

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Lékařská fakulta



DISERTAČNÍ PRÁCE

2015

MUDr. Hana Študentová

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Lékařská fakulta



MUDr. Hana Študentová

**Kardiovaskulární rizikové faktory nemocných
po systémové onkologické léčbě**

Disertační práce

Obor: Klinická onkologie

Školitel: prof. MUDr. Milan Kamínek, PhD.

Olomouc 2015

PALACKY UNIVERSITY OF OLOMOUC

Faculty of Medicine



Hana Študentová, M.D.

**Cardiovascular risk factors in cancer patients
treated with systemic therapy**

Doctoral Thesis

Doctoral Study Programme in Clinical oncology

Supervisor: prof. MUDr. Milan Kamínek, PhD.

Olomouc 2015

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Současně 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, 20.4. 2015

MUDr. Hana Študentová

Poděkování

Mé díky patří těm, kteří se podíleli nejen na této práci, ale všem, kteří mě doprovázeli při mé cestě životem, jak profesním, tak osobním. Každý krůček je důležitý a i ten nepatrný může být klíčový, každopádně bez žádného z nich by celek nebyl vytvořen.

V první řadě bych chtěla poděkovat svému školiteli prof. MUDr. Milanu Kamínkovi, Ph.D., který mi poskytl nejen pomoc a radu v mé vědecké práci, ale také se aktivně podílel na vyšetřování pacientů a vyhodnocování zátěžových scintigrafií myokardu.

Ráda bych dále poděkovala přednostovi Onkologické kliniky prof. MUDr. Bohuslavu Melicharovi, Ph.D., na jehož klinice pracuji již sedmým rokem. Zasloužil mě do tajů onkologie, pomohl mi získat klinické zkušenosti v oboru, zapojil mě do aktivní práce na klinických studiích, podpořil mé vědecké snažení a vytvořil mi skvělé portfolio pro mou vědeckou činnost.

Chtěla bych rovněž poděkovat všem kolegům, kteří se na této práci podíleli. Jmenovitě MUDr. Jarmile Indráková za provádění sonografických kontrol a měření tloušťky intimy karotid. MUDr. Lence Zahradníčková, tehdy studentce oboru všeobecného lékařství LF UP, za pomoc se sběrem dat.

Děkuji všem pacientům, kteří souhlasili s účastí v projektu, bez nich by náš výzkum nešlo uskutečnit.

Děkuji svým rodičům, kteří mě vychovali a pěstovali ve mně potřebu se vzdělávat, rozvíjeli lásku k medicíně a životu.

Děkuji své babičce a bratrovi za krásné dětství.

Děkuji svému partnerovi Filipovi za trpělivost, lásku a pochopení.

Seznam zkratek

ECLIA	electrochemiluminiscence immunoassay
EDV	end-diastolický objem
EF	ejekční frakce
EGFR	epidermal growth factor receptor
ESV	end-systolický objem
FDA	Food and Drug Administration (US FDA)
FOLFIRI	chemoterapeutický režim obsahující irinotecan, 5-fluorouracil a leukovorin
FOLFOX	chemoterapeutický režim obsahující oxaliplatinu, 5-fluorouracil a Leukovorin
HDL	high-density lipoprotein cholesterol
HPLC	high performace liquid chromatography (kapalinová chromatografie)
ICHS	ischemická choroba srdeční
IMT	tloušťka intima-media (intima-media thickness)
LDL	low-density lipoprotein cholesterol
LMR	lymphocyte-to-monocyte ratio, poměr lymfocytů k monocytům v periferní krvi
mCRC	metastatický kolorektální karcinom
mRCC	metastatický renální karcinom

NLR	neutrophil-to-lymphocyte ratio, poměr neutrofilů k lymfocytům
NSCLC	(non-small-cell lung cancer), nemalobuněčný karcinom plic
PBC	krevní elementy v periferní krvi (peripheral blood cell count)
PDGFR	platelet-derived growth factor receptors
PLR	platelet-to-lymphocyte ratio, poměr destiček k lymfocytům
r_s	Spearmanův korelační koeficient
SPECT	single-photon emission computed tomography (SPECT)
SSS	summed stress score
SDS	summed difference score
VEGF	vaskulární endoteliální růstový factor
VEGFR	receptor pro vaskulární endoteliální růstový faktor

Obsah

1. Obecný úvod

2. Cíl disertační práce

3. Literární přehled

3.1. Cílená léčba

3.1.1. Obecné informace o anti-VEGF terapii

3.1.2. Bevacizumab

3.1.3. Tyrosin-kinázové inhibitory

3.2. Ateroskleróza

3.2.1. Obecné informace

3.2.2. Biomarkery

3.3. Ateroskleróza a anti-VEGF terapie

3.3.1. Obecné informace

3.3.2. Vliv anti-VEGF terapie na kardiovaskulární systém

4. Soubor pacientů a použitá metodika

4.1. Soubory pacientů

4.1.1. Soubor pacientů léčených cílenou léčbou proti VEGF

4.1.2. Soubor pacientek s anamnézou karcinomu prsu versus zdravé ženy – – retrospektivní analýza

4.2. Metodika

5. Výsledky

5.1. Soubor pacientů léčených cílenou léčbou proti VEGF

5.2. Soubor pacientek s anamnézou karcinomu prsu versus zdravé ženy – retrospektivní analýza

6. Diskuse

6.1. Soubor pacientů léčených cílenou léčbou proti VEGF

6.2. Soubor pacientek s anamnézou karcinomu prsu versus zdravé ženy –
retrospektivní analýza

7. Závěr

8. Seznam použité literatury

9. Seznam publikací autorky disertace

10. Přílohy

1. Obecný úvod

Kardiovaskulární choroby a nádorová onemocnění patří mezi nejčastější příčiny úmrtí ve vyspělých zemích, současně sdílejí celou řadu společných rizikových faktorů a u obou skupin onemocnění dochází k aktivaci imunitního systému (*Wachter et al. 1989*). V léčbě zhoubných nádorů se využívá celá řada léčebných modalit, přičemž v posledních 10 letech se výrazně rozšířila a nabyla na významu tzv. cílená léčba, někdy označovaná jako léčba biologická. Cílená léčba výrazně ovlivnila celkový ráz onkologické terapie pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním. Na rozdíl od chemoterapie působí zcela odlišným mechanismem účinku. Zatímco chemoterapie ovlivňuje necíleně všechny dělicí se buňky v organismu, cílená léčba se zaměřuje na jeden nebo i více typických znaků nádorového bujení, např. patogenetické mechanismy odpovědné za nádorový růst a progresi (*Hanahan et al. 2011*).

Jedním z těchto cílů je inhibice angiogeneze, jež je nepostradatelná pro nádorovou progresi a metastazování, přičemž vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) je klíčovým mediátorem angiogeneze. Obecně nádory se zvýšenou vaskularizací (např. zvýšenou denzitou mikrokapilár) a nádory se zvýšenou expresí proangiogenních faktorů souvisí s pokročilým stádiem a špatnou prognózou nádorového onemocnění (*Dvorak et al. 1995*).

Anti-VEGF preparáty v současné době zahrnují monoklonální protilátky bevacizumab a ramucirumab, rekombinantní protein aflibercept nebo nízkomolekulární inhibitory sunitinib, axitinib, sorafenib a regorafenib, a používají se napříč širokým spektrem rozličných pokročilých nádorů (*Buchler et al. 2012, Rini et al. 2011, Bennouna et al. 2013, Rini et al. 2013, Grothey et al. 2013, Melichar et al. Ann Oncol 2013, Fuchs et al. 2014, Van Cutsem et al. 2012*). Cílená léčba zahrnuje selektivní působení na nádorové buňky či jiné tkáně, které jsou nezbytné pro nádorovou progresi. U cílené léčby, opět na rozdíl od chemoterapie, se předpokládá minimální efekt na normální tkáň (tzv. off-target efekt), nicméně tato představa je vskutku iluzorní a samozřejmě ani cílená léčba není bez nežádoucích účinků. Dalším úskalím cílené léčby je transitorní charakter léčebné odpovědi, kdy relapsy onemocnění bývají téměř nevyhnutelné. Co se nežádoucích účinků způsobených cílenou léčbou týče, tak se zavedením cílených léků se objevila řada nových, dosud neobvyklých, včetně kožní toxicity, hypomagnesémie, poruch metabolismu glukózy a lipidového metabolismu (*Melichar et al. Eur J Cancer Care 2007, Melichar et al. Hepatogastroenterology 2012*).

Po dlouhou dobu jediná kritéria, která se zvažovala v souvislosti s toxicitou systémové léčby u pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním byla výhradně omezena na akutní nežádoucí účinky, např. myelosupresi či gastrointestinální toxicitu (*Melichar et al. Clin Chem Lab Med 2014, Melichar*

et al. Chemotherapy 2005, Melichar et al. J Cancer Res Clin Oncol 2001).

Pochopitelně se zlepšením přežití, v extrémních případech i vyléčením, se otázka chronické toxicity u pacientů s pokročilými solidními tumory stává více než aktuální. Tato problematika byla dosud nejvýraznější u pacientů s kurabilními malignitami jako germinální tumory či maligní lymfomy nebo v případech podávání adjuvantní chemoterapie u karcinomu prsu. Při léčbě chemoterapií byl prokázán nejen přímý toxický efekt chemoterapie na kardiovaskulární systém, ale také toxické účinky nepřímé, působící změny v metabolismu, jež mají rovněž za následek kardiovaskulární morbiditu (*Meinardi et al. 2000*).

Jedním z nejzávažnějších dopadů systémové léčby je riziko aterosklerózy a pozdní komplikace s tím související. Zvýšený výskyt aterosklerózy byl například pozorován v souborech pacientů po léčbě právě pro germinální nádory. (*Huddart et al. 2003, Meinardi et al. 2000, Zagars et al. 2004*).

Podobné nálezy byly reportovány u pacientek s karcinomem prsu (*Kalabova et al. 2011*).

Nejvýraznější účinky anti-VEGF terapie jakožto hypertenze a proteinurie souvisí rovněž se zvýšeným rizikem progresu aterosklerózy. Nicméně klinická data hovořící o vlivu anti-VEGF terapie na progresi aterosklerózy jsou stále velmi limitovaná (*Melichar et al. Anticancer Res 2009*).

Nežádoucích účinků terapie se obáváme vždy, ale co nás nejvíce trápí jsou trvalé následky. U pacientů s diseminovaným nádorovým onemocněním se naše obavy dříve ubíraly především k možným nežádoucím účinkům akutním a otázka dlouhodobé toxicity nebyla díky většinou špatné prognóze pacientů na pořadu dne. Čas byl příliš krátký na to, aby se pozdní toxicita manifestovala. Nicméně s rostoucími úspěchy systémové léčby, právě díky i cílené terapii, počet pacientů s normální očekávanou délkou života po léčbě narůstá. Naše pozornost by se tedy měla ubírat především tímto směrem. Učinil se významný pokrok v porozumění dopadu onkologické terapie na kardiovaskulární systém. V léčbě onkologicky nemocných je potřeba se zaměřit na časnou detekci nežádoucích účinků a vývoj diagnostických a léčebných strategií k dosažení optimálního léčebného výsledku. Je třeba mít v povědomí možné pozdní nežádoucí účinky onkologické terapie, identifikovat je a adekvátně léčit. Minimalizovat rizika především kardiovaskulární toxicity zůstává velkou výzvou.

2. Cíl disertační práce

Vzhledem k trvalému pokroku v onkologické léčbě se délka života nemocných s maligním nádorem stále prodlužuje. Řada nemocných se tak dožívá komplikací aterosklerózy, k nimž může přispívat právě komplexní onkologická terapie a anti-VEGF léčba především. Jak nádorové onemocnění, tak ateroskleróza souvisejí se systémovou zánětlivou odpovědí. Existuje řada biomarkerů systémové zánětlivé odpovědi, které se využívají v managementu léčby pacientů s nádorovým onemocněním, mimo jiné také poměry mezi krevními elementy periferní krve. Poměry neutrofilů k lymfocytům, lymfocytů k monocytům a destiček k lymfocytům představují nezávislý prognostický biomarker napříč celým spektrem solidních nádorů. Tyto poměry v krevních elementech mohou zřejmě také predikovat události související s výskytem aterosklerózy.

Cílem této práce bylo prokázat možný vliv anti-VEGF terapie na kardiovaskulární rizikové faktory a sledování potencionálních markerů aterosklerózy u onkologicky nemocných v průběhu či po proběhlé terapii. Dále jsme se zaměřili na korelace mezi poměry krevních elementů periferní krve s dalšími biomarkery systémové zánětlivé odpovědi.

Hodnoceny jsou 2 soubory nemocných. V prvním případě se hodnotily změny v tloušťce intimy-medie (IMT), jakožto náhradního ukazatele přítomnosti aterosklerózy, v souvislosti s jinými laboratorními rizikovými faktory aterosklerózy u pacientů s nádorovým onemocněním léčených anti-VEGF terapií. Ve druhém souboru jsme se zaměřili na souvislost mezi krevními elementy periferní krve a koncentrací neopterinu či jiných biomarkerů rizika aterosklerózy u pacientek s anamnézou karcinomu prsu.

3. Literární přehled

3.1. Cílená léčba

3.1.1. Obecné informace o anti-VEGF terapii

Závislost nádorového růstu na neovaskularizaci je již dlouhou dobu známým aspektem v biologii nádorů (*Folkman. 1971*). Angiogeneze je vysoce komplexní dynamický proces regulovaný vysokým počtem pro- a antiangiogenních molekul. Tzv. angiogenní switch neboli změna na angiogenní fenotyp je považován za typický rys maligního procesu. Nádorová angiogeneze je zprostředkována prostřednictvím VEGF stimulujícím své receptory VEGFR umístěné na cévním endotelu v nádoru. Rozpoznáním klíčové role VEGF drah v regulaci angiogeneze vedla enormním zájmem a úsilím k objevení jeho potenciálu v terapii nádorových onemocnění. Existuje několik anti-VEGF strategií včetně neutralizačních protilátek VEGF či VEGFR nebo tyrosin-kinázových inhibitorů VEGFR.

3.1.2. Bevacizumab

Bevacizumab (Avastin®) je rekombinantní humanizovaná monoklonální protilátka, která inhibuje aktivitu vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF)– klíčového mediátoru nádorové angiogeneze (*Presta et al. 1997*). Je to

první protilátka využívající anti-VEGF strategie registrovaná v USA FDA (Food and Drug Administration) a v současné době se využívá v řadě pokročilých nádorových onemocnění – u kolorektálního karcinomu, ovariálního karcinomu, renálního karcinomu, karcinomu plic a karcinomu prsu, navíc v rámci klinických studií vypadají slibně i data u karcinomu děložního čípku. VEGF je kontinuálně exprimován v průběhu životního cyklu nádoru a zůstává převládajícím mediátorem angiogeneze i v případě, kdy sekundární dráhy jsou aktivovány při progresi tumoru (*Jain et al. 2006, Gerber et al. 2005*). Inhibice VEGF pravděpodobně způsobuje regresi existující nádorové mikrovaskulatury, normalizaci přeživší vaskulatury a inhibici nového růstu cév (*Tobolem. 2007*). V preklinických modelech bylo navíc prokázáno, že po vysazení anti-VEGF terapie dochází k opětovnému růstu nádorové vaskulatury (*Inai et al. 2004*). Tato skutečnost by pak svědčila pro výhodu kontinuální inhibice VEGF v průběhu více linií léčby a byla by pak klinicky relevantní léčebnou strategií. Příkladem může být použití přímé VEGF inhibice a pak selektivní cílení jiných drah tak, aby byla zachována kontrola nádoru (*Hicklin et al. 2005*). Nicméně zkušenosti s klinické praxe jasně dokazují, že celá situace je daleko složitější.

Nejčastějším nežádoucím účinkem reportovaným při terapii bevacizumabem je arteriální hypertenze s incidencí mezi 4-35% (*Hurwitz et al. 2004, Miller K et al. 2007, Escudier et al. 2010, Melichar et al. Ann Oncol 2013*). Arteriální hypertenze stupně 3 toxicity se vyskytovala u 11-18% pacientů. Příčinou

arteriální hypertenze je pravděpodobně inhibice VEGF, jež vede ke snížené produkci oxidu dusnatého ve stěnách arteriol a jiných cév. Oxid dusnatý je přirozený vazodilatátor, bloádou jehož produkce se podporuje vazokonstrikce, zvyšuje periferní vaskulární rezistence a zvyšuje krevní tlak. Incidence srdečního selhání při terapii bevacizumabem se pohybuje mezi 1,7-3% (*Yeh et al. 2009*), přičemž mechanismem vzniku je pravděpodobně nekontrolovaná arteriální hypertenze a inhibice VEGF signalizace (*Chen et al. 2008*). Studie na zvířatech prokázaly, že angiogeneze hraje důležitou roli při normální adaptivní odpovědi na tlakové přetížení. Příčinou může být redukce denzity kapilár v myokardu, globální kontraktilní dysfunkce, fibróza myokardu a jako následek pak dekompenzace srdečního selhání (*Chen et al. 2008*).

Arteriální trombembolické události se častěji vyskytují u pacientů léčených bevacizumabem s chemoterapií než při léčbě chemoterapií samotnou (*Yeh et al. 2009*). Analýza dat 5 randomizovaných studií (1745 pacientů) s metastatickým kolorektálním karcinomem (mCRC), nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC) a metastatickým karcinomem prsu (mBC) prokázala celkovou incidenci arteriálních trombembolických komplikací v souboru 3.8% (*Scappaticci et al. 2007*). Incidence anginy pectoris či infarktu myokardu činila 1,5% u pacientů léčených bevacizumabem s chemoterapií a 1% u pacientů léčených pouze chemoterapií (*Scappaticci et al. 2007*). Arteriální trombembolické komplikace při terapi bevacizumabem se vyskytují

v kterékoliv fázi terapie, výskyt nemá souvislost s dávkovou ani kumulativní expozicí a nejčastější výskyt se popisuje po zhruba 3 měsících od zahájení terapie. Mezi rizikové faktory patří věk nad 65 let a anamnéza předchozí arteriální trombembolické komplikace (*Yeh et al. 2009*).

3.1.3. Tyrosin-kinázové inhibitory

Tyrosin-kinázové inhibitory (TKI) představují inhibitory tyrosinkinázové aktivity VEGFR. Nejčastěji selektivně inhibují receptor VEGFR-2. Často ale inhibují řadu dalších receptorů s tyrosin-kinázovou aktivitou, např. receptory z rodiny EGFR (receptor pro epidermální růstový faktor), PDGFR- α (receptor pro růstový faktor destiček), PDGFR- β , c-kit a FLT3. V současné době se v běžné klinické praxi využívá celá řada TKI v různých onkologických indikacích a s různým spektrem nežádoucích účinků.

V léčbě metastatického renálního karcinomu se v 1. linii léčby nejčastěji využívá TKI sunitinib (Sutent®). Jeho druhou indikací je léčba gastrointestinálního stromálního nádoru u nemocných po selhání terapie imatinibem (Glivec®). V obou těchto indikacích prokázal prodloužení celkového přežití pacientů. Sunitinib je perorální multikinázový inhibitor, z tohoto důvodu mívá poměrně širší spektrum nežádoucích účinků (off-target efekt).

Arteriální hypertenze patří mezi jeho častý nežádoucí účinek, vyskytující se obvykle v průběhu prvních 4 týdnů terapie. V klinických studiích byla arteriální hypertenze popisována u 5-24% léčených pacientů, přičemž arteriální hypertenze stupně 3 u 2-8% (Motzer et al. 2007). Studie na zvířatech ukazují, že sunitinib indukuje mitochondriální postižení kardiomyocytů, nikoliv však

apoptózu (*Chu et al. 2007*). Na srdečním selhání se může také podílet arteriální hypertenze, jelikož sunitinib inhibuje receptorovou tyrosin-kinázu a tím pomáhá regulovat reakci kardiomyocytů na hypertenzní zátěž (*Khakoo et al. 2008*). Dalším možným mechanismem, který se uplatňuje, je inhibice ribozomální S6 kinázy, která vede k aktivaci vnitřní apoptotické dráhy a depleci ATP (*Force et al. 2007*).

3.2 Ateroskleróza

3.2.1 Obecné informace

Ateroskleróza je kauzální příčinou kardiovaskulárních onemocnění. Formace aterosklerotického plátu předchází klinické známky a symptomy kardiovaskulárních chorob. Když dojde k ruptuře plátu, následná tvorba trombu způsobí vaskulární okluzi, která může způsobit infarkt myokardu, cévní mozkovou příhodu nebo náhlou smrt (*Ray et al. 2009*).

V dnešní době jsou zánět a endoteliální dysfunkce považovány za klíčové regulační procesy ve vývoji aterosklerózy. (*Libby et al. 2009, Cines et al. 1998*). Již v časně fázi aterogeneze se účastní monocyty a jejich role pokračuje i v již vytvořených lézích. Přítomnost aterosklerózy tedy souvisí s chronickým systémovým subklinickým zánětem a lokální mediátory zánětu hrají ústřední

roli při vzniku aterosklerotických plátů, event. při jejich ruptuře (*Libby et al. 2002, Ridker. 2003*).

U pacientů po léčbě chemoterapií pro germinální nádor bylo zjištěno zvýšené riziko kardiovaskulárních chorob (*Huddart et al. 2003, van den Belt-Dusebout et al. 2006, Haugnes et al. 2010*). Chemoterapie na bázi cisplatiny souvisí s endoteliální dysfunkcí (*Nuver J et al. 2004, Yu et al. 2008*), která zřejmě představuje pojítko mezi chemoterapií a aterosklerózou. Nízké hladina testosteronu u těchto nemocných po cytotoxické léčbě byla rovněž zvažována jako možná příčina zvýšeného kardiovaskulárního rizika, nicméně u nemocných po samotné orchiektomii nevedl hypogonadismus k akceleraci aterosklerózy jak bylo patrné ve skupině pacientů po chemoterapii (*Meinardi et al. 2000*).

3.2.2 *Biomarkery*

Diagnostika a sledování vývoje asymptomatické aterosklerózy není jednoduché a ani jednoznačné. V klinické praxi se běžně používá ultrasonografické vyšetření **tloušťky intimy karotid** (cIMT carotid Intima-Media Thickness) (Cobble *et al.* 2010). Jedná se o neinvazivní vyšetření, kterým je možno poměrně přesně stanovit stav aterosklerózy. IMT je aktuálně považována za indikátor pokročilosti aterosklerózy.

Biomarkery, jež také velmi úzce souvisí s aterosklerózou, můžeme sledovat mimo jiné v krvi. Jedná se především o krevní lipidy - **cholesterol** a **triglyceridy**, které jsou v krevní plazmě transportovány ve formě makromolekulárních komplexů – tzv. lipoproteinových částic. Jednotlivé lipoproteinové částice se navzájem liší svým složením (velikost a denzita) a biologickou funkcí. Z klinického hlediska se liší svou schopností zasahovat do procesu aterogeneze, tedy aterogenní není cholesterol ani triglyceridy, ale pouze některé typy lipoproteinových částic. Z hlediska správné diagnostiky dyslipoproteinémií je tedy důležité znát vlastnosti jednotlivých lipoproteinů. **LDL** částice (low-density lipoprotein) je považována za proaterogenní, jelikož zjednodušeně řečeno transportuje cholesterol do cévní stěny a **HDL** (high-density lipoprotein) za anti-aterogenní, jelikož zodpovídá za reverzní transport cholesterolu. Cholesterol je vždy základní součástí aterosklerotického plátu v cévní stěně. Jednoznačná závislost mezi cholesterolem a kardiovaskulárními

chorobami byla prokázána velkými epidemiologickými studiemi např. Framinghamská studie.

Lipoprotein A (Lp-a) je dalším biomarkerem, kterého se využívá při screeningu osob ve středním či vysokém riziku aterosklerozy. Osoby s vyššími hodnotami Lp-a v séru mají totiž dvoj- až trojnásobné riziko infarktu myokardu (IM) (*Kamstrup et al. 2009*).

C-reaktivní protein (CRP) a to zejména **vysoce senzitivní C-reaktivní protein (hs-CRP)** byl stanoven jako prediktivní marker kardiovaskulárních chorob. Vzniká v játrech v reakci na cirkulující cytokiny a v běžné klinické praxi se především využívá jako marker zánětu a ukazatel systémové zánětlivé odpovědi. Výhodou hs-CRP oproti jiným markerům je relativně dlouhý poločas bez diurnálních variací. V řadě prospektivních studií vyšlo hs-CRP jako významný prediktor výskytu infarktu myokardu, cévní mozkové příhody a kardiovaskulárního úmrtí (*Ridker. 2007*). Jako užitečný marker může hs-CRP sloužit také u pacientů po léčbě pro germinální tumory (*Danesh et al. 2004*). Zvýšené hodnoty hs-CRP u pacientů po léčbě radioterapií pro germinální nádor indikovaly slabý zánět, který může být zásadní v aterosklerotickém procesu (*Wethal et al. 2007*).

Homocystein je neesenciální aminokyselina, která je meziproduktem metabolické přeměny methioninu na cystein. Hyperhomocysteinémie je

nezávislým rizikovým faktorem ischemické choroby srdeční (ICHS), ischemických příhod mozku i ischemické choroby dolních končetin (ICHDK). V tkáňových kulturách s normálními a nádorovými buňkami byly prokázány vyšší hodnoty homocysteinu u nádorových buněk a to díky vyššímu proliferačnímu podílu v této buněčné populaci. Naopak při podání cytotoxické terapie, jež zastavuje dělení buněk v průběhu mitózy, hladiny homocysteinu klesají (*Sun et al. 2002*).

Neopterin představuje nekonjugovaný pteridinový derivát, který vzniká štěpením guanosin trifosfátu (GTP). Syntéza neopterinu je závislá na cytosinu regulujícím získanou imunitu a sám neopterin je produkován makrofágy, tedy buňkami charakteristickými pro vrozenou imunitu (Melichar et al. *Int J Biol Markers* 2006). Koncentrace neopterinu odráží systémovou imunitní a zánětlivou odpověď napříč spektrem chorob jako jsou nádorová onemocnění, autoimunitní choroby, rejekce transplantátu, akutní infarkt myokardu nebo trauma (Melichar et al. *Int J Biol Markers* 2006, Melichar et al. *Clin chem* 1994, Wachter H et al. 1989). Zvýšená hladina neopterinu bývá přítomna u pacientů s infekcí nebo u pacientů s maligními nádory. Vyšší koncentrace neopterinu v séru nebo v moči souvisí s pokročilejším nádorovým onemocněním a horší prognózou (Melichar et al. *Int J Gynecol Cancer* 2006). Neopterin patří nejen mezi markery aktivovaného imunitního systému, ale i aterosklerózy (Murr et al. 2002).

Poměry krevních elementů v periferní krvi (PBC – peripheral blood cell count) se v posledních letech rovněž zkoumají jako zajímavé a přitom velmi snadno zjistitelné biomarkery. Poměr neutrofilů k lymfocytům (NLR – neutrophil-to-lymphocyte ratio), poměr lymfocytů k monocytům (LMR – lymphocyte-to-monocyte ratio) a poměr destiček k lymfocytům (PLR – platelet-to-lymphocyte ratio) představují nezávislé prognostické biomarkery napříč celým spektrem solidních nádorů (*Haruma T et al. 2015, Wang Y et al. 2015, Seah JA et al. 2015*). NLR je také nezávislým prediktorem kardiovaskulárních příhod a mortality. NLR souvisí se závažností ischemické choroby srdeční (ICHS) a hodnota $NLR > 3$ značí jednoznačně závažnější formu ICHS (*Arbel Y et al. 2012, Açar et al. 2015*).

3.3. Ateroskleróza a anti-VEGF terapie

3.3.1. Obecné informace

Nádorová onemocnění, ateroskleróza a s ní související kardiovaskulární komplikace, mají řadu společných jmenovatelů, a to především nezdravý životní styl (kouření, nedostatek pohybu, obezitu, stres, atd). Paradoxně samotné nádorové onemocnění vyvolává v organismu reakci v mnohém podporující vznik právě aterosklerózy. Přítomnost nádorového onemocnění v organismu způsobuje a vyvolává systémovou zánětlivou odpověď prostřednictvím aktivace imunitního systému s produkcí zánětlivých markerů (např. C-reaktivního proteinu), navíc dochází v těle ke snížení antioxidantů. Jak se ukazuje, systémová zánětlivá reakce organismu hraje významnou roli nejen v průběhu nádorového onemocnění, ale také v progresi aterosklerózy. Jelikož prognóza nádorového onemocnění byla donedávna natolik špatná, nezbýval čas na manifestaci změn souvisejících s rychlou progresí aterosklerózy a této problematice se nevěnovala pozornost. Nicméně doba se mění a prognóza řady onkologických diagnóz se výrazně zlepšila, terapie je účinnější, prodlužuje se délka života pacientů, v některých případech dochází k trvalému vyléčení či pomalý průběh nemoci nabývá charakteru onemocnění chronického.

Negativní vliv chemoterapie na kardiovaskulární riziko byl již mnohokrát popsán (*Huddart et al. 2003, van den Belt-Dusebout et al. 2006*). V některých

studiích, kde se sledovali pacienti po léčbě chemoterapií s radioterapií – bylo riziko ještě vyšší a kombinovaná terapie souvisela s vyšším nepříznivým kardiovaskulárním rizikovým profilem, který poukazoval na možný synergistický efekt (*Haugnes et al. 2010*). U samotné léčby chirurgické přitom žádné kardiovaskulární riziko sledováno nebylo (*van den Belt-Disebout et al. 2006, Haugnes et al. 2010*). Vzhledem k rozšiřujícímu se využití cílené léčby se řada studií zabývá nežádoucími účinky i této terapie.

3.3.2. Vliv anti-VEGF terapie na kardiovaskulární systém

U pacientů léčených cílenou léčbou může dojít k vzestupu vaskulární rezistence způsobené poklesem produkce oxidu dusnatého a prostacyklinu či vzestupem tuhosti arteriálních stěn, což může mít za následek arteriální hypertenzi (*Neagoe et al. 2005, Yang et al. 1996, van Heeckeren et al. 2007, Bhargava 2009*). Rovněž inhibice VEGF receptoru může být zodpovědná za výskyt hypertenze.

Arteriální hypertenze je nejčastěji reportovaným kardiovaskulárním nežádoucím účinkem při léčbě cílenými léky (*Di Lorenzo et al. 2011*). Data z meta-analýz a randomizovaných klinických studií s bevacizumabem u pokročilých nádorových onemocnění nasvědčují, že riziko arteriální hypertenze a kardiovaskulárních událostí je závislé na dávce (*van Heeckeren et al. 2007, Bhargava 2009, Zhu et al. 2007*). Retrospektivní analýza dat ze 4 studií o účinnosti a bezpečnosti

sunitinibu u pacientů s mRCC poukázala na zlepšení léčebných výsledků pacientů s hypertenzí indukovanou sunitinibem, tedy arteriální hypertenze může fungovat jako možný ukazatel účinnosti terapie (*Rini et al. 2011*). Stejná korelace mezi cílenou léčbou a hypertenzí byla zaznamenána u terapie s bevacizumabem (*Escudier et al. 2010*) a axitinibem (*Rini et al. 2011*). Incidence závažné arteriální hypertenze (toxicita stupně 3-4) při cílené léčbě v rámci klinických studií se pohybovala mezi 1-13% (*Motzer et al. 2009, Sternberg et al. 2010, Gore et al. 2009, Escudier et al. 2007, Escudier et al. 2007*). Důsledný management arteriální hypertenze je důležitý, jelikož arteriální hypertenze je nezávislý rizikový faktor kardiálních i renálních nežádoucích účinků (*Zhu et al. 2009*), souvisí však také s dysfunkcí LK, v neposlední řadě může vézt k redukci dávky cílené léčby a tím snížení účinnosti (*Orphanos et al. 2009, Zhu et al. 2009*).

V literárním přehledu o s léčbou souvisejících nežádoucích účinků cílené léčby ve studiích fáze III u pacientů s mRCC (sunitinib, sorafenib, pazopanib, bevacizumab, everolimus a temsirolimus) byla uvedena incidence dysfunkce LK ve smyslu poklesu EF LK (všech a stupně 3-4) u 13% a 3% v případě sunitinibu a 0% a < 1% u bevacizumabu (*Gore et al. 2009*). Ne všechny TKI vykazují stejnou toxicitu na srdeční sval a rozdíly jsou rovněž patrné i co se intenzity toxicity týče; např. sunitinib je dáván do souvislosti se srdečním selháním a poklesem EF LK u některých pacientů, zatímco v případě sorafenibu se spíše

vyskytují akutní koronární syndromy (*Orphanos et al. 2009*). Navzdory blokáde společných tyrosinových kináz či růstových faktorů, jednotlivé preparáty cílená terapie mají odlišný profil toxicity, nicméně blokáda těchto receptorů má jednoznačně vliv na výskyt kardiovaskulárních nežádoucích účinků. Důvodů může být celá řada. Kardiomyocyty exprimují PDGFR, přičemž nadměrná exprese těchto receptorů podporuje přežívání, na druhou stranu inhibice PDGFR může vést k apoptóze kardiomyocytů a tudíž ke kardiotoxicitě (*Orphanos et al. 2009*). Podobně je tomu v případě RAF1 aktivity, která za normálních okolností chrání srdce před tlakovým přetížením, navíc inhibuje aktivitu proapoptotických kináz ASK1 a MST-2 (*Orphanos et al. 2009, Chen et al. 2008*). Elevace sérových srdečních markerů (např. troponinu T) nebo klinické symptomy jako angina pectoris, dušnost či dokonce infarkt myokardu byly pozorovány u pacientů léčených anti-VEGF terapií (*Bhargava. 2009*).

U pacientů s mRCC, kteří jsou většinou starší 60-ti let s řadou kardiovaskulárních rizikových faktorů a jiných závažných komorbidit, je třeba se mít velmi na pozoru stran kardiovaskulární toxicity. Důležité je mimo jiné vstupní vyšetření, které by mělo zahrnovat zhodnocení kardiovaskulárního rizika, a to údaje z osobní anamnézy, klinické symptomy, EKG, a echokardiografie s tím, že tento postup by se měl po 2 měsících terapie zopakovat. Klinický onkolog by měl velmi zvažovat výběr cílené léčby právě

s ohledem na pacientovy komorbidity a bezpečnostní profil léku tak, aby léčba trvala co nejdelší možnou dobu na optimální dávce léku a nedocházelo přitom ke zbytečným redukcím dávek právě díky toxicitě.

4. Soubory pacientů a metodika

Vliv onkologické terapie na kardiovaskulární systém a vztahy mezi jednotlivými biomarkery systémové zánětlivé odpovědi jsme sledovali u dvou souborů nemocných s odlišnými charakteristikami.

4.1. Soubory pacientů

4.1.1 Soubor pacientů léčených cílenou léčbou proti VEGF

V souboru bylo celkově hodnoceno 58 pacientů, 21 žen a 37 mužů, ve věku 62 ± 8 (průměr \pm směrodatná odchylka) (rozmezí 37 – 76) let, buď s metastatickým kolorektálním karcinomem (mCRC) ($n=47$) nebo metastatickým renálním karcinomem (mRCC) ($n=11$). Mezi pacienty s mCRC bylo 44 léčeno kombinací bevacizumabu s chemoterapií Folfox 7, 2 byli léčeni bevacizumabem s chemoterapií Folfiri a 1 pacient byl léčen bevacizumabem s chemoterapií Folfox 6. Všech 11 nemocných s mRCC bylo léčeno sunitinibem. Léčba probíhala do progrese onemocnění, jen v případě chemoterapie Folfox 7 se podával maximální počet 8 cyklů, následně pacienti pokračovali pouze v monoterapii bevacizumabem.

V souboru jsme hodnotili nejen parametry související s rozvojem a progresí aterosklerózy, ale také markery poškození myokardu. Jednotlivé vizity probíhaly v 3-měsíčních intervalech. U pacientů byly v pravidelných

intervalech hodnoceny tloušťka intimy karotid, systolický a diastolický krevní tlak a myokardiální perfuze. Z laboratorních parametrů byl sledován cholesterol (celkový, LDL, HDL), triglyceridy, lipoprotein a, homocystein, CRP, glukóza, kreatinin, kyselina močová, glykovaný hemoglobin , NT-proBNP, troponin T a myoglobin (*Študentová et al. 2015*).

4.1.2 Soubor pacientek s anamnézou karcinomu prsu versus zdravé ženy – retrospektivní analýza

Studie probíhala na dvou klinických pracovištích – ve Fakultní nemocnici v Olomouci a ve Fakultní nemocnici v Hradci Králové a hodnotila tedy dvě nezávislé kohorty pacientek s anamnézou karcinomu prsu. Vzhledem k tomu, že laboratorní výsledky byly vyšetřovány ve dvou různých laboratořích (kromě neopterinu v moči), byly tyto dvě kohorty hodnoceny odděleně.

V kohortě A bylo celkově hodnoceno 61 pacientek s anamnézou invazivního karcinomu prsu, přičemž 12 pacientek mělo aktivní rekurentní či metastatické onemocnění a 49 pacientek bylo v remisi. V kontrolním rameni bylo hodnoceno 74 pacientek s benigním onemocněním prsu (např. benigní cysty či fibroadenomy) nebo se jednalo o pacientky v dispenzární péči pro zvýšené riziko plynoucí z pozitivní rodinné anamnézy. V kohortě B bylo hodnoceno 192 pacientek s histologicky potvrzeným karcinomem prsu ve věku 54 ± 10 (průměr \pm směrodatná odchylka) (rozmezí 28-76) a 17 kontrol. V předchozích studiích byla u těchto pacientek sledována souvislost mezi tloušťkou intimy karotid s jinými biomarkery rizika aterosklerózy a systémové zánětlivé odpovědi. Metodika jednotlivých vyšetření byla již detailně popsána v předchozích publikacích (*Kalabova et al. 2011, Melichar et al. Anticancer Research 2012, Sramek et al. 2013*). Informace týkající se celkového přežití byly aktualizovány

u 71 pacientek s karcinomem prsu, které měly kompletní údaje o krevním obrazu (hodnocené analyzátořem) a neopterinu v moči (kohorta C).

V tomto souboru jsme retrospektivně hodnotili ve 3 kohortách pacientky s anamnézou karcinomu prsu a jejich kontrol korelaci mezi poměry krevních elementů periferní krve (včetně automatického i manuálního krevního diferenciálního rozpočtu) a sledovaných biomarkerů aterosklerózy.

4.2. Metodika

Vzorky krve byly odebířány z periferní žily po nočním lačnění. Vzorky byly okamžitě odeslány do laboratoře k dalšímu zpracování, centrifugovány, (1600×g po dobu 8 minut při teplotě 14°C), sérum a plazma byly odseparovány a okamžitě analyzovány či uchovány v -20°C do doby analýzy. Glukóza, kyselina močová, C-reaktivní protein (CRP), celkový cholesterol, triglyceridy, lipoprotein(a) a HDL cholesterol byly stanoveny pomocí komerčně dostupných kitů na systému Cobas c 800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Německo) dle instrukcí výrobce. LDL byl vypočítán na základě formule: $LDL \text{ cholesterol} = \text{total cholesterol} - \text{triglycerides}/2.2 - \text{HDL cholesterol}$. Glykovaný hemoglobin byl vyšetřen pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s využitím Arkray Adams HA-8180V analyzátořu (ARKRAY, Kyoto, Japonsko) (Sramek et al. 2013). Stanovení celkového homocysteinu v plazmě

bylo provedeno pomocí HPLC s fluorescenční detekcí (385 nm excitace, 515 nm emise) s použitím HPLC H-P 1100 systému (Hewlett-Packard, Waldbronn, Německo) (*Sramek et al. 2013*). Kreatinin byl vyšetřen pomocí enzymatické metody s fotometrickou detekcí s použitím komerčně dostupného kitu na systému Cobas 8000 (Roche Diagnostics). Myoglobin, NT-proBNP a troponin T byly stanoveny pomocí ECLIA (Electrochemiluminiscence immunoassay) s použitím komerčně dostupného kitu na systému Cobas 8000 (Roche Diagnostics). Ke stanovení troponinu T byla použita vysoce senzitivní analýza (hs cTnT).

K měření tloušťky intimy karotid (IMT) byla použita dvourozměrná ultrasonografická sonda o frekvenci 3-10 MHz (Philips iE33, Bothell, WA, USA) s 2D zobrazením (*Sramek et al. 2013*). IMT je definována jako vzdálenost echogenních linií představující rozhraní krev – intima a echogenní linií představující rozhraní medie – adventicie. Měření bylo prováděno na zadní straně obou karotid v longitudinální rovině a to ve dvou úrovních na obou stranách krku. Na každé úrovni byla provedena tři měření stejným lékařem, následně byl spočítán aritmetický průměr těchto měření.

Ambulantní měření tlaku bylo měřeno pomocí plně automatického ambulantního monitoru (ABPM-04, Meditech, Budapešť, Maďarsko), získávajícím hodnoty krevního tlaku prostřednictvím oscilometrické techniky

v pravidlených intervalech 30 minut v průběhu běžných denních aktivit ve dne i v noci po dobu 24 hodin.

Myokardiální perfúze byla hodnocena pomocí jednofotonové emisní počítačové tomografie (SPECT) s ^{99m}Tc sestamibi. SPECT byl prováděn pomocí dvoudetektorové scintilační kamery Siemens E.CAM (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Německo) vybavené nízko-energetickými kolimátory s vysokým rozlišením a úhlem rotace 90° . Při akvizici dat byl použit 8-frame gating na srdeční cyklus. Nebyly použity korekce na zeslabení. V případě defektu na spodní stěně bylo navíc použito zobrazení v poloze na břicho. Sumační zátěžové skóre a sumační rozdílové skóre (SSS, SDS) myokardiální perfúze, ejekční frakce levé komory (EF) and end-diastolický/end-systolický objem (EDV/ESV) byly automaticky stanoveny programem 4D-MSPECT (The University of Michigan, Ann Arbor, MI, USA).

Pacienti podstoupili 1-denní snímkování v klidu po podání nitrátu: 8 mCi (296 MBq) ^{99m}Tc sestamibi (MIBI) bylo aplikováno v klidu, 1 hodinu po injekci bylo provedeno SPECT snímkování. Zátěžové vyšetření proběhlo v jiný den s použitím ^{99m}Tc sestamibi. Pacienti podstoupili buď zátěžový test, v případě že nebyly schopni fyzické zátěže, pak se použil intravenózní dipyridamol. Zátěžový test probíhal ve vzpřímené poloze na bicyklovém ergometru. Při zátěži měl každý pacient dosáhnout 85% své věkem predikované maximální tepové frekvence nebo do nástupu anginy

pectoris, dušnosti či únavy, závratí, četných (> 10 za minutu) multifokálních nebo párových komorových extrasystol, depresí v ST segmentu depression (> 0.2 mV) nebo poklesu v krevním tlaku o 10 mm Hg pod vrcholovou hodnotu v předchozí fázi. U pacientů, kteří nebyli schopni dosáhnout maximální predikované tepové frekvence, se podával Dipyridamol intravenózně ve standardní dávce 0.56 mg/kg tělesné hmotnosti v průběhu 4 minut v kombinaci s nízkým stupněm zátěže. U pacientů s blokádou levého Tawarova raménka byl použit pouze zátěžový test s Dipyridamolem.

Krevní obraz s diferenciálním rozpočtem v absolutních i relativních hodnotách byl vyšetřen pomocí hematologických analyzátorů Coulter LH 750 (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) a Sysmex EX-2100 (Sysmex, Kobe, Japonsko). Hemoglobin byl měřen fotometrickou metodou za užití laurylsíranu sodného. Leukocyty včetně diferenciálního rozpočtu byly měřeny flow cytometrickou metodou za využití polovodičového laseru. Erytrocyty a krevní destičky byly detekovány pomocí impedančních metod.

Rozdíly mezi skupinami pacientů byly analyzovány s použitím Mann-Whitneyho U testu. Korelace byly analyzovány s použitím Spearmanova korelačního koeficientu. (r_s). Rozdíly v parametrech v průběhu terapie byly analyzovány s použitím párového Wilcoxonova testu. Statistická významnost byla vztahována k hladině významnosti $p = 0.05$. Ke statistickému zpracování

dat jsme použili program NCSS (Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville, UT, USA).

5. Výsledky

5.1. Soubor pacientů léčených cílenou léčbou proti VEGF

Ve skupině pacientů s mRCC byly pozorovány mírně, ale statisticky významně vyšší koncentrace troponinu T ($0.012 \pm 0.004 \mu\text{g/L}$ vs. $0.011 \pm 0.0002 \mu\text{g/L}$; $p=0.026$), myoglobinu ($53 \pm 31 \mu\text{mol/L}$ vs. $35 \pm 14 \mu\text{g/L}$; $p=0.048$) a kreatininu ($93 \pm 18 \mu\text{mol/L}$ vs. $78 \pm 18 \mu\text{mol/L}$; $p=0.027$) a významně nižší celkový cholesterol ($4.27 \pm 0.96 \text{ mmol/L}$ vs. $5.15 \pm 1.23 \text{ mmol/L}$; $p=0.043$) a LDL cholesterol ($2.50 \pm 0.82 \text{ mmol/L}$ vs. $3.41 \pm 1.09 \text{ mmol/L}$; $p=0.017$), ale jiné významné rozdíly nebyly mezi skupinou pacientů s mCRC a mRCC zjištěny. (Tabulka č. 1) S postupem času se v průběhu terapie dařilo získávat menší počet měření. Hlavním důvodem pro klesající počet vyšetření byla progresse nemoci nebo horšící se celkový stav pacienta, jenž souvisel s nižší compliance v rámci follow-up fáze studie. Při následujících vizitách byla z tohoto důvodu získána měření IMT a metabolických parametrů u méně než 50% pacientů. Počet pacientů vyšetřených v rámci vizity 4 byl ještě významně nižší. (*Študentová et al. Oncology Letters 2015*)

V rámci hodnocení IMT bylo zjištěno signifikantní zhoršení nálezu při srovnání výchozí hodnoty s následujícími měřeními. (Tabulka č. 1)

Systolický i diastolický krevní tlak byly přechodně zvýšeny při vizitě 2, ale hodnoty se v příštích návštěvách upravily. Při vizitě 2 bylo pozorováno

i přechodné významné zvýšení Troponinu T. Celkový cholesterol se zvýšil ve vizitách 2 a 3, a to díky vzestupu koncentrací HDL cholesterolu. Při vizitě 2 byl také zaznamenán přechodný, avšak statisticky významný pokles koncentrací CRP a homocysteinu. Pokles sérové koncentrace kreatininu byl na hranici statistické významnosti.

Výchozí SPECT vyšetření bylo provedeno u 55 pacientů, přičemž u 6 z nich byla zachycena ischemie. Kontrolní SPECT vyšetření po 3 a 6 měsících bylo provedeno 24 a 8 pacientům. U 2 pacientů byla ischemie nově zachycena na kontrole po 3 měsících a u dalších 3 pacientů na kontrole po 6 měsících. Jeden pacient s mCRC, s původně normálním nálezem na SPECT, náhle zemřel v průběhu podání 3. cyklu léčby bevacizumabem + Folfox 7. Pitevní nález prokázal jako příčinu smrti akutní infarkt myokardu

Významné zvýšení IMT bylo pozorováno při vizitě 2, pokud jsme hodnotili skupiny pacientů s mCRC (0.74 ± 0.09 mm vs. 0.70 ± 0.10 mm; $p=0.015$) a mRCC (0.83 ± 0.11 mm vs. 0.71 ± 0.11 mm; $p=0.028$) zvlášť. Tento vzestup byl rovněž patrný při následujících vizitách. Při hodnocení pouze pacientů s mCRC bylo dosaženo statisticky významného rozdílu v parametrech krevního tlaku ve vizitě 2, hodnotě HDL cholesterol ve vizitě 2 i 3, lipoproteinu (a) ve vizitě 2, CRP ve vizitě 2 a homocysteinu ve vizitě 2 a 3. Pokles sérového kreatininu ve vizitě 2 byl vysoce signifikantní u pacientů s mCRC (73 ± 17 $\mu\text{mol/L}$ vs. 78 ± 18 $\mu\text{mol/L}$; $p=0.002$). U pacientů s mCRC ve vizitě 2 byl navíc evidentní

přechodný významný vzestup myoglobinu ($109 \pm 321 \mu\text{g/L}$ vs. $39 \pm 18 \mu\text{g/L}$; $p=0.034$) a významný pokles kyseliny močové ($286 \pm 59 \mu\text{mo/L}$ vs. $306 \pm 73 \mu\text{mo/L}$; $p=0.046$). U pacientů s mRCC byl rovněž patrný vzestup koncentrací HDL ve vizitě 3.

Při vstupním vyšetření vykazovalo IMT významnou pozitivní korelaci s myoglobinem ($r_s=0.416$; $p=0.005$) a negativní korelaci s lipoproteinem (a) ($r_s=-0.392$; $p=0.010$). Ve vizitě 3 (po 6 měsících) vykazovalo IMT významnou negativní korelaci se sérovým HDL cholesterolem ($r_s=-0.566$; $p=0.044$). Na následujících vizitách nebyly shledány jiné signifikantní korelace mezi IMT a laboratorními parametry rizika aterosklerózy. Iničiálně vykazovalo CRP významnou negativní korelaci s diastolickým krevním tlakem ($r_s=-0.282$; $p=0.041$), HDL cholesterolem ($r_s=-0.341$; $p=0.015$) a kreatininem ($r_s=-0.289$; $p=0.037$), a pozitivní korelaci s NT-proBNP ($r_s=0.468$; $p=0.0007$). Ve vizitě 2 (po 3 měsících) hladina CRP významně negativně korelovala s hladinou HDL cholesterolu ($r_s=-0.402$; $p=0.051$) a pozitivně s NT-proBNP ($r_s=0.506$; $p=0.012$). Ve vizitě 3 (po 6 měsících) byla zaznamenána významná negativní korelace mezi diastolickým krevním tlakem a CRP ($r_s=-0.574$; $p=0.010$). Limitovaný počet pacientů znemožnil zhodnocení korelací v rámci vizity 4 (po 12 měsících).

5.2. Soubor pacientek s anamnézou karcinomu prsu versus zdravé ženy – retrospektivní analýza

V kohortě A byly poměry krevních elementů z periferní krve zjistitelné u 61 pacientek a 71 kontrol, v kohortě B pak u 190 pacientek z 192 (99%) a u 17 kontrol. V kohortě A byl diferenciální rozpočet stanoven automaticky i manuálně (mikroskopické hodnocení) u 54 pacientek a 26 kontrol, zatímco v kohortě B byl diferenciální rozpočet vyšetřen pouze manuálně. Významný rozdíl byl pozorován mezi LMR získaném z automatického a manuálního vyšetření pacientů a mezi LMR a PLR získaném z automatického a manuálního vyšetření kontrol (Tabulka č. 2). V kohortě A byl LMR z manuálního diferenciálního rozpočtu významně nižší a PLR z manuálního diferenciálního rozpočtu naopak signifikantně vyšší u pacientů než u kontrol, zatímco u pacientů byly hodnoty NLR a PLR získané z automatického vyšetření signifikantně vyšší a LMR signifikantně nižší. V kohortě B nebyly shledány významné rozdíly mezi pacienty a kontrolami v NLR, LMR ani PRL (Tabulka č. 3).

Tabulka č. 4-7 znázorňuje korelace mezi poměry krevních elementů v periferní krvi a biomarkery aterosklerózy a biomarkery systémové zánětlivé odpovědi u pacientek s anamnézou karcinomu prsu a kontrol v kohortě A i kohortě B. Hodnoty NLR, LMR a PLR získané z manuálního a automatického diferenciálního rozpočtu jednoznačně korelují u pacientů i kontrol v kohortě A, s výjimkou LMR u kontrol, nicméně tyto korelace nebyly tak silné, jak by se

dalo očekávat (Tabulka č. 4 a 5). NLR a PRL spolu korelují pozitivně, s LMR negativně. Hodnota NLR vykazovala konzistentně v obou patientských kohortách signifikantní korelaci s věkem, glukózou a koncentracemi CRP, zatímco LMR korelovala s CRP negativně. Ostatní korelace včetně pozitivní korelace NLR s BMI, kyselinou močovou, triglyceridy, poměrem albuminurie a kreatininu, fibrinogenu, homocysteinu a IMT, negativní korelace NLR s celkovým cholesterolem, LDL cholesterolem a albuminem, pozitivní korelace LMR s antitrombinem a magnesiem, negativní korelace LMR s věkem, BMI a fibrinogenem, pozitivní korelace PLR s CRP a fibrinogenem a negativní korelace PLR s hemoglobinem a kyselinou močovou, byly většinou slabé a byly patrné pouze v jedné z patientských kohort (Tabulka č. 4 a 6). V kontrolních skupinách se také občasné zachytily některé korelace včetně negativní korelace NLR s cholesterolem, lipoproteinem a a IMT, pozitivní korelace LMR se sérovým neopterinem, neopterinem v moči, triglyceridy a IMT, negativní korelace LMR s poměrem albuminurie a kreatininu, negativní korelace PLR a fibrinogenu, triglyceridů a glukózy, které byly zachyceny v jedné z kohort (Tabulka č. 5 a 7).

V kohortě C spolu pozitivně korelovaly NLR a PLR a negativně s LMR, jiné korelace pozorovány nebyly (Tabulka č. 8). V době analýzy bylo pouze 41 patientek v této kohortě naživu, medián sledování činil 121 měsíců. $NLR \geq 3$ byl významným prediktorem krátkého přežití, zatímco ani neopterin v moči \geq

205 $\mu\text{mol/mol}$ kreatininu, $\text{NLR} \geq 150$ nebo $\text{LMR} \geq 4.25$ významně nesouvisely s přežitím (Tabulka č. 9) (*Študentová et al. Pteridines 2015*).

6. Diskuse

6.1. Soubor pacientů léčených cílenou léčbou proti VEGF

Současná data demonstrují, že podávání anti-VEGF terapie souvisí s výrazným a rychlým nárůstem IMT, náhradním biomarkerem aterosklerózy. Navíc došlo u některých pacientů k manifestaci myokardiální ischemie - při kontrolním SPECT vyšetření nebo i klinicky. Vzestup koncentrací troponinu T a myoglobinu indikuje vyšší prevalenci myokardiálního postižení během prvních 3 měsíců terapie. Na druhou stranu změny laboratorních biomarkerů rizika aterosklerózy během terapie byly více komplexní, např. vyšší systolický a diastolický krevní tlak nebo koncentrace lipoproteinu (a), naznačující zvýšené riziko aterosklerózy, zatímco jiné laboratorní biomarkery, např. HDL cholesterol, homocystein nebo CRP, svědčí naopak o zlepšení rizika aterosklerózy. Nicméně nebyla pozorována zásadní změna ve většině laboratorních parametrů souvisejících s rizikem aterosklerózy.

Významný vzestup systolického a diastolického krevního tlaku byl evidentní pouze ve vizitě po 3 měsících terapie, stejně tak byl patrný vzestup koncentrací troponinu T a myoglobinu, jenž naznačuje myokardiální postižení. K normalizaci krevního tlaku na následujících vizitách mohlo dojít jednat díky ukončení anti-VEGF terapie nebo také úpravou antihypertenzní léčby. Podobně jak již bylo dříve publikováno v případě pacientů s mCRC léčených

bevacizumabem v kombinaci s chemoterapií FOLFOX7, i v této studii byl pozorován pokles CRP a homocysteinu (*Melichar et al. 2009*). Na rozdíl od již dříve publikovaných výsledků u pacientů léčených kombinací bevacizumabu s chemoterapií FOLFOX7 nebyl v současném souboru zaznamenán vzestup glykovaného hemoglobinu. Cirkulující koncentrace CRP a homocysteinu mohou souviset s velikostí nádorové masy a progresí a i v naší studii se CRP a homocystein chovaly jako biomarkery, když došlo k jejich významnému poklesu po 3 měsících terapie. A stejně tak jako v předchozím souboru (*Melichar et al. 2009*) byl během anti-VEGF terapie zaznamenán vzestup HDL cholesterolu. Negativní korelace byla pozorována mezi CRP a HDL cholesterolem. Vzestup HDL cholesterolu v průběhu terapie by mohl souviset se sérovou hladinou CRP, ovlivněnou terapií. Z tohoto pohledu je negativní korelace mezi HDL cholesterolem a IMT pozorovaná během terapie velmi zajímavá. Laboratorní parametry hrají důležitou roli v péči o onkologické pacienty (*Melichar et al. 2013*). Tento soubor pacientů poukazuje na potenciální využití laboratorních biomarkerů rizika aterosklerózy u pacientů léčených cílenou léčbou. V obecné rovině se biomarkery rizika aterosklerózy chovají stejně u pacientů s mCRC i mRCC. Po rozdělení kohorty pacientů podle diagnózy byl jejich počet ještě více limitovaný a výsledky analýz, zejména ty negativní, by měly být hodnoceny s opatrností. Výrazný vzestup koncentrace

myoglobinu může být také spojen s toxicitou chemoterapie podané konkomitantně s bevacizumabem.

Kardiotoxicita doprovází podávání cytostatických léčiv již po mnoho dekád (*Floyd et al. 2005*). Původně se myslelo, že kardiotoxicita zahrnuje pouze přímý toxický efekt protinádorového léku na myokard. Teprve nedávno se však zjistilo, že cytotoxická chemoterapie může také navodit kardiotoxicitu nepřímo právě akcelerací aterosklerózy (*Huddart et al. 2003, Meinardi et al. 2000, Zagars et al. 2004, Kalabova et al. 2011*). Jak nádorová onemocnění, tak ateroskleróza se svými komplikacemi souvisí se systémovou imunitní a zánětlivou odpovědí (*Melichar et al. 1994, Solichova et al. 2001, Melichar et al. 2006*), navíc systémová zánětlivá odpověď navozená tumorem či léčbou může vést k akceleraci aterosklerózy. Bylo prokázáno, že se tloušťka intimy zvětšuje po podání chemoterapie u pacientek s karcinomem prsu (*Kalabova et al. 2011*). Mezi cílenými léky představuje kardiotoxicita velmi dobře popsáný nežádoucí účinek trastuzumabu (*Ewer et al. 2005*). V odborné literatuře byla také popsána kardiotoxicita anti-VEGF terapie u mRCC (*Schmidinger et al. 2008*). V našem souboru bylo zvětšení IMT, jakožto indikátor aterosklerózy, patrné jak u pacientů s mCRC léčených kombinací bevacizumabu s chemoterapií, tak u pacientů s mRCC léčených sunitinibem, z toho lze tedy usuzovat, že akcelerace aterosklerózy může představovat class effect anti-VEGF terapie. Navzdory omezené velikosti kohorty, statisticky významné ztluštění

IMT bylo zjevným nálezem, pokud byly pacienti s mRCC analyzováni zvlášť. Ve srovnání s kardiotoxicitou způsobenou antracykliny, která je vzácná pod danou kumulativní dávkou nebo kardiotoxicitu navozenou trastuzumabem, která je reverzibilní, představuje rychlá progresse IMT v průběhu anti-VEGF terapie jednoznačnou výzvu či dokonce hrozbu. Záludný charakter této toxicity si můžeme názorně ilustrovat na případu nemocného, který zemřel na akutní infarkt myokardu během této studie. Nástup cílené léčby vede k významnému prodloužení celkového přežití, především u pacientů s mCRC nebo mRCC. Navíc vícečetné linie anti-VEGF terapie jsou dostupné v obou těchto indikacích (*Buchler et al. 2012, Rini et al. 2011, Bennouna et al. 2013, Rini et al. 2013, Grothey et al. 2013*). S dalším pokrokem zlepšujícím prognózu této populace pacientů se identifikace biomarkerů rizika aterosklerozy stane důležitým tématem.

Současná studie má samozřejmě řadu limitací. Jednak sledovaná kohorta zahrnovala pacienty se dvěma odlišnými typy nádorů, navíc léčených rozdílnými cílenými léky, a byla také heterogenní s ohledem na věk pacientů. Většina pacientů s mCRC byli léčeni kombinací bevacizumabu s chemoterapií, přičemž efekt anti-VEGF terapie a chemoterapie zde nemůže být oddělen. Opakovaná měření mohla být provedena pouze u části pacientů. Na druhou stranu z hlediska dlouhodobých komplikací, pacienti odpovídající na léčbu jsou tou nejzajímavější skupinou. Přežití pacientů s pokročilými nádory jako jsou

mCRC nebo mRCC se za poslední dekádu významně zlepšilo a otázka chronické toxicity nemůže být u těchto pacientů ignorována. Je potřeba se zaměřit na včasná praktická preventivní či léčebná opatření, abychom mohli s pomocí cílené terapie dosáhnout maximálního možného léčebného benefitu.

6.2. Soubor pacientek s anamnézou karcinomu prsu versus zdravé ženy

– retrospektivní analýza

Získaná data poukazují na vyšší NLR a PLR, na druhou stranu nižší LMR u pacientek s anamnézou karcinomu prsu. Nicméně hodnoty poměrů krevních elementů v periferní krvi mohou být hodně zavádějící a interpretace výsledků obtížná, jelikož se významně liší v závislosti na použité metodice vyšetření diferenciálního rozpočtu. Tématikou poměrů krevních elementů v periferní krvi u pacientů s maligními i benigními onemocněními se zabývala řada reportů, ty však byly většinou retrospektivní a údaje o použité metodice vyšetření diferenciálního rozpočtu velmi omezené. Změny v poměrech mezi krevními elementy v periferní krvi byly opakovaně asociovány jednak s prognózou řady solidních nádorů, ale také se závažností ICHS, podobně jako tomu je u neopterinu v séru či v moči, jež bývá používán jako biomarker u pacientů s maligním tumorem nebo aterosklerózou.

Z tohoto důvodu jsme i v našem souboru očekávali korelaci mezi neopterinem v moči a/nebo v séru a poměrem mezi krevními elementy periferní krve. Korelace byla shledána mezi NLR a CRP u pacientek s anamnézou karcinomu prsu, ale s výjimkou korelace mezi LMR a koncentrací neopterinu v séru nebo v moči u kontrol. Navzdory velikosti souboru nebyla prokázána jiná korelace mezi koncentrací neopterinu a poměry mezi krevními elementy periferní krve. Můžeme se tedy domnívat, že neopterin a poměry krevních elementů v periferní

krvi odrážejí odlišné aspekty zánětlivé odpovědi organismu. Ke komplexnějšímu zmapování systémové protizánětlivé odpovědi se tedy jeví nejrozumnější použití obou biomarkerů kombinovat. V následné retrospektivní analýze přežití v kohortě pacientek s karcinomem prsu s dlouhým follow-up se nepotvrdil neopterin, ale NLR jakožto signifikantní prediktor přežití.

Řada korelací byla pozorována mezi poměry krevních elementů v periferní krvi a biomarkery rizika aterosklerózy, přičemž tyto asociace byly nejsilnější u pacientek s anamnézou karcinomu prsu. Současná data podporují hypotézu, že systémová zánětlivá odpověď u pacientek s karcinomem prsu může souviset s progresí aterosklerózy. Z tohoto pohledu nemusí poměry mezi krevními elementy periferní krve hrát roli pouze jako prognostické biomarkery, ale také jako biomarkery rizika aterosklerózy.

Tato studie má řadu limitací. Současná analýza byla retropektivní a navíc na poměrně heterogenní skupině pacientek. Stejně jako CRP či neopterin, i poměry mezi krevními elementy periferní krve odrážejí systémovou imunitní a protizánětlivou reakci. Nicméně výsledek interakce mezi hostitelem-nádorem je závislý na mikroprostředí, jež se dá velmi těžko hodnotit. Sledované korelace by rovněž mohly odrážet vliv dalších možných faktorů.

7. Závěr

Díky velkým pokrokům medicíny se prognóza řady onkologických diagnóz výrazně zlepšila, terapie je účinnější, pacienti přežívají déle, v některých případech jsme schopni dosáhnout dlouhodobé remise a nádorová choroba nabývá charakteru chronického onemocnění či někdy dochází dokonce k trvalému vyléčení.

Otázka chronické toxicity či pozdní toxicity je tedy více než na místě a nemůže být u těchto pacientů opomíjena. Presentovaná data naznačují, že anti-VEGF terapie ovlivňuje rizikové faktory aterosklerózy a vede k její akceleraci. Léčba je tedy schopna na jednu stranu život prodloužit, na druhou však zvyšuje riziko pozdní toxicity. Je tedy potřeba se zaměřit na praktická preventivní či léčebná opatření, abychom mohli s pomocí chemoterapie samotné či v kombinaci s cílenou terapií dosáhnout maximálního možného léčebného benefitu. Z našich výsledků rovněž vyplývá, že k získání komplexnějšího povědomí o onemocnění, predikci léčebné odpovědi a prognóze se jeví nejvýhodnější použití širších možností biomarkerů, které máme k dispozici.

8. Seznam použité literatury

Açar G, Fidan S, Uslu ZA, et al. Relationship of neutrophil-lymphocyte ratio with the presence, severity, and extent of coronary atherosclerosis detected by coronary computed tomography angiography. *Angiology*. 2015 Feb;66(2):174-9

Arbel Y, Finkelstein A, Halkin A, et al. Neutrophil/lymphocyte ratio is related to the severity of coronary artery disease and clinical outcome in patients undergoing angiography. 2012 Dec;225(2):456-60

Bennouna J, Sastre J, Arnold D, *et al.*: Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 14: 29-37, 2013.

Bhargava P. VEGF kinase inhibitors: how do they cause hypertension? *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2009; 297: R1-R5.

Buchler T, Klapka R, Melichar B, *et al.*: Sunitinib followed by sorafenib or vice versa for metastatic renal cell carcinoma - data from the Czech registry. *Ann Oncol* 23: 395-401, 2012.

Chen MH, Kerela R, Force T. Mechanisms of cardiac dysfunction associated with tyrosine kinase inhibitor cancer therapeutics. *Circulation* 2008; 118: 84-95.

Chu TF, Rupnick MA, Kerkela R, et al. Cardiotoxicity associated with tyrosine kinase inhibitor sunitinib. *Lancet* 2007; 370: 2011-9.

Cines DB, Pollak ES, Buck CA, et al. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998; 91: 3527-3561.

Cobble M, Bale B: Carotid Intima-Media Thickness: Knowledge and application to everyday practice. *Postgraduate Medicine* 2010; 122(1): 10-8.

Danesh J, Wheeler JG, Hirschfeld GM, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Eng J Med* 2004; 350: 387-1397.

Di Lorenzo G, Porta C, Bellmunt J et al. Toxicities of targeted therapy and their management in kidney cancer. *Eur. Urol.* 2011; 59: 526-40.

Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 146; 1029-1039, 1995.

Escudier B, Eisen T, Stadler WM et al. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N.Engl. J.Med.* 2007; 356: 125-34.

Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P et al. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomized, double-blind phase III trial. *Lancet* 2007; 370: 2103-11.

Escudier B, Bellmunt J, Négrier S, et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa-2a in patients with metastatic renal cell carcinoma (AVOREN). Final Analysis of overall survival. *J Clin Oncol* 28: 2144-2150, 2010.

Ewer MS, Vooletich MT, Durand JB, *et al.*: Reversibility of trastuzumab-related cardiotoxicity: new insights based on clinical course and response to medical treatment. *J Clin Oncol* 23: 7820-7826, 2005.

Floyd JD, Nguyen DT, Lobins RL, Bashir Q, Doll DC and Perry MC: Cardiotoxicity of cancer therapy. *J Clin Oncol* 23: 7685-7696, 2005.

Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 285: 1182-1186, 1971.

Force T, Krause DS, Van Ettern RA, et al. Molecular mechanisms of cardiotoxicity of tyrosine kinase inhibition. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 332-44.

Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ, *et al.*: Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 383: 31-39, 2014.

Gerber HP, Ferrara N. Pharmacology and pharmacodynamics of bevacizumab as monotherapy or in combination with cytotoxic therapy in preclinical studies. *Cancer Res* 2005; 65: 671-80.

Gore ME, Szczylik C, Porta C et al. Safety and efficacy of sunitinib with subpopulation analysis in an expanded-access trial of metastatic renal cell carcinoma. *Lancet Oncol.* 2009; 10: 757-63.

Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, *et al.*: Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 381: 303-312, 2013.

Hanahan D and Weinberg RA: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144: 646-674, 2011.

Haruma T, Nakamura K, Nishida T, et al. Pre-treatment neutrophil to lymphocyte ratio is a predictor of prognosis in endometrial cancer. *Anticancer Res.* 2015 Jan;35(1):337-43.

Haugnes HS, Wethal T, Aass N, et al. Cardiovascular risk factors and morbidity in long-term survivors of testicular cancer: A 20-year follow-up study. *J Clin Oncol* 28 (30): 4649-4657, 2010.

Hicklin DJ, Ellis LM: Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumour growth and angiogenesis. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1011-27.

Huddart RA, Norman A, Shahidi M, *et al.*: Cardiovascular disease as a long-term complication of treatment for testicular cancer. *J Clin Oncol* 21: 1513-1523, 2003.

Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350: 2335-42.

Inai T, Mancuso M, Hashizume H, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in cancer causes loss of endothelial fenestrations, regression of tumor vessels, and appearance of basement membrane ghosts. *Am J Pathol* 2004; 165: 35-52.

Jain RK, Duda DG, Clark JW, et al. Lessons from phase III clinical trials on anti-VEGF therapy for cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2006; 3: 24-40.

Kalabova H, Melichar B, Ungermann L, *et al.*: Intima-media thickness, myocardial perfusion and laboratory risk factors of atherosclerosis in patients

with breast cancer treated with anthracycline-based chemotherapy. *Med Oncol* 28: 1281-1287, 2011.

Kamstrup PR, Nordestgaard BG: Lipoprotein(a) should be taken much more seriously. *Biomarkers Med.* 2009; 3(5), 439-441.

Khakoo AY, Kassiotis CM, Tannir N, et al. Heart failure associated with sunitinib malate: a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor. *Cancer* 2008; 112: 2500-8.

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135-43.

Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Inflammation in atherosclerosis: From pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 2129-2138.

Meinardi MT, Gietema JA, van der Graaf WTA, *et al.*: Cardiovascular morbidity in long-term survivors of metastatic testicular cancer. *J Clin Oncol* 18: 1725 - 1732, 2000.

Melichar B, Bracarda S, Matveev V, *et al.*: A multinational phase II trial of bevacizumab with low-dose interferon-alfa2a as first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma: BEVLiN. *Ann Oncol* 24: 2396-2402, 2013.

Melichar B and Nemcová I: Eye complications of cetuximab therapy. *Eur J Cancer Care* 16: 439-443, 2007.

Melichar B, Kralickova P, Hyspler R, *et al.*: Hypomagnesaemia in patients with metastatic colorectal carcinoma treated with cetuximab. *Hepatogastroenterology* 59: 366-371, 2012.

Melichar B, Hyspler R, Ticha A, *et al.*: Intestinal permeability in patients with metastatic colon cancer treated with patupilone. *Clin Chem Lab Med* 52: 1649-1655, 2014.

Melichar B, Dvorak J, Hyspler R and Zadak Z: Intestinal permeability in the assessment of intestinal toxicity of cytotoxic agents. *Chemotherapy* 51: 336-338, 2005.

Melichar B, Kohout P, Bratova M, Solichova D, Kralickova P and Zadak Z: Intestinal permeability in patients with chemotherapy-induced stomatitis. *J Cancer Res Clin Oncol* 127: 314-318, 2001.

Melichar B, Solichova D, Freedman RS. Neopterin as an indication of immune activation and prognosis in patients with gynecological malignancies. *Int J Gynecol Cancer* 2006; 16: 240-252.

Melichar B, Kalabova H, Krcmova L, *et al.*: Serum homocysteine, cholesterol, retinol, alpha-tocopherol, glycosylated hemoglobin and inflammatory response during therapy with bevacizumab, oxaliplatin, 5-fluorouracil and leucovorin. *Anticancer Res* 29: 4813-4820, 2009.

Melichar B: Laboratory medicine and medical oncology: the tale of two Cinderellas. *Clin Chem Lab Med* 51: 99-112, 2013.

Melichar B, Gregor J, Solichova D, Lukes J, Tichy M and Pidrman V: Increased urinary neopterin in acute myocardial infarction. *Clin Chem* 40: 338-339, 1994.

Melichar B, Solichova D, Melicharova K, Malirova E, Cermanova M and Zadak Z: Urinary neopterin in patients with advanced colorectal carcinoma. *Int J Biol Markers* 21: 190-198, 2006.

Miller K, Wang M, Gralow J, et al. Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2007; 357: 2666-76.

Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, et al. Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 115-24.

Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P et al. Overall survival and updated results for sunitinib versus interferon alfa in first-line treatment of patients with metastatic renal cell carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 3584-90.

Murr C, Winder B, Wirleitner B, et al. Neopterin as a marker for immune system activation. *Curr Drug Metab* 2002; 3: 175-87.

Neagoe PE, Lemieux C, Sirois MG. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-A165-induced prostacyclin synthesis requires the activation of VEGF receptor-1 and -2 heterodimer. *J Biol. Chem.* 2005; 280: 9904-12.

Orphanos GS, Ioannidis GN, Ardavanis AG. Cardiotoxicity induced by tyrosine kinase inhibitors. *Acta Oncol.* 2009; 48: 964 – 70.

Presta LG, Chen H, O'Connor SJ, et al. Humanization of an anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 57: 4593-4599, 1997.

Ray A, Huisman MV, Tamsma JT, et al. The role of inflammation on atherosclerosis, intermediate and clinical cardiovascular endpoints in type 2 diabetes mellitus. *European Journal of Internal Medicine* 20; 253-260, 2009.

Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107: 363-9.

Ridker PM. C-reactive protein and the prediction of cardiovascular event among those at intermediate risk: moving an inflammatory hypothesis toward consensus. *J Am Coll Cardio* 2007; 49: 2129-38.

Rini BI, Cohen DP, Lu DR et al. Hypertension as a biomarker of efficacy in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *J Natl Cancer Inst.* 2011; 103: 763-73.

Rini BI, Escudier B, Tomczak P, *et al.*: Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial. *Lancet* 378: 1931-1939, 2011.

Rini BI, Melichar B, Ueda T, *et al.*: Axitinib with or without dose titration for first-line metastatic renal-cell carcinoma: a randomised double-blind phase 2 trial. *Lancet Oncol* 14: 1233-1242, 2013.

Scappaticci FA, Skillings JR, Holden SN, et al. Arterial thromboembolic events in patients with metastatic carcinoma treated with chemotherapy and bevacizumab. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 1232-9.

Seah JA, Leibowitz-Amit R, Atenafu EG, et al. Neutrophil-Lymphocyte Ratio and Pathological Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Patients With Muscle-Invasive Bladder Cancer. *Clin Genitourin Cancer.* 2015 Feb 7

Schmidinger M, Zielinski CC, Vogl UM, *et al.*: Cardiac toxicity of sunitinib and Sorafenib in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 26: 5204-5212, 2008.

Solichova D, Melichar B, Blaha V, *et al.*: Biochemical profile and survival in nonagenarians. *Clin Biochem* 34: 563-569, 2001.

Sramek V, Melichar B, Indrakova J, *et al.*: Risk factors of atherosclerosis in patients with history of breast cancer. *Pteridines* 24: 201-210, 2013.

Sramek V, Melichar B, Študentová H, *et al.* Systemic immune response and peripheral blood cell count in patients with a history of breast cancer. *Pteridines* 2013; 24(3-4): 211-217.

Sternberg CN, Davis ID, Mardiak J *et al.* Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial. *J. Clin.Oncol.* 2010; 28: 1061-8.

Sun CF, Haven TR, Wu TL, *et al.* Serum total homocystein increases with the rapid proliferation rate of tumor cells and decline upon cell death: a potential new tumor marker . *Clin Chim Acta* 2002; 321(1-2): 55-62.

Tobelem G. VEGF: a key therapeutic target for the treatment of cancer-insights into its role and pharmacological inhibition. *Target Oncol* 2007; 2: 153-64.

Van Cutsem E, Tabernero J, Lakomy R, *et al.*: Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen. *J Clin Oncol* 30: 3499-3506, 2012.

Van den Belt-Dusebout AW, Nuver J, de Wit R, *et al.* Long-term risk of cardiovascular disease in 5-year survivors of testicular cancer. *J Clin Oncol*: 24: 467-475, 2006.

Van Heeckeren WJ, Ortiz J, Cooney MM, Remick SC. Hypertension, proteinuria, and antagonism of vascular endothelial growth factor signaling:

clinical toxicity, therapeutic target, or novel biomarker?
J. Clin. Oncol. 2007; 25: 2993-5.

Wachter H, Fuchs D, Husen A, et al. Neopterin as marker for activation of cellular immunity: immunologic basis and clinical application. *Advances in Clinical Chemistry* 1989; 27: 81-141.

Wang Y, Liu P, Xu Y, et al. Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts response to first-line platinum-based chemotherapy and prognosis in serous ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015 Feb;75(2):255-62.

Wethal T, Kjekshus J, Roislien J, et al. Treatment-related differences in cardiovascular risk factors in long-term survivors of testicular cancer. *J Cancer Surviv* 1:8-16, 2007.

Yang R, Thomas GR, Bunting S, et al. Effects of vascular endothelial growth factor on hemodynamics and cardiac performance. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1996; 27: 838-44.

Yeh ET, Bickford CL, et al. Cardiovascular complications of cancer therapy: incidence, pathogenesis, diagnosis and management. *J Am Coll Cardiol* 2009, June 16; 53 (24)_ 2231 – 47.

Zagars G K., Ballo MT, Lee AK and Strom SS: Mortality after cure of testicular seminoma. *J Clin Oncol* 22: 640-647, 2004.

Zhu X, Wu S, Dahut WL, et al. Risks of proteinuria and hypertension with bevacizumab, an antibody against vascular endothelial growth factor: systemic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2007; 49: 186-93.

Zhu X, Stergiopoulos K, Wu S. Risk of hypertension and renal dysfunction with an angiogenesis inhibitor sunitinib: systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol.* 2009; 48: 9-17.

9. Seznam publikací autorky disertace

Původní vědecké publikace in extenso uveřejněné v časopisech s IF

Študentová H, Indráková J, Petrová P, et al. Risk Factors of Atherosclerosis during Systemic Therapy Targeting Vascular Endothelial Growth Factor. *Oncology Letters*, 2015, v tisku. IF 0,987

Študentová H, Vitásková D, Šrámek V, et al. Correlations of neutrophil-to-lymphocyte, lymphocyte-to-monocyte and platelet-to-lymphocyte ratios with biomarkers of atherosclerosis risk and inflammatory response in patients with history of breast cancer. *Pteridines*, 2015, odesláno k publikaci. IF 0,963

Študentová H, Melichar B, Cincibuch J, Kamínek M, Frysak Z, Geierova M, Klein J. Brain metastases of parathyroid carcinoma: Review of the literature and a case report. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2015 Feb 10. IF 1,661

Melichar B., Doležal J., Šrámek V, Kalábová H., Krčmová LK, Hyšpler R, **Študentová H**, Vošmik M, Pecka M, Svobodník A, Pecen L., Doležel M, Solichová D. Prevalence of perfusion defects detected by stress ^{99m}technetium sestamibi myocardial perfusion single-photon emission computed tomography in asymptomatic patients with breast cancer. *Anticancer Res.* 2014 Jul; 34(7): 3689-94. IF 1.872

Melichar B, Kalábová H., Krčmová LK, Trivedi SV, Králíčková P, Malířová E, Pecka M, **Študentová H**, Zezulová M, Holečková P, Solichová D. Urinary neopterin concentrations during combination therapy with cetuximab in previously treated patients with metastatic colorectal carcinoma. *In Vivo*. 2014 09-10; 28(5): 953-959. IF 1.148

Trivedi SV, Melichar B, Majirský M, Veselý P, Kalábová H, **Študentová H**, Kujovská Krčmová L, Solichová D, Doležel M. Urinary neopterin concentrations during radiotherapy for gynecological cancer. *Pteridines* 25: 1-5, 2014. IF 0.963

Holečková P., Krčmová L. , Létal j, Svobodník A., Kalábová H., Kašparová M, Plíšek j, Pála M, Vitek P., Solichová D., Zezulová M., **Študentová H**, Doležel M, Melichar B. Urinary neopterin concentration and toxicity of radiotherapy in patients with head and neck carcinoma during external beam radiation. *Anticancer res*. 2013 Sep; 33(9): 4097-101. IF 1.872

Sramek V, Melichar B, Indrakova J, **Študentová H**, Kalábová H, Vrána D, Lukešová L, Adam T, Hlídková E, Juráňová J, Petrová P, Kujovská-Krčmová L, Solichová D: Risk factors of atherosclerosis in patients with history of breast cancer. *Pteridines* 24: 201-210, 2013. IF 0.963

Sramek V, Melichar B, **Študentová H**, Kalábová H, Vrána D, Lukešová L, Adam T, Hlídková E, Juráňová J, Kujovská-Krčmová L, Solichová D. Systemic immune response and peripheral blood cell count in patients with a history of breast cancer. *Pteridines* 2013; 24(3-4): 211-217. IF 0.963

Melichar B, Králíčková P, Hyšpler R, Kalábová H, Cerman J Jr, Holečková P, **Študentová H**, Malířová E. Hypomagnesaemia in patients with metastatic

colorectal carcinoma treated with cetuximab. *Hepatogastroenterology*. 2012 Mar-Apr; 59(114): 366-71. IF 0.774

Holečková P, Krčmová L, Kalábová H, Kašparová M, Plíšek J, Pála M, Vítek P, Solichová D, Zezulová M, **Študentová H**, Melichar B. Prognostic significance of serum retinol, serum alpha-tocopherol, and urinary neopterin in patients with head and neck carcinoma treated with external beam radiation. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 2012, 82, 77-84. IF 1.271

Cincibuch j, Cwiertka K, **Procházková-Študentová H.**, Zezulová M, Neoral C, Kalábová H, Krčmová L, Malířová E, Solichová D, Melichar B. Prognostic Significance of Serum Neopterin in Patients with Esophageal Carcinoma. *Pteridines*. 2012 ; 23 : 22-26. IF 0.520

Cincibuch J, Mysliveček M, Melichar B, Neoral Č, Metelková I, Zezulová M, **Procházková-Študentová H**, Flor P, Zlevorová M, Aujeský R, Cwiertka K. Metastases of esophageal carcinoma to skeletal muscle: Single center experience. *World Journal of gastroenterology*. 2012. September 21; 18(35):4962-4966. IF 2.547

Melichar B, Hyšpler R, Kalábová H, Holečková P, **Študentová H**. Serum Uric Acid and C-reactive Protein in Patients with Metastatic Colorectal Carcinoma During Combination Therapy with High-dose Folinic Acid. *Pteridines*. 2012. Vol. 23: 8-13. IF 0.520

Melichar B, Kalábová H, Ungermann Leoš, Krčmová L, Hyšpler R, Kašparová M, Pecka M, Šrámek V, **Procházková-Študentová H**, Svobodník A, Pecen L, Solichová D. Carotid Intima-media Thickness and Laboratory Parameters of

Atherosclerosis Risk in Patients with Breast Cancer. *Anticancer research* 32: 4077-4084 (2012). IF 1.713

Králíčková P, Kalábová H, Krčmová L, Kašparová M, Plíšek J, Ungermann L, Vokurková D, Hyšpler R, Pecka M, Šrámek V, **Šudentová H**, Zezulová M, Solichová D, Melichar B. Correlation of peripheral blood CD14+CD16+ monocytes, urinary neopterin and the risk factors of atherosclerosis in patients with breast carcinoma. *Pteridines* 2011, 22, 66-72 . IF 0.444

Bohuslav Melichar, Lenka Krčmová, Hana Kalábová, Petra Holečková, Markéta Kašparová, Jiří Plíšek, Radomír Hyšpler, **Hana Šudentová**, Dagmar Solichová. Serum Retino, Alpha-Tocopherol and Systemic Inflammatory Response in Metastatic Colorectal Carcinoma Patients Treated with Combination Chemotherapy and Cetuximab. *J Nutr Sci Vitaminol*, 56, 222-226, 2010. IF 1.228

Melichar B, Kalábová H, Krčmová L, Kašparová M, Plíšek J, Hyšpler R, **Šudentová H**, Zezulová M, Holečková P, Pecka M, Solichová D. Urinary neopterin, serum retinol, alpha-tocopherol and homocysteine in breast cancer patients during treatment with bevacizumab and chemotherapy. *Pteridines* 2010, 21, 87-93. IF 0.404

Cincibuch J, Neoral C, Aujesky R, Šrámek V, Schneiderka P, **Šudentova H**, Melichar B, Kohoutek M., Straznicka J, Flodr P, Machacek J, Cwiertka K. Prognostic factors in patients with esophageal carcinoma treated with chemoradiation: single center experience. *Hepatogastroenterology*. 2010 Sep-Oct; 57(102-103): 1145-9. IF 0.677

Bohuslav Melichar, Jiří Pilíšek, Radomír Hyšpler, Hana Kalábová, Markéta Kašparová, Lenka Krčmová, **Hana Študentová**, Dagmar Solichová. Erythrocyte Alpha-Tocopherol in Breast Cancer Patients Treated with Letrozol. J Nutr Sci Vitaminol, 56, 98-103, 2010. IF 1.228

Lumir Hrabalek, Ondrej Kalita, **Hana Studentova**, Jana Jankova, Jiri Hermann, Radek Trojanec, Marian Hajduch. Intramedullary Spinal Cord And Cauda Equina Metastasis of Breast Carcinoma: Case Report. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2010 Jun; 154(2): 175-177. IF 0,716

Beneš P, Melichar B, **Študentová H**, Kapustová M, Malířová E, Schneiderka P, Šrámek V, Cwiertka K. Serum neopterin in patients with malignant melanoma. Pteridines 2009, 20, 45- 48. IF 0.379.

Cincibuch J, Melichar B, **Študentová H**, Kapustová M, Malířová E, Solichová D, Krčmová L, Kašparová M, Schneiderka P, Juráňová J, Šrámek V, Cwiertka K. Serum neopterin, retinol and alpha-tocopherol in patients with the carcinoma of the esophagus. Pteridines 2009, 20, 49- 53. IF 0.379.

Simek M, Nemeč P, Gwozdziwicz, Langova K, **Studentova H**, Bruk V, Hajek R, Lonsky V. Endoscopic versus minimaxly invasive vein harvesting. Impact on leg-related morbidity in coronary artery bypass Surgery: one-year follow up of a prospective trial. J Cardiovasc Surgery. 2008 Oct; 49(5): 673-8. IF 1,542

Simek M, Nemeč P, **Studentova H**, Novotny J. Distal aortic arch aneurysma with a retroesophageal right subclavian artery (arteria lusoria). Eur J Cardiothorac Surg; 2008 Sep; 34(3): 670. IF 2,181

Přehledné/souborné vědecké práce uveřejněné v časopisech s IF

Melichar B., **Študentová H.**, Kalábová h., Vitásková D., Čermáková P, Hornychová H., Ryška A. Predictive and prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy. *Anticancer Res.* 2014 Mar; 34(3):1115-25. IF 1.872

Bohuslav Melichar, **Hana Študentová**, Hana Kalábová, Denisa Vitásková. Role of subcutaneous formulation of trastuzumab in the treatment of patients with HER-2 positive breast cancer. *Immunotherapy* (2014) 6(7), 811-819. IF 2.440

Bohuslav Melichar, **Hana Procházková-Študentová**, Denisa Vitásková. Bevacizumab in combination with INF-alpha in metastatic renal cell carcinoma: the AVOREN trial. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 12(10). IF 2.066

B. Melichar, **H. Študentová**, M. Zezulová. Pazopanib: a new multiple tyrosine kinase inhibitor in the therapy of metastatic renal cell carcinoma and other solid tumours. *Journal of BUON* 16:203-209, 2011. IF 0.607

10. Přílohy

- Tabulka č. 1: Změny parametrů aterosklerózy v průběhu anti-VEGF terapie
- Tabulka č. 2: Srovnání mezi poměry krevních elementů v periferní krvi s použitím manuálního a automatického vyšetření (kohorta A)
- Tabulka č. 3: Poměry v krevních elementech u pacientek s anamnézou karcinomu prsu a kontrol
- Tabulka č. 4: Korelace mezi poměry krevních elementů v periferní krvi a rizikovými faktory aterosklerózy u pacientek s anamnézou karcinomu prsu (kohorta A)
- Tabulka č. 5: Korelace mezi poměry krevních elementů z periferní krve a rizikových faktorů aterosklerózy u kontrol (kohorta A)
- Tabulka č. 6: Korelace mezi poměry elementů periferní krve a rizikových faktorů aterosklerózy u pacientek s anamnézou karcinomu prsu (kohorta B)
- Tabulka č. 7: Korelace mezi poměry krevních elementů periferní krve a rizikových faktorů aterosklerózy u kontrol (kohorta B)
- Tabulka č. 8: Korelace mezi poměry krevních elementů periferní krve v kohortě 71 pacientek s karcinomem prsu
- Tabulka č. 9: Prognostický význam vyšetřovaných parametrů v kohortě 71 pacientek s karcinomem prsu

Tabulka č. 1

Změny parametrů aterosklerózy v průběhu anti-VEGF terapie

Parameter	Mean±SD (n) <i>p</i> compared to baseline			
	Visit 1 (pre- treatment; baseline)	Visit 2 (3 months)	Visit 3 (6 months)	Visit 4 (12 months)
Time (days)	0	104±14	226±51	409±73
IMT (mm)	0.70±0.10 (51)	0.76±0.10 (25) <i>0.0008</i>	0.76±0.10 (25) <i>0.0003</i>	0.83±0.18 (14) <i>0.013</i>
Systolic blood pressure (mm Hg)	128±13 (58)	139±18 (27) <i>0.003</i>	131±16 (23) <i>Ns</i>	130±13 (9) <i>ns</i>
Diastolic blood pressure (mm Hg)	75±8 (58)	85±12 (27) <i>0.004</i>	77±9 (23) <i>Ns</i>	79±11 (9) <i>ns</i>
NT proBNP pg/mL	390±454 (49)	443±616 (24) <i>ns</i>	256±264 (16) <i>Ns</i>	399±577 (7) <i>ns</i>
Troponin T µg/L	0.011±0.002 (50)	0.028±0.008 (24) <i>0.046</i>	0.018±0.004 (15) <i>Ns</i>	0.009±0.004 (7) <i>ns</i>
Myoglobin µg/L	39±20 (50)	104±267 (24) <i>ns</i>	44±17 (15) <i>Ns</i>	31±9 (7) <i>ns</i>
Total cholesterol (mmol/L)	4.96±1.23 (50)	5.30±1.51 (24) <i>0.053</i>	5.05±1.16 (15) <i>0.031</i>	5.02±0.52 (7) <i>ns</i>
HDL cholesterol (mmol/L)	1.14±0.42 (50)	1.33±0.49 (24) <i>0.002</i>	1.31±0.51 (15) <i>0.003</i>	1.17±0.33 (7) <i>Ns</i>
LDL cholesterol (mmol/L)	3.21±1.10 (50)	3.20±1.32 (24) <i>ns</i>	3.06±0.96 (15) <i>Ns</i>	3.31±0.42 (7) <i>Ns</i>
Triglycerides (mmol/L)	1.36±0.57 (50)	1.90±1.07 <i>ns</i>	1.53±0.48 (15) <i>Ns</i>	1.21±0.23 (7) <i>Ns</i>
Lipoprotein (a) (g/L)	0.403±0.455 (48)	0.531±0.747 (22) <i>0.038</i>	0.556±0.469 (15) <i>Ns</i>	0.502±0.765 (7) <i>Ns</i>

C-reactive protein (mg/L)	21.5±28.6 (53)	12.7±23.6 (46) <i>0.023</i>	14.6±26.1 (39) <i>Ns</i>	22.5±57.7 (26) <i>Ns</i>
Glucose (mmol/L)	6.3±2.2 (52)	6.1±1.34 (43) <i>ns</i>	(38) <i>Ns</i>	(25) <i>Ns</i>
Homocysteine (µmol/L)	14.9±7.9 (47)	10.5 ±4.8 (22) <i>0.0004</i>	14.5±10.4 (14) <i>Ns</i>	16.1±5.3 (6) <i>Ns</i>
Creatinine (µmol/L)	81±19 (53)	78±21 (45) <i>0.050</i>	83±25 (39) <i>Ns</i>	94± 25 (24) <i>ns</i>
Uric acid (µmol/L)	326±81 (52)	306±77 (44) <i>ns</i>	312± 82 (38) <i>Ns</i>	327± 99 (24) <i>ns</i>
Glycosylated hemoglobin (%)	3.8±1.5 (49)	3.9±1.1 (22) <i>ns</i>	3.2±1.5 (15) <i>Ns</i>	4.0±0.7 (7) <i>ns</i>

ns not significant; SD standard deviation

Tabulka č. 2

Srovnání mezi poměry krevních elementů v periferní krvi s použitím manuálního a automatického vyšetření (kohorta A)

	Patients (n=54)			Controls (n=26)		
	Manual count	Automated count	P	Manual count	Automated count	p
Neutrophil- to- lymphocyte ratio	2.50±1.22	2.60±1.22	0.111	2.06±0.69	2.27±0.85	0.111
Lymphocyte- to-monocyte ratio	4.75±3.11	3.38±1.57	0.001	7.06±4.63	3.86±1.19	0.00006
Platelet-to- lymphocyte ratio	169±73	172±67	0.118	130±41	144±46	0.049

Significant differences are highlighted by bold type.

Tabulka č. 3

Poměry v krevních elementech u pacientek s anamnézou karcinomu prsu a kontrol.

	Cohort A			Cohort B		
	Patients n=54	Controls n=26	P	Patients (n=190)	Controls (n=17)	p
Neutrophil-to-lymphocyte ratio (manual count)	2.50±1.22	2.06±0.69	0.201	3.19±2.17	2.97±2.26	0.342
Lymphocyte-to-monocyte ratio (manual count)	4.75±3.11	7.06±4.63	0.003	5.80±6.55	5.75±4.08	0.380
Platelet-to-lymphocyte ratio (manual count)	169±73	130±41	0.014	192±91	196±79	0.859
	Patients n=61	Controls n=74				
Neutrophil-to-lymphocyte ratio (automated count)	2.78±1.81	2.51±3.38	0.007	ND	ND	-
Lymphocyte-to-monocyte ratio (automated count)	3.37±1.54	4.04±1.45	0.003	ND	ND	-
Platelet-to-lymphocyte ratio (automated count)	177±75	166±160	0.012	ND	ND	-

ND – nebylo určeno. Signifikantní rozdíly jsou vyznačeny tučně.

Tabulka č. 4

Korelace mezi poměry krevních elementů v periferní krvi a rizikovými faktory aterosklerózy u pacientek s anamnézou karcinomu prsu (kohorta A).

	r_s p (n)		
	Neutrophil-to-lymphocyte ratio (manual count)	Lymphocyte-to-monocyte ratio (manual count)	Platelet-to-lymphocyte ratio (manual count)
Neutrophil-to-lymphocyte ratio (manual count)	-	-0.322 0.018 (54)	0.440 0.0009 (54)
Lymphocyte-to-monocyte ratio (manual count)	-0.322 0.018 (54)	-	-0.451 0.0006 (54)
Platelet-to-lymphocyte ratio (manual count)	0.440 0.0009 (54)	-0.451 0.0006 (54)	-
Neutrophil-to-lymphocyte ratio (automated count)	0.776 <i><0.00001</i> (54)	-0.243 0.077 (54)	0.287 0.036 (54)
Lymphocyte-to-monocyte ratio (automated count)	-0.391 0.003 (54)	0.539 0.0003 (54)	-0.253 0.065 (54)
Platelet-to-lymphocyte ratio (automated count)	0.306 0.025 (54)	-0.284 0.037 (54)	0.878 <i><0.00001</i> (54)
Age (years)	0.294 0.031 (54)	-0.118 0.397 (54)	0.085 0.543 (54)

BMI (kg/m ²)	0.291 0.033 (54)	-0.334 0.014 (54)	0.068 0.627 (54)
Hemoglobin (g/l)	0.174 0.208 (54)	0.036 0.798 (54)	-0.492 0.0002 (54)
Fibrinogen (g/l)	0.237 0.085 (54)	-0.346 0.010 (54)	0.231 0.093 (54)
Glucose (mmol/l)	0.303 0.026 (54)	-0.307 0.024 (54)	0.210 0.127 (54)
Magnesium (mmol/l)	-0.067 0.632 (54)	-0.036 0.796 (54)	-0.059 0.673 (54)
Uric acid (µmol/l)	0.274 0.045 (54)	-0.021 0.882 (54)	-0.051 0.713 (54)
Total cholesterol (mmol/l)	0.001 0.994 (54)	-0.024 0.864 (54)	0.234 0.089 (54)
HDL cholesterol (mmol/l)	-0.165 0.234 (54)	0.168 0.225 (54)	-0.140 0.311 (54)
LDL cholesterol (mmol/l)	0.032 0.819 (54)	-0.067 0.629 (54)	0.187 0.177 (54)
Triglycerides (mmol/l)	0.325 0.016 (54)	-0.019 0.889 (54)	0.198 0.152 (54)

Lipoprotein(a) (g/l)	-0.166 0.231 (54)	-0.177 0.200 (54)	0.033 0.813 (54)
CRP (mg/l)	0.367 0.007 (52)	-0.441 0.001 (52)	0.367 0.007 (52)
Homocysteine ($\mu\text{mol/l}$)	0.194 0.161 (54)	0.029 0.836 (54)	0.159 0.251 (54)
Glycosylated hemoglobin (%)	0.101 0.468 (54)	-0.165 0.232 (54)	-0.077 0.578 (54)
Urinary albumin/creatinine ratio (g/mol creatinine)	0.292 0.032 (54)	-0.201 0.145 (54)	0.141 0.309 (54)
Urinary neopterin/creatinine ratio ($\mu\text{mol/mol}$ creatinine)	-0.029 0.838 (54)	0.026 0.850 (54)	0.158 0.253 (54)
Serum neopterin (nmol/l)	0.011 0.937 (54)	0.081 0.558 (54)	0.061 0.662 (54)
Mean IMT (mm)	-0.095 0.569 (38)	0.073 0.661 (38)	-0.127 0.448 (38)

BMI body-mass index. Signifikantní rozdíly jsou vyznačeny tučně.

Tabulka č. 5

Korelace mezi poměry krevních elementů z periferní krve a rizikových faktorů aterosklerózy u kontrol (kohorta A).

	r_s P (n)		
	Neutrophil-to-lymphocyte ratio (manual count)	Lymphocyte-to-monocyte ratio (manual count)	Platelet-to-lymphocyte ratio (manual count)
Neutrophil-to-lymphocyte ratio (manual count)	-	-0.264 0.193 (26)	0.682 0.0001 (26)
Lymphocyte-to-monocyte ratio (manual count)	-0.264 0.193 (26)	-	-0.189 0.355 (26)
Platelet-to-lymphocyte ratio (manual count)	0.682 0.0001 (26)	-0.189 0.355 (26)	-
Neutrophil-to-lymphocyte ratio (automated count)	0.688 0.0001 (26)	0.246 0.225 (26)	0.429 0.029 (26)
Lymphocyte-to-monocyte ratio (automated count)	-0.351 0.078 (26)	-0.003 0.990 (26)	-0.309 0.125 (26)
Platelet-to-lymphocyte ratio (automated count)	0.444 0.023 (26)	0.153 0.455 (26)	0.747 0.00001 (26)
Age (years)	-0.378 0.057 (26)	0.067 0.745 (26)	-0.215 0.292 (26)
BMI (kg/m ²)	-0.204 0.318 (26)	0.100 0.626 (26)	-0.225 0.268 (26)

Hemoglobin (g/l)	0.234 0.249 (26)	0.104 0.612 (26)	-0.096 0.641 (26)
Fibrinogen (g/l)	-0.109 0.604 (25)	0.091 0.666 (25)	-0.475 0.016 (25)
Glucose (mmol/l)	-0.274 0.175 (26)	0.143 0.485 (26)	-0.354 0.076 (26)
Magnesium (mmol/l)	0.313 0.120 (26)	-0.090 0.663 (26)	0.229 0.260 (26)
Uric acid (µmol/l)	-0.189 0.355 (26)	0.321 0.110 (26)	-0.319 0.113 (26)
Total cholesterol (mmol/l)	0.062 0.764 (26)	0.159 0.438 (26)	0.015 0.943 (26)
HDL cholesterol (mmol/l)	0.022 0.916 (26)	-0.078 0.705 (26)	0.327 0.103 (26)
LDL cholesterol (mmol/l)	0.165 0.420 (26)	0.100 0.627 (26)	-0.040 0.845 (26)
Triglycerides (mmol/l)	-0.290 0.150 (26)	0.319 0.113 (26)	-0.462 0.017 (26)
Lipoprotein(a) (g/l)	0.029 0.889 (26)	0.230 0.258 (26)	0.044 0.830 (26)
CRP (mg/l)	-0.146 0.478 (26)	0.135 0.512 (26)	-0.374 0.059 (26)
Homocysteine (µmol/l)	-0.209 0.306	0.243 0.232	-0.041 0.841

	(26)	(26)	(26)
Glycosylated hemoglobin (%)	-0.088 0.670 (26)	0.354 0.076 (26)	-0.258 0.203 (26)
Urinary albumin/creatinine ratio (g/mol creatinine)	0.340 0.089 (26)	-0.391 0.048 (26)	0.137 0.504 (26)
Urinary neopterin/creatinine ratio ($\mu\text{mol/mol}$ creatinine)	0.007 0.974 (26)	0.301 0.135 (26)	-0.054 0.793 (26)
Serum neopterin (nmol/l)	-0.044 0.832 (26)	0.395 0.046 (26)	0.032 0.877 (26)
Mean IMT (mm)	-0.191 0.407 (21)	0.628 0.002 (21)	-0.062 0.788 (21)

BMI body-mass index. Signifikantní rozdíly jsou vyznačeny tučně.

Tabulka č. 6

Korelace mezi poměry elementů periferní krve a rizikových faktorů aterosklerózy u pacientek s anamnézou karcinomu prsu (kohorta B).

	r_s P (n)		
	Neutrophil-to-lymphocyte ratio	Lymphocyte-to-monocyte ratio	Platelet-to-lymphocyte ratio
Neutrophil-to-lymphocyte ratio	-	-0.504 <i><0.00001</i> (190)	0.684 <i><0.00001</i> (190)
Lymphocyte-to-monocyte ratio	-0.504 <i><0.00001</i> (190)	-	-0.462 <i><0.00001</i> (190)
Platelet-to-lymphocyte ratio	0.684 <i><0.00001</i> (190)	-0.462 <i><0.00001</i> (190)	-
Age (years)	0.152 <i>0.037</i> (190)	-0.145 0.046 (190)	0.059 0.415 (190)
BMI (kg/m ²)	0.128 <i>0.077</i> (190)	-0.110 0.133 (190)	0.020 0.782 (190)
Hemoglobin (g/l)	-0.002 0.983 (190)	-0.002 0.977 (190)	-0.123 0.091 (190)
D-dimers (mg/l)	0.134 0.067 (187)	-0.073 0.323 (187)	0.047 0.525 (187)
Antithrombin (%)	-0.118 0.108 (186)	0.192 0.009 (186)	-0.096 0.194 (186)

Fibrinogen (g/l)	0.234 0.001 (189)	-0.059 0.422 (189)	0.205 0.005 (189)
Glucose (mmol/l)	0.145 0.047 (189)	-0.101 0.168 (189)	-0.040 0.582 (189)
Magnesium (mmol/l)	0.020 0.781 (190)	0.162 0.025 (190)	0.089 0.221 (190)
Creatinine (μ mol/l)	-0.138 0.058 (190)	0.056 0.440 (190)	-0.127 0.080 (190)
Uric acid (μ mol/l)	-0.027 0.714 (190)	-0.039 0.597 (190)	-0.161 0.027 (190)
Total cholesterol (mmol/l)	-0.191 0.009 (189)	0.111 0.130 (189)	-0.035 0.632 (189)
HDL cholesterol (mmol/l)	-0.019 0.797 (188)	0.026 0.724 (188)	0.086 0.241 (188)
LDL cholesterol (mmol/l)	-0.157 0.031 (187)	0.124 0.092 (187)	-0.051 0.491 (187)
Triglycerides (mmol/l)	-0.035 0.639 (186)	0.032 0.665 (186)	-0.182 0.013 (186)
Lipoprotein(a) (g/l)	0.042 0.580 (175)	0.003 0.974 (175)	0.005 0.948 (175)
Albumin (g/l)	-0.216 0.003 (186)	0.113 0.125 (186)	-0.060 0.416 (186)

CRP (mg/l)	0.260 0.0003 (186)	-0.144 0.050 (186)	0.101 0.172 (186)
Homocysteine (μmol/l)	0.177 0.015 (190)	-0.073 0.314 (190)	0.135 0.064 (190)
Glycosylated hemoglobin (%)	0.006 0.936 (186)	-0.003 0.973 (186)	-0.093 0.205 (186)
Urinary albumin/creatinine ratio (g/mol creatinine)	-0.060 0.416 (185)	0.002 0.979 (185)	-0.127 0.085 (185)
Urinary neopterin/creatinine ratio (μmol/mol creatinine)	0.051 0.486 (189)	-0.013 0.863 (189)	0.046 0.525 (189)
Mean IMT (mm)	0.152 0.036 (190)	-0.096 0.188 (190)	0.063 0.387 (190)

BMI body-mass index. Signifikantní rozdíly jsou vyznačeny tučně.

Tabulka č. 7

Korelace mezi poměry krevních elementů periferní krve a rizikových faktorů aterosklerózy u kontrol (kohorta B).

	r_s P (n)		
	Neutrophil-to-lymphocyte ratio	Lymphocyte-to-monocyte ratio	Platelet-to-lymphocyte ratio
Neutrophil-to-lymphocyte ratio	-	-0.482 0.058 (16)	0.674 0.004 (16)
Lymphocyte-to-monocyte ratio	-0.482 0.058 (16)	-	-0.503 0.047 (16)
Platelet-to-lymphocyte ratio	-0.482 0.058 (16)	-0.503 0.047 (16)	-
Age (years)	-0.233 0.385 (16)	-0.041 0.879 (16)	-0.044 0.871 (16)
BMI (kg/m ²)	-0.032 0.905 (16)	-0.003 0.991 (16)	-0.118 0.664 (16)
Hemoglobin (g/l)	-0.151 0.578 (16)	-0.408 0.117 (16)	0.125 0.643 (16)
D-dimers (mg/l)	-0.472 0.065 (16)	0.175 0.516 (16)	-0.486 0.056 (16)
Antithrombin (%)	0.194 0.472 (16)	-0.012 0.965 (16)	0.142 0.600 (16)

Fibrinogen (g/l)	0.293 0.271 (16)	-0.078 0.774 (16)	-0.056 0.837 (16)
Glucose (mmol/l)	-0.273 0.367 (13)	0.256 0.398 (13)	-0.641 0.018 (13)
Magnesium (mmol/l)	-0.175 0.532 (15)	0.143 0.611 (15)	-0.116 0.680 (15)
Creatinine (μ mol/l)	-0.005 0.985 (15)	0.222 0.426 (15)	0.068 0.810 (15)
Uric acid (μ mol/l)	-0.032 0.909 (15)	-0.064 0.820 (15)	0.039 0.889 (15)
Total cholesterol (mmol/l)	-0.517 0.049 (15)	0.325 0.237 (15)	-0.454 0.089 (15)
HDL cholesterol (mmol/l)	0.198 0.478 (15)	-0.229 0.412 (15)	0.209 0.454 (15)
LDL cholesterol (mmol/l)	-0.350 0.201 (15)	0.282 0.308 (15)	-0.136 0.630 (15)
Triglycerides (mmol/l)	-0.086 0.761 (15)	0.525 0.044 (15)	-0.175 0.533 (15)
Lipoprotein(a) (g/l)	-0.546 0.043 (14)	0.245 0.399 (14)	0.020 0.945 (14)
Albumin (g/l)	0.189 0.499 (15)	-0.375 0.168 (15)	0.404 0.136 (15)

CRP (mg/l)	0.295 0.306 (14)	0.238 0.413 (14)	0.105 0.722 (14)
Homocysteine ($\mu\text{mol/l}$)	0.147 0.587 (16)	0.009 0.974 (16)	0.135 0.617 (16)
Glycosylated hemoglobin (%)	-0.004 0.987 (16)	0.195 0.469 (16)	-0.288 0.279 (16)
Urinary albumin/creatinine ratio (g/mol creatinine)	-0.159 0.557 (16)	0.291 0.274 (16)	0.088 0.745 (16)
Urinary neopterin/creatinine ratio ($\mu\text{mol/mol}$ creatinine)	-0.138 0.610 (16)	0.579 0.019 (16)	-0.185 0.492 (16)
Mean IMT (mm)	-0.658 0.006 (16)	0.306 0.249 (16)	-0.389 0.136 (16)

BMI body-mass index. Signifikantní rozdíly jsou vyznačeny tučně.

Tabulka č. 8

Korelace mezi poměry krevních elementů periferní krve v kohortě 71 pacientek s karcinomem prsu.

	r_s P (n)		
	Neutrophil-to-lymphocyte ratio (automated count)	Lymphocyte-to-monocyte ratio (automated count)	Platelet-to-lymphocyte ratio (automated count)
Neutrophil-to-lymphocyte ratio (automated count)	-	0.697 <0.00001 (71)	0.661 <0.00001 (71)
Lymphocyte-to-monocyte ratio (automated count)	-0.697 <0.00001 (71)	-	-0.638 <0.00001 (71)
Platelet-to-lymphocyte ratio (automated count)	0.661 <0.00001 (71)	-0.638 <0.00001 (71)	-
Age (years)	-0.047 0.699 (71)	-0.003 0.979 (71)	0.097 0.422 (71)
Hemoglobin (g/l)	0.086 0.474 (71)	0.007 0.954 (71)	0.048 0.688 (71)
Urinary neopterin/creatinine ratio ($\mu\text{mol/mol}$ creatinine)	0.055 0.646 (71)	-0.139 0.247 (71)	0.003 0.983 (71)

Signifikantní korelace jsou vyznačeny tučně.

Tabulka č. 9

Prognostický význam vyšetřovaných parametrů v kohortě 71 pacientek s karcinomem prsu.

Parameter	Cutoff	5 year OS < cutoff (%)	5 year OS \geq cutoff (%)	10 year OS < cutoff (%)	10 year OS \geq cutoff (%)	P
Urinary neopterin ($\mu\text{mol/mol}$ creatinine)	205 $\mu\text{mol/mol}$ creatinine	71	63	59	56	0.694
NLR	3	78	45	67	35	0.006
PLR	150	72	65	61	53	0.507
MLR	4.25	64	78	51	70	0.108