5](https://doi.org/10.1016/0035-9203(87)90009-5)
- 118) B. Widner¹, F. Leblhuber², and D. Fuchs¹ Increased neopterin production and tryptophan degradation in advanced Parkinson's disease *J Neural Transm* (2002) 109: 181–189
- 119) Fuchs D, Weiss G, Reibnegger G, Wachter H. The Role of Neopterin as a Monitor of Cellular Immune Activation in Transplantation, Inflammatory, Infectious, and Malignant Diseases, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 1992, 29:3-4, 307-344, DOI: 10.3109/10408369209114604
- 120) von Ingersleben G, Souchon R, Fitzner R. Serum neopterin levels in lung and breast cancer patients undergoing radiotherapy and/or chemotherapy. *Int J Biol Markers* 1988; 3:135–9.
- 121) Mergancová J, Javorská L, Šiller J, Sákra L, Mergancová J, Solichová D et al. Concentrations of neopterin, kynurenine and tryptophan in wound secretions of patients with breast cancer and malignant melanoma: a pilot study. *Pteridines* 2017;28(3-4):205-211 <https://doi.org/10.1515/pterid-2017-0018>
- 122) Murr C, Fuith LC, Widner B, Wirleitner B, Baier-Bitterlich G, Fuchs D. Increased neopterin concentrations in patients with cancer: indicator of oxidative stress? *Anticancer Res.* 1999 May-Jun;19 (3 A):1721-8. PMID: 10470106.
- 123) http://www.neopterin.net/neopterin_e.pdf (citace 15.10.2021)
- 124) Melichar B, et al. Neopterin as an indicator of immune activation and prognosis in patients with gynecological malignancies *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16:240-52.
- 125) HOLEČKOVÁ, Petra. Systémová zánětlivá a imunitní odpověď při léčbě nádorových onemocnění. Hradec Králové, 2014. Dizertační práce. Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové, Klinika onkologie a radioterapie. Vedoucí práce Melichar, Bohuslav

- 126) WHITFORD, David. *Proteins: Structure and Function*. 1. vyd. [s.l.]: Wiley, 2005. 542 s. Dostupné online. ISBN 978-0471498940. Kapitola 2. Amino acids: the building blocks of proteins, s. 44–45.
- 127) Ye Z, Yue L, Shi J, Shao M, Wu T. Role of IDO and TDO in Cancers and Related Diseases and the Therapeutic Implications. *J Cancer*. 2019;10(12):2771-2782. Published 2019 Jun 2. doi:10.7150/jca.31727
- 128) Werner ER, Bitterlich G, Fuchs D. et al. Human macrophages degrade tryptophan upon induction by interferon-gamma. *Life Sci*. 1987;41:273–80.
- 129) Ferns DM, Kema IP, Buist MR. et al. Indoleamine-2,3- dioxygenase (IDO) metabolic activity is detrimental for cervical cancer patient survival. *Oncoimmunology*. 2015;4:e981457.
- 130) Prendergast GC, Malachowski WJ, Mondal A. et al. Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Its Therapeutic Inhibition in Cancer. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2018;336:175–203.
- 131) Salazar F, Awuah D, Negm OH. et al. The role of indoleamine 2,3- dioxygenase-aryl hydrocarbon receptor pathway in the TLR4-induced tolerogenic phenotype in human DCs. *Sci Rep*. 2017;7:43337.
- 132) Ogiso H, Ito H, Kanbe A. et al. The Inhibition of Indoleamine 2,3-Dioxygenase Accelerates Early Liver Regeneration in Mice After Partial Hepatectomy. *Dig Dis Sci*. 2017;62:2386–96.
- 133) Nishi M, Yoshikawa K, Higashijima J. et al. The Impact of Indoleamine 2,3- dioxygenase (IDO) Expression on Stage III Gastric Cancer. *Anticancer Res*. 2018;38:3387–92.
- 134) Lewis-Ballester A, Forouhar F, Kim SM. et al. Molecular basis for catalysis and substrate-mediated cellular stabilization of human tryptophan 2,3- dioxygenase. *Sci Rep*. 2016;6:35169
- 135) Ogiso H, Ito H, Kanbe A. et al. The Inhibition of Indoleamine 2,3-Dioxygenase Accelerates Early Liver Regeneration in Mice After Partial Hepatectomy. *Dig Dis Sci*. 2017;62:2386–96.
- 136) Munn DH, Mellor AL. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses. *Trends Immunol*. 2013;34:137–43
- 137) Grant RS. Indoleamine 2,3-Dioxygenase Activity Increases NAD⁺ Production in IFN-gamma-Stimulated Human Primary Mononuclear Cells. *Int J Tryptophan Res*. 2018;11:1–8
- 138) ZEZULOVÁ, Michaela. Možnosti laboratorního sledování toxicity systémové léčby u pacientů s karcinomem rekta podstupujících chemoradioterapii. Olomouc, 2016. disertační práce (Ph.D.). UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI. Lékařská fakulta
- 139) Dvořák J, Melichar B, Hyšpler R, Krčmová L, Urbánek L, Kalábová H, et al Intestinal permeability, vitamin A absorption, alpha-tocopherol, and neopterin in patients with rectal carcinoma treated with chemoradiation. *Med Oncol* 2010; 27(3): 690-6. doi:10.1007/s12032-009-9270-4
- 140) van der Velden WJ, Herbers AH, Bruggemann RJ, Feuth T, Donnelly JP, Blijlevens NM. Citrulline and albumin as biomarkers for gastrointestinal mucositis in recipients of hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48:977–81.

- 141) Zezulová M, Bartoušková M, Hlídková E, Juráňová J, Červinková B, Kasalová E, et al. Prognostic significance of serum and urinary neopterin concentrations in patients with Rectal Carcinoma Treated with Chemoradiation. *Anticancer Res* 2016; 36(1):287-92. PMID: 26722055
- 142) Girgin G, Sahin TT, Fuchs D, Kasuya H, Yuksel O, Tekin E, et al. Immune system modulation in patients with malignant and benign breast disorders: tryptophan degradation and serum neopterin. *Int J Biol Markers* 2009; 24:265–70.
- 143) Sucher R, Kurz K, Weiss G, Margreiter R, Fuchs D, Brandacher G. IDO-mediated tryptophan degradation in the pathogenesis of malignant tumor disease. *Int J Tryptophan Res* 2010; 3:113-120. doi:10.4137/ijtr.s4157.
- 144) Fotopoulou C, Sehouli J, Pschowski R, et al. Systematic changes of tryptophan catabolites via indoleamine 2,3- dioxygenase pathway in primary cervical cancer. *Anticancer Res* 2011; 31: 2629–2635.
- 145) Badawy AA-B. Kynurenine pathway of tryptophan metabolism: regulatory and functional aspects. *Int J Tryptophan Res* 2017; 10:1178646917691938.
- 146) Yasui H, Takai K, Yoshida R, Hayaishi O. Interferon enhances tryptophan metabolism by inducing pulmonary indoleamine 2,3- dioxygenase: its possible occurrence in cancer patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:6622-6626
- 147) Werner-Felmayer G, Werner ER, Fuchs D, Hausen A, Reibnegger G, Wachter H. Neopterin formation and tryptophan degradation by a human myelomonocytic cell line (THP-1) upon cytokine treatment. *Cancer Res* 1990;50: 2863-2867.
- 148) Chen Y, Guillemin GJ. Kynurenine pathway metabolites in humans: disease and healthy states. *Int J Tryptophan Res* 2009;2:1-19.
- 149) Lyon DE, Walter JM, Starkweather AR, Schubert CM, McCain NL. Tryptophan degradation in women with breast cancer: a pilot study. *BMC Res Notes* 2011;4:156
- 150) Huang A, Fuchs D, Widner B, Glover C, Henderson DC, Allen-Mersh TG. Serum tryptophan decrease correlates with immune activation and impaired quality of life in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2002; 86:1691-1696.
- 151) Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646–74.
- 152) Krcmova LK, Cervinkova B, Solichova D, Sobotka L, Hansmanova L, Melichar B, et al. Fast and sensitive HPLC method for the determination of neopterin, kynurenine and tryptophan in amniotic fluid, malignant effusions and wound exudates. *Bioanalysis* 2015;7:2751–62.
- 153) Ye F, Ning J, Fardous Z, Katsube T, Li Q, Wang B. Citrulline, a potential biomarker of radiation-induced small intestine damage. *Dose Response* 2020;18(3): 1559325820962341. doi:10.1177/1559325820962341
- 154) Vitaskova D, Melichar B, Bartouskova M, Vlachova Z, Vrana D, Jankova J et al, Neoadjuvant combination therapy with trastuzumab in a breast cancer patient with synchronous rectal carcinoma: a case report and biomarker study. *Pteridines* 2017; 28: 233-41,

- 155) Huber C, batchelor JR, Fuchs D et al. Immune response-associated production of neopterin -Release from macrophages primarily under control of interferon-gama. *J Exp Med* 1984;160:310-6
- 156) Fuchs D, Baier-Bitterlich G, Wede I, Wachter H. Reactive oxygen and apoptosis. In: Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses. Scandalios J, ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1966: 139-67
- 157) Nathan CF. Peroxide and pteridine: a hypothesis on the regulation of macrophage antimicrobial activity by interferon gamma. *Interferon*. 1986;7:125-143.
- 158) Wirleitner B, Bitterlich-Baier G, Hoffman G, Schobersberger W, Wachter H, Fuchs D. Neopterinderivatives to activate NF-KB. *Free Radical Biol Med* 1997;23:177-8.
- 159) Hoffmann G, Schobersberger W, Frede S, et al. Neopterin activates transcription factor nuclear factor-kB in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1996; 391:181-4.
- 160) Schobersberger W, Hoffmann G, Grote J, Wachter H, Fuchs D. Induction of inducible nitric oxide synthase expression by neopterin in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1995;377:461-4
- 161) Überall F, Werner-Felmayer G, Schubert C, Grunicke HH, Wachter H, Fuchs D. Neopterin derivatives together with cyclic guanosine monophosphate induce c-fos gene expression. *FEBS Lett* 1994;352:11-4.
- 162) Reibnegger GJ, Bichler AH, Dapunt O, et al. Neopterin as a prognostic indicator in patients with carcinoma of the uterine cervix. *Cancer Res* 1986;46:950-5. 90
- 163) Reibnegger G, Hetzel H, Fuchs D, et al. Clinical significance of neopterin for prognosis and follow-up in ovarian cancer. *Cancer Res* 1987; 47:4977-81.
- 164) Lewenhaupt A, Ekman P, Eneroth P, Eriksson A, Nillson B, Nordström L. Serum levels of neopterin as related to the prognosis of human prostatic carcinoma. *Eur Urol* 1986;12:422-5.
- 165) Vonka V, Horáček J, Indolamin 2,3-dioxygenáza v onkologii a psychiatrii *Čas. Lék. čes.* 2015; 154: 3-10
- 166) Orabona C, Grohman U. Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Regulatory Function: Tryptophan Starvation and Beyond Methods in molecular biology (Clifton, N.J.) 2011; 677:269-80 DOI:10.1007/978-1-60761-869-0_19
- 167) Marshall B, Keskin DB, Mellor AL. Regulation of prostaglandin synthesis and cell adhesion by a tryptophapha catabolizing enzyme. *BCM Bioch* 2001; 2: 5–19.
- 168) Croituru-Lamoury J, Lamoury FM, Caristo M, et al. Interferon γ regulates the proliferation and differentiation of mesenchymal stem cells via activation of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO). *PLoS One* 2011; 6: e14698.
- 169) Kouchi Y, Maeda Y, Ohuchida A, Ohsawa M. Immunotoxic effect of low dose cisplatin in mice. *J Toxicol Sci.* 1996;21(4):227-233. doi:10.2131/jts.21.4_227
- 170) Kim, Woo Sik et al. “Cisplatin induces tolerogenic dendritic cells in response to TLR agonists via the abundant production of IL-10, thereby promoting Th2- and Tr1-biased T-cell immunity.” *Oncotarget* 7 (2016): 33765 - 33782.

14. Seznam publikací autora

A: Původní práce uveřejněné v časopisech s IF:

Vrana D, Gatek J, Lukesova L, Vazan T, Melichar B, **Pospiskova M**, Svach I. Omission of adjuvant radiation therapy in elderly patients with low risk breast cancer undergoing breast-conserving surgery--two center experience. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2014 Sep;158(3):461-4.

IF 1,245

Pospíšková M, Strouhal O, Hlídková E, Vlachová Z, Melichar B, Doležel M, Pteridins, Circulating concentrations of citrulline, neopterin, kynurenine and tryptophan during chemoradiation in patients with cervical carcinoma, Pteridines

Přijato k tisku 26.10.2021

IF 0,581

D: Přehledové publikace v recenzovaných časopisech

Pospíšková M., Kohoutek M, Karcinom prsu chronické onemocnění ?- anti HER 2 terapie, Onkologie 2017: 11(1) 41-43 (Klin Farmakol 2016; 30(4): 28-30)

Pospíšková M., Kohoutek M Dlouhodobé přežití u pacientky s generalizovaným HER-2 pozitivním, hormonálně independentním karcinomem prsu - význam multimodálního přístupu onkologie 2020: 14(Suppl.F): 156-158

Krošláková K, Kohoutek M, **Pospíšková M**, Toxicity of docetaxel treatment in patients with breast cancer Onkologie 2014: 8(3): 136-138

Přehledové publikace v ostatních časopisech:

Pospíšková M, Možnosti biologické léčby karcinomů hlavy a krku, Oncorevue 6/2018

Pospíšková M, Cetuximab v léčbě generalizovaného a lokoregionálně pokročilého p16 negativního karcinomu orofaryngu, , HEAD & NECK CANCER NEWS 2/2018 CZECH EDITION

Guňka A, **Pospíšková M**, Kohoutek M, Dlouholetá léčba karcinomu prostaty při správně zvoleném algoritmu léčby se zachováním vysoké kvality života, Oncorevue 2/2018

Pospíšková M, Pacient s hepatocelulárním karcinomem léčený regorafenibem po sorafenibu Farmakoterapie 2020 (5)

F: Přednášky, postery s abstraktem:

1. Kislanová A, **Pospíšková M**, Kohoutek M, Srdeční slehání při prním podání fluorouracilu v paliativní chemoterapii. Sborník abstrakt VII Brněnských onkologických dnů; Klin Onkol 2015;28 (1) S56
2. **Pospíšková M**, Kohoutek M metastatický karcinom ledviny, terapie v.s. toxicita, kvalita života, Klin Onkol 2015;28(1) S128

3. Rybková D, **Pospíšková M**, Kohoutek M, Význam paliativní léčby – popis případu pacientky s nádorovou duplicitou a komplikovaným průběhem onemocnění , Klin Onkol 2015;28(1) S113
4. Divilková L, Guňka A, **Pospíšková M**, Kohoutek M, kazuistika pacientky s high grade sarkomem retroperitonea a levé poloviny pánve , Klin Onkol 2015;28(1) S111
5. Zycháčková K, **Pospíšková M**, Kohoutek M, FOLFORINOX v léčbě u karcinomu pankreati, Klin Onkol 2015;28(1) S103
6. Rybková D, **Pospíšková M**, Kohoutek M carcinoma en cuirasse- kazuistika; Klin Onkol 2016; 29(2) 2S71
7. Zycháčková K, Pospíšková M, Kohoutek M, Folforinox – naše zkušenosti Klin Onkol 2016; 29(2) 2S89
8. Kislánová A, Zábajniková M, **Pospíšková M**, Dlouhodobá odpověď na léčbu vemurafenibem - kazuistika; Klin Onkol 2016;29(2) 2S75
9. Krošláková K, **Pospíšková M**, Léčba maligního melanomu před érou biologické léčby – kazuistika; Klin Onkol 2016;29(2) 2S74
10. **Pospíšková M**, Kohoutek M, Karcinom prsu – chornické onemocnění? Anri HER 2 terapie Klin Onkol 2016;29(2) 2S71
11. Guňka A, **Pospíšková M**, Kohoutek M, postavení radioterapie v léčbě generalizovaného karcinomu prostaty Klin Onkol 2016;29(2) 2S112
12. Proroková M, Dvorská J, **Pospíšková M**, Kohoutek M , efekt radioterapie v léčbě slizničního maligního melanomu- kazuistika, Klin Onkol 2017;30(1) S79
13. **Pospíšková M**, Kohoutek M, Multimodální léčba karcinomu kolorecta , Klin Onkol 2017;30(1) S90
14. Dokoupilová M., **Pospíšková M**.; Maligní mesoteliom peritonea u mladé ženy - kazuistika; Klin Onkol 2020; 33(Suppl 2)
15. Raisová G., **Pospíšková M**.; Kazuistika multilokulárního high grade sarkomu s tvorbou hemoragických cyst - diagnostika, terapie; Klin Onkol 2020; 33(Suppl 2)
16. **Pospíšková M**., Kohoutek M., Zábajniková M.; Končí éra " staré imunoterapie " ?; Klin Onkol 2020; 33(Suppl 2)
17. **Pospíšková M**., Kohoutek M.; Je možné vyléčit pacienta s glioblastomem multiforme? dle OSSZ ano ; Klin Onkol 2020; 33(Suppl 2)
18. **Pospíšková M**., Dlouhodobé přežití u pacientky s generalizovaným HER-2 pozitivním, hormonálně independentním karcinomem prsu-význam multimodálního přístupu, [Onkologie 2020: 14\(Suppl.F\): 156-158](#)
19. Klein J., **Pospíšková M**., Šišková L., Tolmač B., Dušková Š.; Sarkomy věčně živé; Klin Onkol 2020; 33(Suppl 2)

G: Přednášková činnost

1. Onkourologický seminář Zlínského kraje: Naše zkušenosti s léčbou karcinomu ledviny – kazuistiky 8.10.2014
2. Kroměřížský ORL den 25.9.2015:10 let činnosti Indikační komise pro nádory hlavy a krku ve Zlínském kraji ,Naše zkušenosti s biologickou léčbou nádorů hlavy a krku
3. Onkourologický krajský seminář 9.11.2016., Karcinom ledviny – sutent 2.1, Inlyta titrace, sekvence léčby
4. Expertní setkání odborníků na nádory hlavy a krku v Olomouci, 18.5.2017 Cetuximab v I linii R/M SCCHN(kazuistiky)
5. Krajský seminář pro dermatovenerology a onkology Zlínského kraje 2.3.2017- Radioterapie v léčbě nemelanomových kožních nádorů
6. Nádory hlavy a krku 2017 7. 4. 2017 - 8. 4. 2017, HK,Indikace radioterapie u maligního melanomu
7. Onkologie Panta Rhei 26.9.2018 , Hotel Moskva Zlín, Léčba metastatického kolorektálního karcinomu
8. Aktuální přístup k léčbě karcinomu prostaty 9.10.2018 Postavení ARTA v terapii karcinomu prostaty
9. Krajský seminář dermatovenerology a onkology Zlínského kraje 1.11.2018 Kožní toxicita radioterapie a kombinované léčby podávané konkomitačně s radioterapií
10. Scientific Exchange meeting Olaparib- zkušenosti s terapií olaparibem u pacientek s karcinomem ovaria 13.11.2018 Olomouc Olaparib v rámci klinických studií
11. Kooperace v léčbě karcinomu prostaty II- Hotel Moskva Zlín 29.1.2019 Terapeutické aspekty PSA progresu u pacientů s karcinomem prostaty
12. Trendy v léčbě R/M SCCHN- zkušenosti odborníků z Izraele a České Republiky 11.6.2019 – Kazuistiky
13. Kam směřuje léčba karcinomu prostaty 24.9.2019 , Hotel Lesní hřbitov Zlín, Novinky v karcinomu prostaty
14. Onkourologický seminář -Terapie karcinomu ledviny 25.9.2019 – Komplexní přehled léčby mRCC se zaměřením na druhou linii ločby + léčebné sekvence
15. Léčba karcinomu prsu a maligního melanomu Pětiletá analýza poolovaných dat studií COMBI-d, CoMBI-v (ASCO 2019) 18.11.2019
16. Terapie SSCHN 17.9.2019 Zlín Možnosti radioterapie u R/M SCCHN
17. Onkožní seminář Zlín 18.8.2020 Libtayo v terapii spinocelulárního karcinomu kůže
18. International conference of the Czech Head and Neck Cooperative Group- Znojmo 2020, Opdivo in the treatment of reccurent or metastatic SCC of the head and neck-
19. Panel expertů-Zefektivnění léčby mCRC, virtuálně MS Teams,24.2.2021 Metastatický kolorektální karcinom
20. ZOOM ONCo MEETING, Léčba pokročilého SCC kůže 24.3.2021, Léčba pokročilého spinaliomu v reálné praxi, 2 kazuistické sdělení-
21. Terapie pembrolizumabem- Zlín 20.4.2021- Pembrolizumab napříč indikacemi
22. Léčba nemelanomových kožních nádorů v reálné klinické praxi VIDEOKONGRES 26.5.2021 17:30, - Léčba pokročilého spinaliomu v reálné praxi
23. Onkodermatologický seminář Zlín 24.8.2021 , Basocelulární karcinom jeho léčba