

Joanna Chorostowska-Wynimko¹, Urszula Demkow², Paweł Górski³, Katarzyna Krenke⁴, Marcin Kurzyna⁵, Jan Kuś⁶, Renata Langfort⁷, Krystyna Maszkowska-Kopij⁸, Kazimierz Roszkowski-Śliż⁹, Wojciech Skorupa⁶, Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska¹⁰, Małgorzata Szołkowska⁷, Adam Torbicki⁵

¹Samodzielna Pracownia Diagnostyki Molekularnej i Immunologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

²Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Klinicznej Wieku Rozwojowego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

³Klinika Pneumonologii i Alergologii I Katedry Chorób Wewnętrznych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

⁴Klinika Pneumonologii i Alergologii Wieku Dziecięcego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

⁵Klinika Krążenia Płucnego i Chorób Zakrzepowo-Zatorowych Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Europejskie Centrum Zdrowia w Otwocku

⁶I Klinika Chorób Płuc Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

⁷Zakład Patomorfologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

⁸Przychodnia Przykliniczna Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

⁹III Klinika Chorób Płuc Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

¹⁰Medgen w Warszawie

Postępy w pneumonologii w 2012 roku

Advances in pulmonology in year 2012

Praca nie była finansowana.

Pneumonol. Alergol. Pol. 2013; 81: 162–181

Postępy w zakresie diagnostyki i leczenia raka płuca

Krystyna Maszkowska-Kopij, Joanna Chorostowska-Wynimko, Kazimierz Roszkowski-Śliż

Rak płuca jest najczęstszym nowotworem złośliwym w większości uprzemysłowionych krajów świata. W Polsce z powodu raka płuca w ostatnich latach umiera rocznie około 22 tysięcy osób, co stanowi prawie 24% wszystkich zgonów z przyczyn nowotworowych [1]. U około 85% chorych rozpoznawany jest rak niedrobnokomórkowy płuca (NSCLC, *non-small-cell lung carcinoma*), najczęściej rak gruczołowy, płaskonabłonkowy i wielkokomórkowy [2]. Do radykalnego leczenia operacyjnego kwalifikuje się jedynie 20% pacjentów.

Historia badań przesiewowych w raku płuca sięga późnych lat 50. XX wieku. Pierwsze takie badanie rozpoczęto w 1957 rok i polegało ono na wykonywaniu co pół roku badań radiologicznych i badań cytologicznych w grupie mężczyzn palących papierosy, w wieku 40–64 lat. Późniejsze badania ukończone w latach 60. i 70. miały zbliżone założenia i różniły się nieznacznie kryterium wiekowym określającym grupę ryzyka. Łącznie

poddano obserwacji ponad 90 000 uczestników. We wszystkich tych badaniach wykazano, że w grupie poddanej skринingowi rozpoznano większy odsetek nowotworów o niższym zaawansowaniu, jednak pozostawało to bez wpływu na umieralność w punkcie końcowym po 20 latach obserwacji. Nowe możliwości skutecznego skринingu w raku płuca powstały wraz z wdrożeniem spiralnej tomografii komputerowej. Pierwsze badanie wykorzystujące tę metodę w grupie zwiększonego ryzyka zachorowania — *Early Lung Cancer Action Project* (ELCAP) przyniosły bardzo optymistyczne wyniki [3]. W badaniu tym, podobnie jak w badaniu *Mayo Clinic* [4] wykrywano sześć razy częściej raka w pierwszym stopniu zaawansowania niż w grupie bez interwencji. Jednak w 2004 roku ukazało się pierwsze doniesienie dotyczące długoletnich obserwacji wynikających z tych badań, które wykazało, że umieralność w grupie poddanej skринingowi była bardzo zbliżona do umieralności w grupach bez interwencji [5]. Kolejne badania oceniające podstawowy efekt końcowy — umieralność potwierdzały te wyniki [6–8]. Do 2011 roku *National Cancer Institute* w USA nie rekomendował skринingu raka płuca przy użyciu niskodawkowej tomografii komputerowej, wskazując na brak dowo-

dów na zmniejszenie umieralności z powodu raka płuca. Natomiast podkreślano, że skrining ten jest związany z dużym odsetkiem fałszywie dodatnich wyników i skutkuje nadmiernymi, niekonicznymi interwencjami inwazyjnymi. W sierpniu 2011 roku opublikowano wyniki badania *The National Lung Screening Trial*. Badanie to przeprowadzone w grupie 53 454 uczestników w wieku od 55 do 74 lat, którzy mieli historię palenia papierosów 30 lub więcej paczkolet, a także u tych o podobnej historii palenia, którzy porzucili nałóg w ciągu ostatnich 15 lat. Wykazano że u osób tych, zastosowanie skriningu przy użyciu niskodawkowej tomografii komputerowej wiązało się ze zmniejszeniem umieralności z powodu raka płuca o 20% i umieralności ogółem o 6,7%. Jednak wynik badania potwierdził, że metoda ta jest związana z dużym (> 25%) odsetkiem fałszywie dodatnich wyników [9]. Powyższe obserwacje świadczą o tym, że skuteczność skriningu raka płuca przy użyciu tomografii komputerowej jest związana z doborem najwyższej grupy ryzyka zachorowania współzależnego z wiekiem i historią palenia. W tym miejscu narzuca się pytanie, jaka byłaby skuteczność skriningu, gdyby do zastosowanych czynników ryzyka włączyć dobrze poznany, niezależny czynnik ryzyka, jakim jest przewlekła obturacyjna choroba płuc (POChP).

Ostatnie doniesienia wskazują, że chemioterapia (CHT) pooperacyjna poprawiła wskaźniki pięcioletnich przeżyć o 4–15%. Po opublikowaniu metaanalizy *Lung Adjuvant Cisplatin Evaluation (LACE)* kombinacja cysplatyna i winorelbina została uznana za standard w leczeniu adjuwantowym chorych na NSCLC w stadium zaawansowania II i III A poddanych całkowitej resekcji. Wykazano wyższy wskaźnik pięcioletnich przeżyć pacjentów otrzymujących chemioterapię adjuwantową w porównaniu z leczonymi wyłącznie resekcją (odpowiednio 49% v. 44%). Jednak u 30–40% chorych leczonych adjuwantowo występują działania niepożądane w stopniu 3.–4., a z powodu znacznej toksyczności ponad 50–70% pacjentów nie kończy zaplanowanego leczenia [10].

Dlatego kontynuowane są badania ukierunkowane na optymalizację schematów pooperacyjnej chemioterapii. W badaniu *Trial on Refinement of Early Stage Lung Cancer Adjuvant Therapy (TREAT)*, II fazy, z losowym doborem chorych, porównano leczenie adjuwantowe schematem cysplatyna i winorelbina z zestawem cysplatyna i pemetreksed [11]. W grupie otrzymującej zestaw zawierający winorelbina stwierdzono zdecydowanie większą mielotoksyczność (3.–4. stopnia) w porównaniu z grupą leczoną pemetreksedem (odpowiednio 73,5% v. 10,5%). Co więcej, zapla-

nowaną dawkę leczenia otrzymało jedynie 65% chorych w grupie z winorelbina i 90% w grupie z pemetreksedem. Ocena skuteczności leczenia wymaga jednak dłuższego czasu, kluczowe znaczenie będą miały obserwacje dotyczące czasu przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*).

Równocześnie z oceną skuteczności terapii analizowane są kliniczne i molekularne czynniki pozwalające określić potencjalną odpowiedź na leczenie. Należy je jasno odróżnić od markerów prognostycznych, które umożliwiają ocenę rokowania chorego niezależnie od zastosowanego leczenia. Szczególne nadzieje wiąże się z poszukiwaniem predykcyjnych markerów molekularnych, które pozwalają na indywidualne dostosowanie terapii do charakterystyki wiodących zaburzeń w genomie nowotworu. Tak zaplanowane leczenie istotnie zwiększa prawdopodobieństwo uzyskania odpowiedzi, a więc i szansę poprawy wskaźników przeżycia. Retrospektywna analiza IALT-BIO potwierdziła, że wysoka ekspresja białka ERCC1 (*excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1*) w tkance guza jest niekorzystnym czynnikiem predykcyjnym w leczeniu cysplatyną. Wykazano, że adjuwantowa CHT powodowała wydłużenie OS chorych z niską ekspresją ERCC1 w guzie (56 v. 42 miesiące; $p < 0,002$), natomiast nie zmieniła OS chorych z wysoką ekspresją ERCC1 (50 v. 55 miesiące; $p = 0,40$). Co więcej, w tej ostatniej grupie, ze względu na powikłania, terapia istotnie pogorszyła jakość życia. W efekcie u chorych nieleczonych chemioterapią adjuwantową czas przeżycia był znamienne dłuższy ($p = 0,009$) [12]. Również Beppler i wsp., badając grupę 784 chorych na NSCLC, przekonująco potwierdzili, że niski poziom ekspresji białek ERCC1 oraz RRM1 w materiale resekcyjnym jest czynnikiem predykcyjnym dobrej odpowiedzi na leczenie adjuwantowe (odpowiednio HR [*hazard ratio*] = 0,73 i HR = 0,84) [13]. U chorych poddanych wyłącznie leczeniu chirurgicznemu, u których stwierdzano wysoką ekspresję obu markerów, obserwowano dłuższy OS oraz istotnie wydłużony czas wolny od progresji choroby (PFS, *progression-free survival*), w porównaniu z pacjentami o niskim poziomie ekspresji obu białek lub podwyższonej ekspresji tylko jednego z nich. Tak więc niski poziom ekspresji ERCC1 oraz RRM1 wydaje się korzystnym czynnikiem predykcyjnym odpowiedzi na terapię związkami cysplatyny i gemcytabiną oraz jednocześnie negatywnym czynnikiem prognostycznym dla pacjentów niestosujących tej terapii. Wykazano też, że stwierdzenie konkretnych polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (SNP, *single nucleotide polymorphism*) w genie *ERCC1* wiąże

się ze stabilnością DNA, co warunkuje odpowiedź na chemioterapię, a szczególnie na leki działające na podstawie mechanizmu uszkodzenia DNA [14].

Podobne zależności zaobserwowano również dla innego genu uczestniczącego w syntezie i naprawie DNA — BRCA1 (*Breast Cancer 1, early-onset*). Niska ekspresja jego mRNA wydaje się miarodajnym markerem predykcyjnym odpowiedzi na terapię adjuwantową opartą na pochodnych cysplatyny, natomiast wysoka ekspresja mRNA BRCA1 jest niekorzystnym markerem prognostycznym dla grupy chorych po resekcji niepoddanych chemioterapii. Aktualnie badana jest również potencjalna przydatność kliniczna wielu innych markerów molekularnych. Opisane powyżej wydają się najbardziej obiecujące, a jednocześnie najbliższe wdrożenia do codziennej praktyki klinicznej.

W ostatnim okresie podejmuje się próby stosowania leczenia podtrzymującego po terapii indukcyjnej u tych chorych na NSCLC, którzy uzyskali regresję lub stabilizację w trakcie wstępnej terapii. W piśmiennictwie podkreśla się, że warunkiem kwalifikacji do takiego leczenia powinien być dobry stan sprawności i brak działań niepożądanych po przebytej terapii. Leczenie podtrzymujące polega na kontynuowaniu terapii lekiem stosowanym w pierwszej linii leczenia, aż do wystąpienia progresji lub nieakceptowalnych działań niepożądanych

Odmianą koncepcję realizuje leczenie konsolidacyjne, które polega na zastosowaniu innych schematów o potwierdzonej skuteczności w pierwszej lub drugiej linii leczenia oraz o odmiennym od leczenia indukcyjnego profilu działań niepożądanych. Opublikowano ostatnio wiele badań (FIDIAS, CECOG-JMEN, FLEX, SATURN, INFAC) oceniających efektywność leczenia podtrzymującego z zastosowaniem zarówno klasycznych leków cytotoksycznych, jak i preparatów molekularnie ukierunkowanych [15–18]. W ramach badania SATURN prowadzono leczenie inhibitorem kinazy tyrozynowej (EGFR TKI, *epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors*) erlotynibem, który włączano po podaniu 4 kursów standardowej terapii [18]. Obok istotnego wydłużenia PFS po raz pierwszy wykazano nieznaczny, choć znamiennej poprawę OS (odpowiednio 12 v. 11 miesięcy; HR = 0,81; p = 0,0088). Efekt działania erlotynibu był największy u chorych z potwierdzoną mutacją aktywującą genu *EGFR*.

Z kolei w badaniu *The Fracture Intervention Trial Long-Term Extension* (FLEX) analizowano skuteczność leczenia podtrzymującego prowadzonego na podstawie przeciwciał monoklonalnych anty-EGFR — cetuksymabu, wykazując wydłużenie OS o 1,2 miesiąca [17]. Jedynym klinicznym kryte-

rium wyróżniającym chorych dobrze reagujących na leczenie było wystąpienie zmian skórnych po pierwszym kursie leczenia.

Efektywność leczenia podtrzymującego w grupie około 300 chorych oceniono też w metaanalizie 13 badań randomizowanych, wykazując, że zastosowanie wydłużonej chemioterapii pozwala uzyskać również poprawę PFS (HR = 0,75; 95% CI [*confidence interval*]: 0,69–0,81; p < 0,0001), jednak przy granicznym wpływie na OS (HR = 0,92; 95% CI: 0,86–0,99; p = 0,03) [19].

Duże zainteresowanie budzą wyniki badania klinicznego III fazy PARAMOUNT [20]. Oceniano w nim efektywność leczenia pemetreksedem chorych na niepłaskonabłonkowego raka płuca, którzy po uprzedniej indukcyjnej chemioterapii (4 cykle cysplatyny z pemetreksedem) uzyskali stabilizację lub remisję. Kontynuacja terapii pemetreksedem (średnio 7–9 cykli v. placebo średnio 5 cykli) pozwoliła znamienne wydłużyć OS (13,9 v. 11 mies., HR = 0,78; p = 0,0195.) oraz PFS (4,1 v. 2,8 mies.; HR = 0,62; p = 0,00006). W grupie leczonej pemetreksedem istotnie częściej obserwowano działania niepożądane powyżej 3. stopnia toksyczności, najczęściej zmęczenie (odpowiednio 4,7 % v. 1,1%), anemię (4,4% v. 0,6%), neutropenię (5,8% v. 0%), nudności (0,6% v. 0%), które nie miały jednak istotnego wpływu na jakość życia chorych.

Podsumowując — leczenie podtrzymujące budzi nadal wiele kontrowersji. Nieznaczne wydłużenie życia jest związane ze znacznie skróconym czasem wolnym od leczenia, nie ma markerów predykcyjnych kwalifikujących do tej terapii, nierozwiązany pozostaje problem ewentualnej II linii leczenia. Oczekujemy na kolejne doniesienia, które mogą wpłynąć na zmianę schematów leczenia. Obecny stan wiedzy nie uzasadnia zalecania takiego postępowania.

W powszechnej opinii tradycyjne leki cytotoksyczne osiągnęły już pewne *plateau* zarówno pod względem wskaźników odpowiedzi, jak i przeżycia. Tymczasem rozwój biologii molekularnej przyczynił się do lepszego poznania procesów onkogenezy, a równocześnie umożliwił trafniejszą identyfikację potencjalnych punktów uchwytu dla leków. Duże nadzieje budzą leki celowane molekularnie z grupy drobnocząsteczkowych TKI oddziałujące na EGFR.

W azjatyckim badaniu III fazy *Iressa Pan-Asia Study* (IPASS) wykazano, że obecność mutacji aktywującej EGFR jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym dla leczenia gefitynibem. Kolejne wyniki badań potwierdziły większą korzyść ze stosowania TKI w porównaniu z chemioterapią u chorych na zaawansowanego raka gruczołowego płuca, u których występuje mutacja genu *EGFR*.

W badaniu WOJTOG3405 gefitynib porównano z chemioterapią (cysplatyna i docetaksel), uzyskując istotne korzyści ze stosowania gefitynibu, wydłużenie PFS (9,2 mies. v. 6,3 mies.) oraz wzrost odsetka odpowiedzi na leczenie (62% v. 32%) [21]. W badaniu NEJ002 gefitynib porównywano z chemioterapią (karboplatyna i paklitaksel) z bardzo podobnym efektem w zakresie PFS (odpowiednio 10,4 v. 5,5 mies.) i odsetka odpowiedzi na leczenie (74% v. 31%). [22]. W badaniu *Spanish Lung Cancer Group* (SLCG) zastosowanie erlotynibu u 217 chorych na zaawansowaną postać NSCLC pozwoliło wydłużyć PFS do 14 miesięcy [23].

Wynik europejskiego badania *European Erlotinib Versus Chemotherapy* (EURTAC) potwierdził, że również chorzy rasy kaukaskiej z mutacją aktywującą EGFR odnoszą istotne korzyści z zastosowania EGFR TKI, erlotynibu w I linii leczenia w porównaniu z chemioterapią [24]. Wykazano istotne wydłużenie PFS (erlotynib — 9,7 miesiące v. chemioterapia — 5,2 mies.; HR = 0,37; $p < 0,0001$) oraz poprawę odsetka odpowiedzi na leczenie (58% v. 15% pacjentów). W grupie leczonej erlotynibem ryzyko progresji choroby zmniejszyło się o 63%. Nie potwierdzono natomiast doniesień autorów chińskich, że lokalizacja mutacji w genie *EGFR* ma wpływ na wrażliwość wobec EGFR TKI. Warto podkreślić, że mediana PFS w badaniach europejskim EURTAC i azjatyckim IPASS jest porównywalna, odpowiednio 9,7 v. 9,5 miesiąca.

Ciekawe wnioski wypływają również z randomizowanego badania III fazy OPTIMAL prowadzonego w populacji azjatyckiej [25]. Porównywano wyniki leczenia pierwszego rzutu, chorych na zaawansowaną postać NSCLC z potwierdzoną mutacją aktywującą genu *EGFR*, którym podawano erlotynib lub chemioterapię opartą na pochodnych platyny. Mediana czasu przeżycia bez progresji wynosiła 13,1 miesiąca u pacjentów stosujących erlotynib i 4,6 miesiąca u pacjentów otrzymujących chemioterapię. Wykazano więc wydłużenie PFS o 8,5 miesiąca. Analiza podgrup wykazała, że korzyść z leczenia odnieśli także pacjenci z NSCLC EGFR+ o utkaniu innym niż gruczolakorak, a także aktualni palacze. Wspomniane wyniki stanowią kolejny argument w dyskusji nad celowością poszerzenia wskazań do diagnostyki w kierunku mutacji genu *EGFR* o chorych na NSCLC o utkaniu raka płaskonabłonkowego i raka wielkokomórkowego.

Korzyść z leczenia lekami z grupy drobnocząsteczkowych TKI potwierdziła opublikowana w 2012 metaanaliza 13 randomizowanych badań (ośmiu pierwszej i pięciu drugiej lub trzeciej linii leczenia), w której porównano efekty leczenia EGFR TKI (erlotynib lub gefitynib) z chemoterapią,

u chorych na raka gruczołowego płuca EGFR+. W I linii leczenia całkowity odsetek odpowiedzi (ORR, *overall response rate*) uzyskano u 70% chorych leczonych TKI i 33,2% leczonych chemioterapią. W II linii leczenia odsetek ten wynosił odpowiednio 47,4% v. 28,5%. Dla EGFR TKI wykazano obniżenie ryzyka progresji o 70% niezależnie od linii leczenia [26].

Zaletą TKI jest niewątpliwie ich dogodniejsza, doustna postać oraz możliwość prowadzenia terapii w domu. Warto też zauważyć, że w porównaniu z klasycznymi lekami cytotoksycznymi działania niepożądane preparatów z grupy inhibitorów kinazy tyrozynowej są odmienne i mniej nasilone (jedynie kilka procent działań niepożądanych w 3. i 4. stopniu toksyczności). Najczęściej występują wysypka, biegunka, zmęczenie, suchość skóry i błon śluzowych, zmiany troficzne skóry i paznokci. Opisano przypadki ostrej niewydolności wątroby, zwłaszcza u pacjentów z rozpoznawaną wcześniej przewlekłą chorobą wątroby lub nadużywających alkohol. Rzadkim powikłaniem jest śródmiąższowe zapalenie płuc, obserwowane u pacjentów w złym stanie ogólnym, po radioterapii, z wcześniejszymi objawami włóknienia płuc. Zwykle pojawia się ono dość gwałtownie w pierwszym okresie leczenia, u 1/3 pacjentów doprowadza do śmierci.

Tak więc optymalnym leczeniem dla chorych na zaawansowaną postać gruczolakoraka płuca, u których wykazano mutację aktywującą genu *EGFR*, zarówno w pierwszej, jak i w kolejnych liniach, są TKI. Dlatego zgodnie z aktualnymi zaleceniami wykonanie badań molekularnych w poszukiwaniu mutacji EGFR jest jednym z zasadniczych elementów prawidłowego postępowania diagnostycznego w gruczolowym raku płuca. Pominięcie tego etapu postępowania klinicznego jest błędem, potencjalnie ogranicza bowiem możliwość zastosowania skutecznego leczenia. Zasadnicze znaczenie ma również dostatecznie wyczerpująca ocena patomorfologiczna materiału tkankowego w ramach rutynowej diagnostyki chorych na raka płuca. Najnowsze rekomendacje jednoznacznie stwierdzają, że zakończenie diagnostyki na etapie różnicowania raka drobno- i niedrobнокomórkowego jest niewystarczające i należy dążyć do rozpoznania raka gruczołowego płuca albo płaskonabłonkowego. W tym pierwszym przypadku konieczne jest wykonanie badań molekularnych genu *EGFR* u każdego pacjenta potencjalnie kwalifikującego się do leczenia. Z punktu widzenia patologa oznacza to konieczność przygotowania materiału dla pracowni molekularnej, w tym dokonania oceny odsetkowej zawartości komórek nowotworowych. Taki tryb postępowania wymaga ścisłej współpracy pomiędzy klinicystą, patomorfologiem i biologiem

molekularnym. Diagnostyka molekularna jest wykonywana zarówno w materiale tkankowym, jak i cytologicznym. Zastosowanie wysokoczułych metod molekularnych pozwala równie skutecznie wykorzystywać materiał resekcyjny, jak również biopsyjny pozyskany za pomocą biopsji grubo- i cienkoigłowej, nawet w przypadku skąpej zawartości komórek nowotworowych (dopuszczalny próg komórek nowotworowych w materiale $\geq 5\%$ metoda PNA LNA clamp [peptide nucleic acid-locked nucleic acid] lub 10–20% — inne wysokoczułe metody wykorzystujące swoiste sondy molekularne, PH. Skorpion ARHS). Należy też podkreślić, że profil molekularny guza pierwotnego, zmian przerzutowych czy wznowy nie zawsze jest jednakowy, tak więc mogą się one różnić pod względem obecności i charakteru mutacji genu *EGFR*. Uzasadnione wydaje się, aby w miarę możliwości dokonywać oceny mutacji *EGFR* w aktualnie dostępnym materiale tkankowym.

Wiele nadziei jest związanych z nową generacją *EGFR* TKI, która charakteryzuje się zdolnością do nieodwracalnego łączenia z receptorem *EGFR*, a także *HER2* (afatynib). Wyniki badań przedklinicznych wskazywały na potencjalną skuteczność tych leków również wobec komórek raka gruczołowego z mutacją oporności T790M w eksonie 20 genu *EGFR*. Wstępne wyniki badania III fazy LUX-Lung 3 wykazały znamienne wydłużenie PFS u chorych leczonych afatynibem w pierwszej linii w porównaniu do chemioterapii (cysplatyna i pemetreksed), odpowiednio: 11,1 v. 6,9 miesiąca (HR = 0,58; p = 0,0004). W grupie chorych z mutacją aktywującą genu *EGFR*, PFS wynosił nawet 13,6 miesiąca. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi w grupie leczonej afatynibem była biegunka i zmiany skórne [27].

Szacuje się, że u około 15–20% chorych na NSCLC, a nawet 30–50% chorych na raka gruczołowego obecne są mutacje genu *KRAS* [14]. Istotnie częściej występują one u palaczy (25% v. 6%). Obecność mutacji *KRAS* wyklucza wystąpienie istotnych zmian w genie *EGFR*, stąd nie wykazano skuteczności *EGFR* TKI u pacjentów *KRAS*+. Sugeruje się natomiast, że obecność mutacji w kodonie 13. genu *KRAS* wiąże się z gorszą odpowiedzią na chemioterapię i gorszym rokowaniem. Dotychczasowe wyniki badań nie potwierdziły jednak przydatności oceny mutacji genu *KRAS* w kwalifikacji chorych do terapii adjuwantowej [28].

Obiecujące wydają się badania II fazy oceniające efekty leczenia selumetynibem (inhibitor *MET* [mesenchymal-epithelial transition] — zależnego szlaku przekazu sygnału) u chorych na NSCLC *KRAS*+ w drugiej linii w porównaniu

z docetakselem [29]. U chorych przyjmujących selumetynib wykazano znamienne lepszą odpowiedź na leczenie i wydłużenie PFS, jednak bez istotnej poprawy OS.

Duże nadzieje budzi wprowadzenie do praktyki klinicznej kolejnego markera predykcyjnego — genu fuzyjnego *EML4/ALK* (echinoderm microtubulare-associated protein-like 4 anaplastic lymphoma kinase). Występuje on u około 2–7% chorych na NSCLC, najczęściej młodych, niepalących mężczyzn z gruczolakorakiem. Gen ten wiąże się z opornością na leczenie zarówno standardową chemioterapią, jak i *EGFR* TKI, identyfikuje natomiast chorych dobrze odpowiadających (nawet w 3. linii leczenia) na kryzotynib — doustny, selektywny inhibitor kinaz *ALK* oraz *ROS1* (*c-ros oncogene1, receptor tyrosine kinase*) [30]. Dotychczasowe obserwacje kliniczne wskazują na spektakularną skuteczność preparatu w tej grupie chorych (ORR 57%), dość dobrą tolerancję leczenia oraz znamienne poprawę dwuletniego przeżycia (w porównaniu z grupą historyczną, a więc nieotrzymującą kryzotynibu). Obiecujące są badania I fazy u chorych na NSCLC z rearanżacją w genie *ROS1*, u których zastosowanie kryzotynibu pozwoliło uzyskać 57% obiektywnych odpowiedzi, zwykle już na początku terapii.

Istotne zmiany w strategii leczenia nowotworów dokonują się rzadko. Wydaje się, że mamy przyjemność pracować w okresie, kiedy dokonuje się zasadniczy przełom w terapii raka płuca, kiedy wiedza teoretyczna znajduje zastosowanie w praktyce klinicznej. Warunkiem stosowania nowych molekularnie ukierunkowanych form terapii jest jednak wdrożenie nowych standardów diagnostycznych, w tym rutynowej oceny mutacji genu *EGFR*, co niewątpliwie wymaga ścisłej współpracy pomiędzy klinicystami, patologami i biologami molekularnymi.

e-mail: j.chorostowska@igichp.edu.pl

Zasady określenia typu raka niedrobnokomórkowego płuca w materiale cytologicznym i małych wycinkach

Renata Langfort, Małgorzata Szotkowska

Od momentu wprowadzenia w 2011 roku rekomendacji zaproponowanych przez *International Association for the Study of Lung Cancer* (IASLC), *American Thoracic Society* (ATS), *European Respiratory Society* (ERS), w istotny sposób zmieniły się zasady postępowania i oceny materiału cytologicznego oraz niewielkich wycinków biopsyjnych u chorych na raka płuca [31]. Najistotniejsze doty-

czą zaawansowanych, nieoperacyjnych przypadków NSCLC, w których jedyną metodą leczenia jest chemio- i/lub radioterapia.

Do niedawna, poza stwierdzeniem komórek nowotworowych w badaniu, istotne było odróżnienie raka drobnokomórkowego od niedrobnokomórkowego, natomiast określenie typu NSCLC nie miało znaczenia, gdyż nie wpływało na sposób postępowania [31, 32].

Pojawienie się nowych metod leczenia spowodowało konieczność sprecyzowania postaci NSCLC, przede wszystkim odróżnienia raka gruczołowego (ADC, *adenocarcinoma*) i płaskonabłonkowego (SQCLC, *squamous cell lung cancer*), jak również zabezpieczenia materiału do dalszych badań molekularnych [31, 33].

Ze względu na ograniczoną liczbę rozmazów cytologicznych oraz niewielkie wymiary wycinków biopsyjnych, niezbędne stało się oszczędne dysponowanie materiałem w celu ustalenia rozpoznania, na co wpływ ma między innymi ścisła współpraca pomiędzy patologiem, pulmonologiem, torakochirurgiem, onkologiem i biologiem molekularnym, polegająca na przekazywaniu dokładnych danych klinicznych, dotyczących przede wszystkim potencjalnej operacyjności raka, przebytych chorób onkologicznych, planowanego leczenia, a zwłaszcza terapii celowanej [31, 33].

W około 60% raków niedrobnokomórkowych rozpoznanie ADC i SQCLC udaje się ustalić na podstawie cech morfologicznych i cytologicznych widocznych w mikroskopie świetlnym w standardowym barwieniu H + E (hematoksylina + eozyna) [31–33]. W pozostałych przypadkach konieczne jest wykonanie dodatkowych barwień histochemicznych, umożliwiających wykrycie śluzu w komórkach raka i reakcji immunohistochemicznych (IHC, *immunohistochemical*). Wybór właściwych przeciwciał IHC jest niezwykle ważny i powinien być ograniczony do minimalnej liczby, najbardziej skutecznych markerów, które pozwoliłyby na przybliżenie rozpoznania i jednocześnie na zachowanie dostatecznej ilości materiału do dalszej diagnostyki molekularnej [31, 33, 34].

Zaleca się stosowanie dwóch przeciwciał IHC, jednego charakterystycznego dla ADC i jednego dla SQCLC. Przeciwciałem o dużej swoistości dla ADC, sięgającej 97–100%, ale mniejszej czułości (54–75%) jest TTF-1, które wyjątkowo rzadko wykazuje ekspresję w SQCLC. Dodatnia reakcja przeciw TTF-1 pozwala na rozpoznanie postaci raka niedrobnokomórkowego o profilu immunohistochemicznym przemawiającym za różnicowaniem gruczołowym [33–35].

W celu potwierdzenia różnicowania płaskonabłonkowego najczęściej wykorzystuje się prze-

ciwciało p63, o dużej czułości (75–95%) i swoistości (70–100%), które jednak w 15–30% przypadków wykazuje ekspresję również w komórkach ADC. W przypadkach tych reakcja jest zwykle słaba i występuje ogniskowo, niemniej jednak może utrudniać właściwe rozpoznanie. Mocna, wyraźna ekspresja p63 w licznych jądrach komórek raka jest uznawana za reakcję pozwalającą na rozpoznanie raka niedrobnokomórkowego o profilu immunohistochemicznym przemawiającym za różnicowaniem płaskonabłonkowym raka [34–36].

Ostatnio pojawiło się przeciwciało p40, będące izoformą p63 ($\Delta Np63$), o podobnej czułości jak p63, ale znacznie lepszej swoistości, co wskazuje na jego większą przydatność w rozpoznawaniu różnicowania płaskonabłonkowego NSCLC [37].

Nie zawsze istnieje możliwość wykonania kilku reakcji. Gdy materiał jest bardzo skąpy, można posłużyć się tylko jednym przeciwciałem. Najczęściej jest polecane TTF-1, gdyż wyjątkowo rzadko wykazuje ekspresję w SQCLC, a ponadto reakcja dodatnia świadczy o pierwotnym płucnym pochodzeniu raka.

Ostatnio zaleca się stosowanie tak zwanych podwójnych barwień, które umożliwiają jednoczesne wykonanie reakcji IHC z dwoma przeciwciałami, w jednym wycinku, co pozwala na zaoszczędzenie materiału do badań molekularnych [32–34].

W przypadkach, w których na podstawie obrazu morfologicznego oraz wyniku wykonanych reakcji IHC nie udaje się określić typu NSCLC, stosuje się określenie NSCLC — NOS (*not otherwise specified*), oznaczające raka niedrobnokomórkowego, który nie wykazuje cech różnicowania gruczołowego lub płaskonabłonkowego i tym samym nie można przybliżyć jego typu [31, 33, 34].

Gdy materiał jest bardzo skąpy bądź liczba rozmazów cytologicznych ograniczona i nie pozwala na wykonanie reakcji IHC, można zrezygnować z barwień, rozpoznając NSCLC typu NOS. Wówczas w raporcie badania mikroskopowego należy umieścić informację o odstąpieniu od precyzyjniejszej diagnostyki, w celu zachowania materiału do badań molekularnych.

Dotychczas 30–40% raków niedrobnokomórkowych stwierdzanych w małych wycinkach i w rozmazach cytologicznych rozpoznawano jako NOS. Wprowadzenie do rutynowej diagnostyki reakcji IHC pozwoliło na zmniejszenie tej liczby do poniżej 10%, ale nadal dąży się do obniżenia przypadków uznanych za NOS [32–34].

Około 70% raków płuca jest diagnozowanych na podstawie małych wycinków i materiału cytologicznego. W związku z rozpowszechnieniem biopsji przezoskrzelowej i przezprzełykowej, wykonywanych pod kontrolą USG (EBUS-TBNA,

endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration, EUS-FNA, *endoscopic ultrasound-fine needle aspiration*) znacznie zwiększyła się liczba badań cytologicznych, które często są jedynym materiałem, na podstawie którego ustala się rozpoznanie raka [38].

Rozmazy cytologiczne stanowią pełnowartościowy materiał, który może być również wykorzystywany w diagnostyce IHC i molekularnej. Należy jednak pamiętać, że jest to materiał unikatowy, nie do odtworzenia, co ogranicza liczbę badań dodatkowych. W związku z tym, w ostatnim czasie jako uzupełnienie rozmazów cytologicznych zaleca się zabezpieczenie materiału do bloczków parafinowych (tzw. *cell block*). Z zawiesiny pobranej w trakcie nakłucia zmiany wykonuje się 2–3 rozmazy cytologiczne, natomiast pozostałą treść umieszcza się w gotowych mediach utrwalających lub zalewa dostępnymi płynami utrwalającymi. Tak uzyskany materiał, będący koncentratem komórek, pozwala na wykonanie większej liczby barwień, reakcji IHC i jednocześnie jest niezwykle cenny w diagnostyce molekularnej [33, 39, 40].

Podsumowując:

- 1) w małych wycinkach biopsyjnych lub rozmazach cytologicznych istotne jest nie tylko rozpoznanie raka i odróżnienie raka drobno- od niedrobnokomórkowego, ale także ustalenie typu NSCLC, odróżnienie ADC i SQCLC;
- 2) w przypadkach, w których na podstawie obrazu morfologicznego nie można określić postaci NSCLC, należy wykonywać diagnostykę IHC, dążyć do zmniejszenia liczby raków niedrobnokomórkowych typu NOS;
- 3) informacja o zastosowanych barwieniach dodatkowych powinna znaleźć się w protokole rozpoznania histopatologicznego razem z interpretacją wyników uzyskanych reakcji IHC i sugestią typu NSCLC;
- 4) konieczne jest zabezpieczenie materiału do dalszych badań molekularnych;
- 5) właściwe zarządzanie materiałem cytologicznym i tkankowym wymaga ścisłej współpracy pomiędzy patologiem i lekarzami innych specjalności zajmujących się rakiem płuca.

e-mail: r.langfort@igichp.edu.pl

Zakażenia układu oddechowego — najważniejsze publikacje 2012 roku

Jan Kuś

Przegląd publikacji chciałbym zacząć od niezwykle ciekawych prac poświęconych mało jeszcze znanej wśród lekarzy praktyków aktywności drob-

noustrojów. Drobnoustroje „porozumiewają się” w obrębie gatunku, jak również między gatunkami, za pośrednictwem wytwarzania i wydzielania drobnocząsteczkowych związków chemicznych, które służą jako sygnały. Zjawisko to nosi nazwę **quorum sensing (QS)**. Termin ten nie ma jeszcze szeroko przyjętego polskiego odpowiednika. Oznacza dosłownie „poczucie obecności”. Komunikacja QS odgrywa rolę, między innymi, w ekspresji zjadliwości drobnoustrojów i tworzeniu biofilmu. Wzrost populacji bakterii w narządzie, na przykład płucach i zwiększenie stężenia odpowiednich cząsteczek QS może wyzwolić zjadliwość szczepu i spowodować przejście kolonizacji w inwazję. Można sobie wyobrazić, że ingerencja w zjawisko QS może mieć znaczenie terapeutyczne, na przykład w zapaleniu płuc, przez wpływ na inwazyjność drobnoustrojów [41]. Jeśli chodzi o zakażenia układu oddechowego, zjawisko QS i możliwości jego wykorzystania w leczeniu są najlepiej, chociaż ciągle słabo, poznane w odniesieniu do *Pseudomonas aeruginosa*, między innymi poprzez hamowanie zjadliwości zależnej od QS za pomocą antybiotyków makrolidowych [42]. Jedną z pierwszych publikacji wskazujących na możliwość praktycznego wykorzystania QS w leczeniu chorych jest wielośrodkowa, międzynarodowa praca van Delden i wsp., wykonana metodą randomizacji z zastosowaniem placebo i podwójnie ślepej próby w grupie chorych mechanicznie wentylowanych, u których stwierdzono kolonizację dróg oddechowych przez *Pseudomonas aeruginosa* [43]. Do badania zrandomizowano 92 chorych, z których 85 nadawało się do analizy wyników badania. Zapalenie płuc wywołane przez *P. aeruginosa* wystąpiło u 2/43 otrzymujących azytromycynę i u 6/43 otrzymujących placebo. Różnica nie była znamienna statystycznie. Jednak, jeżeli wzięto pod uwagę 10 chorych skolonizowanych przez szczepy *P. aeruginosa* wytwarzające wysokie stężenie ramnolipidów, które są czynnikiem zjadliwości zależnym od zjawiska QS, stwierdzono, że zapalenie płuc o etiologii *P. aeruginosa* wystąpiło tylko u 1/5 leczonych azytromycyną i u wszystkich z 5 chorych otrzymujących placebo ($p = 0,047$). Wynik tej pracy wskazuje, że hamowanie QS może mieć znaczenie terapeutyczne. Autorzy zwracają uwagę, że stosowanie inhibitorów QS może selekcjonować szczepy bakterii w kierunku bardziej zjadliwych i przez to prowadzić do zwiększenia ryzyka zapalenia płuc po zaprzestaniu stosowania inhibitora. Stosowanie inhibitorów QS w praktyce klinicznej jest jeszcze w bardzo wczesnej fazie i wymaga dalszych badań.

Szybka diagnostyka różnicowa ostrych zakażeń układu oddechowego jest w praktyce trudna z tego powodu, że mogą one być spowodowane

przez bakterie, wirusy i infekcje mieszane. Nie-specyficzne objawy kliniczne infekcji bakteryjnych i wirusowych, uniemożliwiające ich odróżnienie, powodują niepotrzebne stosowanie antybiotyków w infekcjach wirusowych. Markerem, który zaczyna mieć praktyczne znaczenie w różnicowaniu, jest prokalcytonina (PCT, *procalcitonin*), której stężenie we krwi wzrasta w zakażeniach bakteryjnych. Schuetz i wsp. [44] w bardzo dużym, wielośrodkowym i międzynarodowym badaniu analizowali losy chorych z ostrymi zakażeniami układu oddechowego. Badanie obejmowało chorych leczonych zarówno ambulatoryjnie (głównie z objawami zakażenia górnych dróg oddechowych i oskrzeli), jak i ciężko chorych, leczonych na oddziałach intensywnej opieki medycznej (głównie z rozpoznaniem pozaszpitalnego zapalenia płuc) oraz chorych z zapaleniem płuc mechanicznie wentylowanych. W grupie ponad 2000 chorych decyzja o włączeniu antybiotyku i długości jego podawania była uzależniana od stężenia PCT we krwi. W podobnie licznej grupie kontrolnej decydowano o podaniu antybiotyku lub zakończeniu leczenia, nie biorąc pod uwagę stężenia PCT we krwi. Autorzy zwracają uwagę, że o ile stężenie PCT było używane u chorych ambulatoryjnych głównie do podjęcia decyzji czy w ogóle podać antybiotyk, to u chorych leczonych na oddziałach intensywnej opieki medycznej najczęściej służyło do podjęcia decyzji o zakończeniu antybiotykoterapii. W pracy wykazano, że uwzględnienie stężenia prokalcytoniny podczas podejmowania decyzji o potrzebie leczenia antybiotykiem i czasie jego podawania istotnie zmniejszyło zużycie antybiotyków. Rzadsze zlecenie antybiotyków lub krótsze ich stosowanie, wynikające ze stężenia PCT, nie powodowało wzrostu ryzyka zgonu lub niepowodzenia leczenia. Autorzy zastrzegają jednak, że powyższe twierdzenie nie jest ostateczne w odniesieniu do ciężko chorych leczonych na oddziałach intensywnej opieki i wymaga potwierdzenia w badaniach na znacznie większym materiale. Ostateczny wniosek z pracy jest taki, że badanie stężenia prokalcytoniny we krwi u chorych z podejrzeniem infekcji w drogach oddechowych może przyczynić się do racjonalizacji leczenia antybiotykami i zmniejszenia ich zużycia. Decyzja nie może być jednak podejmowana wyłącznie na podstawie pojedynczego kryterium, jakim jest stężenie PCT, ale musi brać pod uwagę czynniki ryzyka i objawy wskazujące na prawdopodobieństwo infekcji.

W codziennej praktyce spotkamy się z trudnościami rozpoznania inwazyjnych grzybic płuc, szczególnie u ciężko chorych, gdy niektóre metody diagnostyczne, szczególnie inwazyjne, nie mogą

być zastosowane. Zgodnie z aktualnymi wytycznymi, rozpoznanie inwazyjnej aspergilozy płucnej jest pewne tylko wtedy, gdy opiera się ono na badaniu biopsji płuca [45]. Jest to kryterium często trudne do spełnienia u chorych z niewydolnością oddychania i z obciążeniami ze strony innych narządów. Dodatni wynik hodowli materiałów niesterylnych, takich jak płwocina i wydzielina oskrzelowa, ma małą wartość diagnostyczną, ponieważ najczęściej świadczy o kolonizacji. Autorzy z ośrodka w Ghent (Belgia) w międzynarodowym badaniu z udziałem ośrodków z Grecji, Portugalii, Francji i Hiszpanii, Brazylii, Chin i Indii zebrali 524 chorych leczonych na oddziałach intensywnej opieki, którzy mieli przynajmniej jeden dodatni wynik posiewu aspiratu z tchawicy na obecność *Aspergillus fumigatus* [46]. Podstawową chorobą u jednej trzeciej z tych chorych była przewlekła obturacyjna choroba płuc, u jednej piątej choroba nowotworowa, 52 osoby były po przeszczepieniu narządów, 240 chorych było leczonych immunosupresyjnie, w tym glikosteroidami. Autorzy opracowali kliniczny algorytm rozpoznania inwazyjnej aspergilozy płuc u ciężko chorych, u których biopsja płuca jest niemożliwa. Autorzy proponują ten algorytm jako alternatywę dla obecnie obowiązujących wytycznych, które dla pewnego rozpoznania zalecają biopsję płuca. Proponowany algorytm jest dość rozbudowany i niemożliwy do przytoczenia w tym miejscu w całości. Jego podstawowe 4 elementy to: 1) dodatni wynik posiewu w kierunku *Aspergillus* materiału z dolnych dróg oddechowych; 2) zestaw objawów klinicznych, wśród nich gorączka nieustępująca po 3 dniach leczenia antybiotykami i postępująca niewydolność oddychania; 3) zaciemnienia w radiogramie płuc wykonanym przy łóżku lub w tomografii komputerowej płuc; 4) jeden z: 4a) czynniki ryzyka (między innymi leukopenia i glikosteroidoterapia) lub 4b) dodatni półilościowy posiew płynu z płukania oskrzelowo-pęcherzykowego (BAL, *bronchioalveolar lavage*) na obecność *Aspergillus* z obecnością strzępków grzybni w badaniu mikroskopowym, przy braku wzrostu bakterii w hodowli. Jeżeli nie występuje jedno lub więcej z wymienionych czterech kryteriów, należy rozpoznać kolonizację. Rozpoznanie inwazyjnej aspergilozy płucnej weryfikowano badaniem biopsji płuca lub badaniem pośmiertnym u 115 osób; 79 z nich miało mikroskopowe cechy inwazyjnej aspergilozy płuc, co stanowi 15,1% z całej grupy 524 osób z dodatnim posiewem aspiratu z tchawicy. Stosując tylko opisany algorytm, inwazyjną aspergilozę rozpoznano u 86 osób, w 72 przypadkach wynik badania mikroskopowego wycinka płuc (przyżyciowego lub pośmiertnego)

potwierdził rozpoznanie, w 22 — wykluczył inwazyjną aspergilozę. U 29 chorych — na podstawie przyjętego algorytmu rozpoznano kolonizację. Wynik badania mikroskopowego wycinka płuca wykluczył inwazję (czyli potwierdził kolonizację) u 22 osób z tej grupy. Zgodnie z tymi wynikami czułość proponowanych kryteriów rozpoznania inwazyjnej aspergilozy płuc u ciężko chorych bez możliwości wykonania biopsji płuca wynosi 92%, a swoistość 61%.

Duże znaczenie praktyczne ma wielośrodkowe badanie skuteczności wstępnego leczenia pozaszpitalnego zapalenia płuc i sepsy, którego głównym celem było poszukiwanie czynników mających największy wpływ na przeżycie chorych i długość hospitalizacji [47]. Wartość pracy podnosi jej prospektywny charakter oraz duża liczba uczestników. Badaniem objęto 4137 chorych z rozpoznaniem zapalenia płuc potwierdzonym badaniem radiologicznym. Sepsę i ciężką sepsę rozpoznawano na podstawie klasycznych, szeroko przyjętych kryteriów. W ocenie prawidłowości postępowania z chorymi na zapalenie płuc brano pod uwagę: 1) pomiar saturacji krwi tętniczej tlenem, 2) czas od przybycia chorego do szpitala do podania antybiotyku, 3) zgodność zastosowanych antybiotyków z lokalnymi wytycznymi. Za leczenie zgodne z wytycznymi uważano stosowanie następujących antybiotyków:

- u chorych leczonych na oddziale zachowawczym — amoksycylina z kwasem klawulanowym plus makrolid albo cefalosporyna trzeciej generacji plus makrolid albo monoterapia fluorochinolonom trzeciej albo czwartej generacji;
- u chorych leczonych na oddziałach intensywnej opieki medycznej — amoksycylina z kwasem klawulanowym plus makrolid lub fluorochinolon albo cefalosporyna trzeciej generacji plus makrolid lub fluorochinolon.

Leczenie innymi antybiotykami uważano za niezgodne z wytycznymi. Należy dodać, że podane wyżej leczenie pozaszpitalnego zapalenia płuc jest zgodne z aktualnymi wytycznymi europejskich towarzystw: ERS i *The European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID) [48]. Spośród 4137 chorych na zapalenie płuc 67,8% miało objawy sepsy oraz 38% objawy ciężkiej sepsy. Zestawy antybiotyków zgodne z wytycznymi otrzymało 73% leczonych, a 74% otrzymało antybiotyk w ciągu pierwszych 6 godzin od przybycia do szpitala. Najczęstszą niezgodnością z wytycznymi było leczenie zapalenia płuc antybiotykami beta-laktamowymi w monoterapii u chorych hospitalizowanych. Stosowanie anty-

biotyków zgodnie z wytycznymi było istotnym czynnikiem wpływającym na zmniejszenie śmiertelności chorych. W grupie chorych z objawami sepsy był to czynnik najważniejszy. Śmiertelność w czasie hospitalizacji wynosiła 3,4% w grupie leczonej antybiotykami zgodnie z wytycznymi oraz 5,8% w grupie leczonej inaczej. Różnica ta jest statycznie istotna na poziomie $< 0,001$. Również czas hospitalizacji chorych leczonych zestawem antybiotyków zgodnym z wytycznymi był istotnie krótszy niż w grupie leczonej inaczej. Drugim ważnym czynnikiem był czas podania antybiotyków. W grupie chorych na zapalenie płuc z objawami ciężkiej sepsy wskaźnik śmiertelności szpitalnej był istotnie niższy wśród chorych, którzy otrzymali antybiotyki zgodnie z wytycznymi pod warunkiem, że zostały one zastosowane przed upływem 6 godzin od przybycia chorego do szpitala. Praca dowodzi, że przestrzeganie wytycznych leczenia zapalenia płuc ma istotny wpływ na zmniejszenie śmiertelności i skrócenie hospitalizacji z powodu tej choroby.

e-mail: j.kus@igichp.edu.pl

Postępy pneumonologii dziecięcej

Katarzyna Krenke, Urszula Demkow

Astma oskrzelowa

Przedmiotem dużego zainteresowania w ostatnich latach jest zagadnienie wpływu drobnoustrojów na patogenezę i zaostrzenia astmy u dzieci. Obecnie najważniejszą rolę wśród wirusów wywołujących zaostrzenia astmy przypisuje się rhinowirusom (HRV, *human rhinovirus*). Wyodróżniona przy użyciu metod molekularnych grupa HRV-C (do niedawna około 100 serotypów HRV klasyfikowano w dwóch grupach HRV-A i HRV-B) odgrywa szczególną rolę u dzieci chorujących na astmę. Wirusy z grupy HRV-C mają zdolność łączenia się z niektórymi specyficznymi receptorami komórkowymi i wywoływania zaostrzeń tej choroby. Są one wykrywane przede wszystkim u dzieci hospitalizowanych z powodu zaostrzeń astmy [49]. Opracowano szczepionkę przeciwko HRV-C, która przeszła pozytywnie fazę testów na zwierzętach i pierwszą fazę testów klinicznych, dalsze badania zaplanowane są na 2013 rok. Szczepionka ma być przeznaczona dla chorych na astmę mających częste zaostrzenia wywoływane przez infekcje wirusowe [50].

Zainteresowanie rolą bakterii w patogenezie chorób układu oddechowego wzrosło w ostatnim czasie z powodu odkrycia, że dolne drogi odde-

chowe nawet u osób zdrowych nie są jałowe [51]. Z ostatnio opublikowanych badań wynika, że u chorych na astmę obecność bakterii w układzie oddechowym może wpływać na efekty leczenia poprzez modyfikację aktywności receptora glikokortykosteroidowego lub intensyfikację zapalenia w drogach oddechowych [50].

Wiele opublikowanych ostatnio prac naukowych dotyczy roli witaminy D (wit. D) w astmie. Pomimo kontrowersji wokół tego tematu większość prac dowodzi negatywnego wpływu niedoborów wit. D na przebieg astmy. Stwierdzono, że obniżone stężenie wit. D u kobiet w ciąży może mieć wpływ na rozwój płuc oraz układu odpornościowego u ich dzieci [52]. Dzieci urodzone przez matki z niedoborami wit. D mają częściej epizody świszczącego oddechu w porównaniu z grupą kontrolną. Natomiast u pacjentów chorujących na astmę niedobór wit. D wiąże się z bardziej nasilonymi objawami, częstszymi zaostrzeniami, obniżeniem wyników badań czynnościowych płuc, zwiększeniem zużycia leków i częstszymi zaostrzeniami choroby [52]. Ponieważ wykazano, że wit. D zwiększa odpowiedź na glikokortykosteroidy poprzez aktywację receptora glikokortykosteroidowego w drogach oddechowych, podjęto próbę wziewnego zastosowania wit. D w celu zwiększenia efektywności leczenia. W badaniach na zwierzętach podawana wziewnie wit. D zmniejszała nadreaktywność oskrzeli. Badania fazy klinicznej planowane są na rok 2013 [50].

Zapalenia płuc u dzieci

W 2011 roku ukazały się aktualizacje brytyjskich [53] oraz amerykańskie [54] wytyczne leczenia pozaszpitalnych zapaleń płuc (CAP, *community acquired pneumonia*) u dzieci. Dokumenty te zostały opracowane na podstawie analizy szerokiej bazy publikacji z ostatnich lat. W zakresie etiologii zapaleń płuc u dzieci rozszerzył się zakres drobnoustrojów mogących wywołać tę chorobę. Spośród stosunkowo nowo odkrytych wirusów, ludzkie metapneumowirusy wywołują 8–12%, ludzkie bokawirusy 4,5–15,2%, a koronawirusy do 6,5% CAP u dzieci. Etiologia wirusowa dominuje u dzieci najmłodszych szczególnie poniżej 1. rż. (77% wszystkich zapaleń płuc), w 2. rż. odsetek ten spada do 59% [53].

Streptococcus pneumoniae uznawany jest nadal za najczęstszy bakteryjny czynnik etiologiczny CAP nawet w krajach, które wprowadziły powszechne szczepienia przeciwko pneumokokom. W Stanach Zjednoczonych zastosowanie szczepionki 7-walentnej spowodowało obniżenie odsetka hospitalizacji z powodu CAP u dzieci o 33%, a CAP wywołanych przez *Streptococcus*

pneumoniae o 67%. Należy pamiętać jednak, że dotyczy to dzieci do 2. rż., w późniejszych latach życia efekt ten zanika [55].

Bakterie atypowe są tradycyjnie uznawane za czynniki etiologiczne CAP u dzieci powyżej 5. rż., jednakże badania ostatnich lat wskazują, na znaczący udział tych bakterii w wywoływaniu CAP u dzieci najmłodszych. W grupie do 4. rż. mogą być one powodem nawet do 23% CAP. Spośród nowo odkrytych bakterii *Simkania negevensis*, bakteria o budowie i właściwościach przypominających chlamydie, jest uważana za kolejny czynnik etiologiczny CAP. Przebieg kliniczny zapaleń płuc przez nią wywoływanych jest zbliżony do atypowych zapaleń płuc, podobna jest także wrażliwość na antybiotyki makrolidowe [53].

Ponieważ jak dotąd nie udało się ustalić klinicznych, laboratoryjnych ani radiologicznych kryteriów odróżniających CAP bakteryjne od wirusowych British Thoracic Society (BTS) zaleca leczyć antybiotykiem dzieci chorujące na zapalenia płuc, z wyjątkiem grupy, w której prawdopodobieństwo zakażenia wirusowego jest największe. Są to dzieci poniżej 2. rż. z łagodnymi objawami zakażenia dolnych dróg oddechowych, szczególnie jeśli były zaszczepione przeciwko *Streptococcus pneumoniae*. W pozostałych przypadkach lekiem z wyboru w CAP jest amoksycylina zarówno u dzieci młodszych, jak i starszych (w poprzednich zaleceniach BTS, u dzieci powyżej 5. rż. lekiem pierwszego wyboru był makrolid). Antybiotyki makrolidowe zaleca się obecnie dołączyć do amoksycyliny jeśli nie ma efektu po jej zastosowaniu jako pierwszego antybiotyku oraz jeśli istnieją przesłanki, że CAP jest wywołane przez bakterie atypowe [53].

W wytycznych amerykańskich wyróżniono grupę dzieci leczoną poza szpitalem, gdzie lekiem z wyboru zarówno u młodszych jak i starszych pacjentów jest amoksycylina (alternatywa amoksycylina/kwas klawulanowy). Natomiast wpływ na wybór antybiotyku u dzieci z CAP wymagających leczenia szpitalnego ma przede wszystkim historia przebytych szczepień ochronnych. U dzieci zaszczepionych przeciwko *Haemophilus influenzae* oraz *Streptococcus pneumoniae* zaleca się ampicylinę, natomiast u nieszczepionych — lekiem pierwszego rzutu powinien być ceftriakson lub cefotaksym [54].

Choroby śródmiąższowe wieku dziecięcego

W ostatnich latach dokonał się znaczący postęp w zakresie wiedzy na temat chorób śródmiąższowych u dzieci. Jest on rezultatem rozwoju badań genetycznych i histopatologicznych oraz udoskonalenia metod radiologicznych i biopsyj-

Tabela 1. Choroby śródmiąższowe wieku dziecięcego o udowodnionym podłożu genetycznym [56]**Table 1.** Interstitial lung diseases in children with well defined genetic background [56]

Choroba	Lokalizacja najczęstszych zaburzeń genetycznych	Krótką charakterystyka choroby
ACDMPV	16q24.1 Dziedziczenie autosomalne dominujące, sporadyczna mutacja	Choroba typowa dla donoszonych noworodków, objawy zwykle po urodzeniu w postaci niewydolności oddechowej i nadciśnienia płucnego. Rokowanie złe
SP-B	2p12-p11.2 Dziedziczenie autosomalne recesywne (w przypadku homozygot choroba letalna)	Noworodki donoszone, objawy ciężkiej, rozsianej choroby płuc występujące zwykle w pierwszych godzinach życia. Rokowanie złe
SP-C	8p21 Dziedziczenie autosomalne dominujące, mutacje sporadyczne	Początek choroby od okresu niemowlęcego do wieku dorosłego. Różnie nasilone objawy ze strony układu oddechowego: hipoksemia, rozsiane zmiany w badaniach radiologicznych, brak przyrostu masy ciała.
Niedobór białka ABCA3	16p.13.3 Dziedziczenie autosomalne recesywne	Początek objawów w okresie niemowlęcym lub późniejszym dzieciństwie.
Zespół mózgowo-tarczycowo-płucny	14q13.3 Dziedziczenie autosomalne dominujące, mutacje sporadyczne	Wrodzona niedoczynność tarczycy, ostra niewydolność oddychania w okresie noworodkowym, zaburzenia neurologiczne
Zaburzenia receptora dla GM-CSF	Xp22.32, Yp11.3 Dziedziczenie autosomalne recesywne	Początek objawów w dzieciństwie. Objawy proteinozy płucnej

ACDMPV (*alveolar capillary dysplasia associated with misalignment of pulmonary veins*) — dysplazja pęcherzykowo-włośniczkowa z anomalią naczyń płucnych; SP-B (*surfactant protein B*) — niedobór białka B surfaktantu; SP-C (*surfactant protein C*) — niedobór białka C surfaktantu; ABCA3 — *ATP binding cassette family of transporters*; GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) — czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów

nych. Doprowadziło to do wyróżnienia grupy chorób śródmiąższowych specyficznych dla najmłodszych grup wiekowych. Genetyka chorób śródmiąższowych należy do najszybciej rozwijających się dziedzin. Odkryto szereg mutacji genów kodujących białka niezbędne do produkcji surfaktantu (SP-B [*surfactant protein B*], SP-C [*surfactant protein C*], ABCA3 [*ATP binding cassette family of transporters*]) oraz genów odpowiedzialnych za katabolizm surfaktantu (mutacja receptora dla GM-CSF [*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*]). Kolejną grupę stanowią mutacje czynników transkrypcyjnych ważnych dla produkcji surfaktantu (TTF1, *thyroid transcription factor 1*), których defekt powoduje wystąpienie zespołu mózgowo-tarczycowo-płucnego oraz czynników transkrypcyjnych odpowiedzialnych za rozwój płuc (Fox F1, *forkhead box family of transcription factors*), których defekt prowadzi do dysplazji pęcherzykowo-włośniczkowej z anomalią naczyń płucnych. W przypadku niektórych chorób śródmiąższowych wieku dziecięcego, jak neuroendokrynną hiperplazja czy glikogenoza płucna, mimo dowodów na rodzinne występowanie, tło genetyczne nie zostało jak dotąd udowodnione [56]. W tabeli 1 zebrano choroby śródmiąższowe wieku dziecięcego o udowodnionym w ostatnim czasie podłożu genetycznym.

Gruźlica u dzieci

Na podstawie szacunków epidemiologicznych ocenia się, że nadal dużym problemem pozostaje niedodiagnozowanie gruźlicy dziecięcej, szczególnie w populacjach o wysokiej zapadalności [57]. W rejonach endemicznych gruźlica pozostaje jedną z głównych przyczyn zgonów u dzieci. Wprowadzenie strategii DOTS (*directly observed treatment, short-course*) znacząco poprawiło kontrolę gruźlicy u dorosłych, jednak znacznie mniejszy odsetek dzieci niż dorosłych jest leczonych według DOTS z uwagi na rzadkie wykrywanie prątków w badaniu bezpośrednim [57]. Ekspertki podkreślają, że istotnym problemem pozostaje współistnienie zakażenia wirusem HIV i prątkiem gruźlicy u dzieci. Podwójnie zakażone (prątkiem gruźlicy i wirusem HIV) matki w krajach o wysokiej zapadalności, zakażają swoje dzieci już w okresie niemowlęcym [57]. Wczesne wprowadzenie terapii antyretrowirusowej u matek jest zatem bardzo ważną interwencją zmniejszającą ryzyko zakażenia dzieci wirusem HIV. Nadal nie zaleca się szczepienia BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) u dzieci zakażonych wirusem HIV od matki w czasie ciąży lub po urodzeniu, ze względu na możliwość rozwoju rozsianej choroby spowodowanej prątkami BCG. Dostępne są jedynie dane szacunkowe Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) zakładające, że

odsetek chorych dzieci na gruźlicę wielolekooporną wynosi około 3–4% [57].

Profilaktyka rozwoju aktywnej postaci choroby nadal polega na podawaniu izoniazydu przez 6 miesięcy [57]. Jednakże ze względu na długi czas trwania kuracji poziom akceptacji takiej profilaktyki przez rodziców jest niski [57]. Jako alternatywę można stosować 3-miesięczną kurację izoniazydem z ryfampicyną [57].

Wykrywanie ukrytego zakażenia prątkiem gruźlicy u dzieci nadal opiera się przede wszystkim na wynikach testu tuberkulinowego [58]. Według WHO nie należy zastępować testu tuberkulinowego u dzieci testami IGRA (*interferon-release assay*) [58]. Oba testy w populacji dziecięcej mają ograniczoną czułość, ale ich łączne stosowanie pozwala uzyskać dodatkowe informacje, które należy interpretować w świetle całej wiedzy o chorobie [58].

U dorosłych testy IGRA nie są zalecane do wykrywania aktywnej gruźlicy. Jednak u dzieci ze względu na trudności w rozpoznawaniu gruźlicy i w uzyskaniu potwierdzenia bakteriologicznego, dopuszcza się stosowanie testów IGRA razem z testem tuberkulinowym do potwierdzenia rozpoznania aktywnej gruźlicy w przypadkach, gdy obraz kliniczny jest charakterystyczny dla tej choroby [58]. Istotnym problemem u dzieci są wyniki nieokreślone testu IGRA oraz znacznie wyższa niż u dorosłych niezgodność między testem tuberkulinowym a wynikiem testu IGRA. Przyczyna tej niezgodności jest niewyjaśniona [58]. Niedoskonałość dostępnych metod diagnostycznych stwarza konieczność poszukiwania bardziej wiarygodnych testów w przyszłości.

Bardzo ciekawym doniesieniem była informacja, że szczepionka BCG zapobiega latentnemu zakażeniu prątkiem gruźlicy u dzieci potwierdzonym testem IGRA. Pozwala to na nowe spojrzenie na skuteczność szczepionki oraz podtrzymuje hipotezę, że szczepionka BCG u dzieci zapobiega nie tylko aktywnej chorobie, ale również zakażeniu prątkiem. A zatem mechanizm działania szczepionki polega nie tylko na jej działaniu poprzez swoiste limfocyty T ale również na wczesne, nieswoiste fazy odpowiedzi immunologicznej na zakażenie prątkiem. Testy IGRA wydają się być pomocnym narzędziem służącym do oceny skuteczności nowych szczepionek zapobiegającym gruźlicy [57].
e-mail: demkow@litewska.edu.pl

Astma 2012 — bez rewelacji

Paweł Górski

Lata 2010, 2011 i początek roku 2012 to okres wielokierunkowych badań podstawowych i two-

żenia nowych koncepcji praktycznych związanych przede wszystkim z indywidualizacją postępowania medycznego w myśl rozwijających się w wielu dziedzinach zasad personalizacji (*personalized medicine*). Ogólne wytyczne medycyny opartej na dowodach (EBM, *evidence based medicine*) nie pozostają w sprzeczności z tak rozumianą praktyką, choć podstawowe narzędzie EBM, jakim jest statystyka, schodzi tu na dalszy plan, zaś praktykę medyczną opiera się na prognozie indywidualnych reakcji chorego w związku z jego płcią, kulturą zdrowotną, rasą, a przede wszystkim z genotypem.

Efektom takiego rozumowania są próby szacowania indywidualnego fenotypu, co ma ułatwić prognozowanie skuteczności terapii. Od dawna też postrzega się zróżnicowanie fenotypu tak daleko idące, że niektórzy przestają uważać astmę za jednostkę nozologiczną i zalecają traktowanie jej jako zespół chorobowy.

W omawianym okresie istotny postęp zanotowano w ocenie czynników ryzyka astmy. Najważniejsze wydają się tutaj badania prospektywne kobiet ciężarnych i ich dzieci w aspekcie diety w ciąży, terapii astmy u tych kobiet, oddziaływań środowiska, a także badania wpływu środowiskowego w okresie noworodkowym na zachorowalność na astmę w wieku dziecięcym. W zakresie farmakoterapii astmy obserwuje się stabilizację, skoro ukształtowane w ostatnim dziesięcioleciu doktryny nie uległy zasadniczej korekcie, a lekami wiodącymi są wziewne kortykosteroidy, długodziałający beta agoniści, a u dzieci chorych także montelukast.

Astma — mechanizmy

Liczne doniesienia wyjaśniają mechanizm przebudowy dróg oddechowych u chorych na astmę, potwierdzając bezpośrednią rolę nabłonków oraz krytyczną rolę cytokin uwalnianych z komórek Th17. Najważniejszą cytokiną pobudzającą przebudowę jest TGF- β (*transforming growth factor-beta*), którego głównym źródłem są co prawda eozynofile, ale współuczestniczą w tym praktycznie wszystkie komórki troficznnej jednostki nabłonkowo-mezenchymalno-mięśniowej. Z cytokin tradycyjnie przypisywanych mechanizmom astmatycznym ważną rolę w pobudzaniu przebudowy, a w szczególności zwłóknienia podnabłonkowego i przyrostu masy mięśniowej odgrywa IL-13 (*interleukin 13*). Stwierdzono ponadto, że bezpośrednia interakcja limfocytów T z komórkami mięśni gładkich odbywa się poprzez molekuly adhezyjne tj. ICAM-1 (*anti-intercellular adhesion molecule-1*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) i CD44 na mięśniach gładkich i prowadzi do ich proliferacji oraz przerostu.

Kolejne doniesienia potwierdziły profibrotyczną rolę IL-11, a także wyjaśniły rolę IL-9 jako odpowiedzialnej za proliferację i dojrzewanie mastocytów. Mastocyty odpowiadają raczej za nadreaktywność niż strukturalną przebudowę dróg oddechowych.

Ciekawy wgląd w podstawowe mechanizmy alergii i astmy przyniosło odkrycie, że ryzyko świstów i rozwoju astmy u dzieci zmniejsza się wraz ze wzrostem stężenia IgG (*immunoglobulin G*) w surowicy. Stanowi to kolejny przyczynek potwierdzający potencjalny mechanizm skuteczności odczulania.

Corrigan i wsp. wykazali, że ekspresja IL-25 i jej receptorów na nabłonku wzrasta podczas zaostreżeń astmy wywołanej zarówno alergenami, jak i zanieczyszczeniami powietrza atmosferycznego oraz infekcjami [59].

W ostatnich 4–5 latach obserwuje się wzrastające zainteresowanie badaczy rolą pierwotnej odporności (*innate immunity*) w rozwoju astmy i alergii. Można zaryzykować twierdzenie, że ciężar badań przenosi się z tradycyjnego toru transdukcji sygnału zależnego od NF-AT — *nuclear factor of activated T cells (adoptive immunity)* na tor zależny od NF- κ B (*nuclear factor kappaB*). Wiele doniesień potwierdza fundamentalną rolę pierwotnej odporności, a w szczególności receptorów TLR (*toll like receptors*) i mechanizmów od nich zależnych w rozwoju astmy. W bardzo istotnym z klinicznego punktu widzenia badaniu Custovic i wsp. wykazali istotną rolę polimorfizmów TLR 2 w zapobieganiu rozwojowi astmy u dzieci uczęszczających do przedszkoli [60].

Sprawą o znaczącej roli wydaje się odkrycie, że nuocyty jako źródło IL-13 są prawdopodobnie odpowiedzialne za rozwój astmy [61].

Rolę pierwotnej odporności potwierdzają także badania nad aktywnością komórek NKT (*natural killer T-cells*) [62].

Astma — postępowanie

Kortykosteroidy wziewne na długo jeszcze pozostaną podstawowym narzędziem postępowania lekarskiego u chorych na astmę. Williams i wsp. wykazali w dużej populacji mieszkańców Detroit, że większość ciężkich napadów astmy wynikała z niestosowania się chorych do zaleceń lekarskich, a w szczególności do używania wziewnych kortykosteroidów [63]. Opisano blokowanie microRNA za pomocą kortykosteroidów i hamowanie na tej drodze rozwoju zapalenia alergicznego u myszy. Stwarza to pewne perspektywy do badań nad nowymi lekami u chorych na astmę. Potwierdzono, że tiotropium dodane do tradycyjnej terapii kortykosteroidami i długodziałającymi beta agonistami

poprawia czynność płuc w ciągu 8 tygodni terapii. Próbę zastosowania metod *personalized medicine* stanowi badanie grupy holenderskiej nad skutecznością terapii kortykosteroidami u osób stygmatyzowanych genotypem Serpine1-675 4G/5G. Osoby posiadające allel 5G reagują klinicznie bardzo żywo na wziewne kortykosteroidy, ale tylko w początkowej fazie terapii, po czym następuje szybki spadek wartości FEV₁ (*forced expiratory volume in 1 second*) [64].

Ważna obserwacja potwierdza rolę przebudowy, objawiającej się trwałym zaburzeniem funkcji płuc, w zwiększaniu częstości zaostreżeń astmy. Lata 2011–2012 nie przyniosły natomiast rozstrzygnięcia, czy jakakolwiek farmakoterapia z użyciem kortykosteroidów wziewnych włącznie wpływa na rozwiniętą przebudowę dróg oddechowych. Wskazano jednak na hamowanie tempa pogarszania się czynności płuc u osób systematycznie zażywających kortykosteroidy. Nie wykazano natomiast istotności ani leków przeciwleukotrienowych, ani omalizumabu w hamowaniu przebudowy dróg oddechowych. Jednak wiele nadziei budzi wykonywana w nielicznych ośrodkach termoplastyka mięśni gładkich. Stwierdzono poprawę zarówno w zakresie przebudowy, jak i ciężkości astmy utrzymującą się co najmniej rok po zabiegu.

Astma — czynniki ryzyka

Wykazano, że czynniki ryzyka są odmienne w różnych populacjach, a zatem można mówić o ich zróżnicowaniu etnicznym. Wiele prac poświęcono genetycznym czynnikom ryzyka astmy. W najważniejszym badaniu obejmującym 10 000 przypadków i 16 000 osób w grupie kontrolnej (GABRIEL 14) zlokalizowano 10 LOCI genowych o bardzo wysokim związku z występowaniem astmy, wśród których szczególne miejsce wydaje się mieć locus 17q21 [65]. Do grupy ważnych dla rozwoju astmy polimorfizmów genetycznych dołączył zatem locus 17q21. Według Lluisa i wsp. może on mieć większe znaczenie niż jakiegokolwiek dotychczas sugerowane odmiany genetyczne [66]. Ciekawe doniesienia dotyczą roli zmian epigenetycznych, a w szczególności zaburzeń metylacji motywów CpG oraz tak zwanych genów uśpionych.

Co najmniej kilka doniesień jednoznacznie potwierdza wpływ otyłości zarówno na ujawnienie się, jak i na ciężkość astmy. Dotyczy to dzieci oraz dorosłych. Lowe wykazał, że dzieci matek, których BMI (*body mass index*) w ciąży jest wyższy niż 35, mają o 57% wyższe ryzyko używania leków przeciwastmatycznych w wieku 8–10 lat [67]. U otyłych dorosłych znacznie częściej dominuje

fenotyp neutrofilowy niż eozynofilowy astmy. Nie tylko dieta o kontrolowanej zawartości kalorii, ale także wysoka zawartość w niej antyoksydantów decydują o zmniejszaniu ryzyka astmy.

Ciekawe doniesienie Siltanena pokazuje, że niska masa urodzeniowa, czyli poniżej 1500 g, noworodków zmniejsza ryzyko wystąpienia alergii, a zatem także astmy w wieku dojrzałym [68].

Wiele wskazuje na rolę wczesnej ekspozycji na antybiotyki w rozwoju astmy dziecięcej. Jednak metaanaliza 21 badań nie wykazała istotnego związku pomiędzy zażywaniem antybiotyków przez dzieci w wieku do 5. rż. a późniejszym rozwojem astmy [69].

Ukazał się raport podsumowujący dziesięciolecie oceny związków alergicznego nieżytu nosa i astmy, w którym podkreślono nie tylko zależność między występowaniem alergicznego nieżytu nosa i astmy, ale także wykazano skuteczność postępowania według zasad *Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma* (ARIA) u chorych na astmę [70].

e-mail: p_gorski@toya.net.pl

Postępy diagnostyki i terapii nadciśnienia płucnego

Marcin Kurzyna, Adam Torbicki

Tematyka nadciśnienia płucnego (PH, *pulmonary hypertension*) cieszy się coraz większym zainteresowaniem zarówno badaczy, jak i redaktorów czasopism naukowych. W dziesięciu miesiącach 2012 roku w bazie MEDLINE pojawiło się już 2177 artykułów zawierających termin „nadciśnienie płucne”. Dla porównania pięć i dziesięć lat temu w analogicznych okresach można odnaleźć odpowiednio 1683 i 980 publikacji. Niewątpliwie do wzrostu zainteresowania problematyką PH przyczyniło się opublikowanie wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (ESC, *European Society of Cardiology*) dotyczących diagnostyki i leczenia nadciśnienia płucnego w latach 2004 i 2009. Ostatnia edycja była przygotowana wspólnie z ERS. Co zatem interesującego wydarzyło się w 2012 roku w nadciśnieniu płucnym, do niedawna jeszcze swojej ziemi niczyjej pomiędzy dwoma specjalnościami — chorobami płuc i kardiologią?

Wśród istotnych nowości należy wspomnieć przede wszystkim ogłoszenie wstępnych wyników trzech randomizowanych badań klinicznych oceniających skuteczność nowych leków stosowanych w terapii tętniczego PH — selexipagu, macitentanu i riociguatu.

Selexipag jest syntetycznym agonistą receptora dla prostacykliny (IP) o budowie zupełnie innej

niż cząsteczka prostacykliny. Jest lekiem podawanym doustnie, co stanowi dużą zaletę w stosunku do pozostałych prostanoidów zarejestrowanych w Europie do stosowania parenteralnego. W badaniu klinicznym II fazy, w którym uczestniczyło 43 pacjentów z TNP (w tym 5 z ośrodka autorów) uzyskano 30% redukcję naczyniowego oporu płucnego w grupie leczonej selexipagiem, jako dodatkiem do optymalnego leczenia farmakologicznego w stosunku do pacjentów otrzymujących placebo [71]. W chwili obecnej trwa badanie kliniczne III fazy o akronimie GRIPHON, które ocenia skuteczność długoterminowej terapii selexipagiem.

Na październikowej Konferencji *American College of Chest Physicians* w Atlancie ogłoszono wyniki badania III fazy o akronimie SERAPHIN [72]. W badaniu uczestniczyło 742 pacjentów z PH, którzy otrzymywali macitentan (3 mg lub 10 mg) lub placebo jako dodatek do standardowego leczenia tętniczego PH przez okres od 1 do 4,5 roku. Macitentan jest podawanym doustnie antagonistą receptorów endotelinowych (ETA i ETB [*endothelin type A, B*]). Charakteryzuje się dłuższym czasem wiązania z receptorami, lepszą penetracją tkankową oraz mniejszą liczbą interakcji lekowych w stosunku do starszych leków z tej grupy. Badanie SERAPHIN jest pierwszą w historii zakończoną próbą kliniczną leku w tętnicznym PH, które oceniało złożony punkt końcowy składający się ze śmiertelności i chorobowości w dłuższym okresie czasu. Tak zwana „chorobowość” (*morbidity*) była definiowana jako pogorszenie przebiegu choroby manifestujące się zmianą klasy niewydolności serca, skróceniem dystansu 6-minutowego testu marszu, koniecznością włączenia leczenia prostanoidami w ciągłym wlewie, wykonania zabiegu septostomii przedsionkowej lub przeszczepienia płuc. Obie dawki macitentanu istotnie zmniejszyły ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego w stosunku do placebo — odpowiednio o 30% i 45% dla dawek 3 mg i 10 mg. Nie obserwowano zwiększonej częstości przypadków uszkodzenia wątroby w grupie pacjentów otrzymujących aktywne leczenie.

Na tej samej konferencji przedstawiono wyniki dwóch randomizowanych badań klinicznych III fazy dotyczących leczenia riociguatem chorych z tętnicznym i zakrzepowo-zatorowym PH o akronimach PATENT i CHEST [73]. Riociguat to pierwszy przedstawiciel nowej grupy leków — stymulatorów rozpuszczalnej cykloazy guanylowej. Jest lekiem podawanym doustnie i ma podwójny sposób działania — nasila działanie endogennego tlenku azotu w tętniczkach płucnych, ale również ma działanie naczyniorozszerzające i antyproliferacyjne nieza-

leżne od lokalnej obecności NO (*nitric oxide*). Ta ostatnia cecha odróżnia riociguat od inhibitorów fosfodiesterazy 5 (sildenafilu, tadalafilu), które do swojego działania potrzebują choć niewielkiego stężenia NO. W badaniu PATENT uczestniczyło 445 pacjentów z tętniczym PH (w tym 15 z ośrodka autorów) z objawową niewydolnością serca, którzy przez 12 tygodni byli leczeni riociguatem lub placebo jako dodatkiem do standardowej terapii tętniczego PH. W badaniu CHEST uczestniczyło 263 pacjentów z zakrzepowo-zatorowym PH (w tym 15 z ośrodka autorów), którzy zostali zdyskwalifikowani od endarterektomii płucnej, lub u których PH utrzymywało się pomimo wcześniejszego leczenia operacyjnego. Grupa badana otrzymywała riociguat lub placebo przez 16 tygodni. Wyniki obu badań okazały się pozytywne. W badaniu PATENT w grupie leczonej riociguatem stwierdzono wzrost dystansu 6-minutowego testu marszu o 36 metrów względem placebo ($p < 0,0001$). W badaniu CHEST wzrost dystansu 6-minutowego testu marszu wyniósł aż 46 metrów ($p < 0,0001$). W obu próbach stwierdzono poprawę w zakresie drugorzędowych punktów końcowych, do których należały klasa czynnościowa niewydolności serca, stężenie NT-pro-BNP (*N-terminal prohormone of brain natriuretic peptide*), wysokość naczyniowego oporu płucnego oceniane w badaniu hemodynamicznym i jakość życia pacjentów oceniana za pomocą standaryzowanych formularzy. Należy zaznaczyć, że CHEST jest pierwszym randomizowanym badaniem klinicznym, w którym udowodniono korzyść z leczenia farmakologicznego zakrzepowo-zatorowego nadciśnienia płucnego. Daje to nadzieję, że riociguat może być pierwszym lekiem zarejestrowanym w tym nowym wskazaniu, spośród terapii wywodzących się z tętniczego PH. Nadal jednak leczenie kardiochirurgiczne — endarterektomia płucna — jest terapią z wyboru dla chorych z zakrzepowo-zatorowym PH. Śmiertelność okołooperacyjna w San Diego, najbardziej doświadczonym ośrodku wykonującym tego typu zabiegi, w ostatnim okresie waha się od 2,2 do 5,2% [74]. Z kolei grupa z Uniwersytetu Cambridge oceniała wyniki takich zabiegów w populacji pacjentów powyżej 70. roku życia. Analiza obejmowała dane dotyczące 411 zabiegów wykonanych w ciągu ostatnich 5 lat. Śmiertelność wewnątrzszpitalna wyniosła 4,6% dla chorych poniżej 70. roku życia, a dla pacjentów co najmniej 70-letnich — 7,8% ($p = 0,21$) [75]. Nadal nie ma wiarygodnych danych dotyczących możliwości wykorzystania przezskórnej plastyki zwężeń tt. płucnych w leczeniu pacjentów z przewlekłym zakrzepowo-zatorowym PH i dystalną lokalizacją zwężeń lub ogólnymi

przeciwwskazaniami do klasycznego leczenia chirurgicznego.

Powróćmy jednak do tętniczego PH, choroby wywoływanej niekontrolowaną proliferacją komórek ściany tętniczek płucnych, noszącej wiele znamion miejscowo złośliwego rozrostu nowotworowego. Przed kilku laty, po wstępnych zachęcających doniesieniach dotyczących imatinibu, pojawiła się koncepcja zastosowania inhibitorów kinazy tyrozynowej w celu zahamowania wspomnianej zgubnej proliferacji komórkowej w tętniczym PH. Tymczasem w ostatnich tygodniach 2011 roku amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*) wydała ostrzeżenie, że jeden z inhibitorów kinazy tyrozynowej — dasatinib — może zwiększać ryzyko rozwoju tętniczego PH. Dasatinib jest szeroko stosowany w przewlekłej białaczce szpikowej i ostrej białaczce limfoblastycznej z chromosomem Philadelphia, jako lek drugiego rzutu u pacjentów nietolerujących lub nieodnoszących korzyści z leczenia imatinibem. W maju 2012 roku ukazała się analiza danych narodowego rejestru PH z Francji, w której oceniono częstość występowania tętniczego PH u pacjentów leczonych dasatinibem na 0,45% [76]. Opisano grupę 9 pacjentów, którzy rozwinęli objawy niewydolności serca w klasie czynnościowej *New York Association* (NYHA II–IV), a wynik badania hemodynamicznego potwierdził obecność tętniczego PH. U wszystkich przerwano leczenie dasatinibem i włączono leczenie tętniczego PH zgodnie z aktualnymi standardami. U wszystkich uzyskano istotną poprawę, ale pomimo odstawienia dasatinibu nie obserwowano powrotu wartości ciśnienia w tętnicy płucnej do wartości prawidłowych. Należy zaznaczyć, że leczenie innymi inhibitorami kinazy tyrozynowej — imatinibem i nilotinibem — nie powoduje wzrostu ciśnienia w tętnicy płucnej.

W ubiegłym roku opublikowano również kilka prac poświęconych znaczeniu tętniakowatego poszerzenia tętnicy płucnej u pacjentów z PH. Badagliacca i wsp. stwierdzili obecność poszerzenia pnia płucnego w 77% przypadków w grupie 141 pacjentów z prekapilarnym PH, nie znajdując związku szerokości pnia płucnego ze śmiertelnością całkowitą [77]. Obserwacje naszego zespołu potwierdziły w grupie 264 chorych z tętniczym PH i zakrzepowo-zatorowym PH, że poszerzenie tętnicy płucnej powyżej 29 mm, czyli wymiaru uznawanego za górną granicę wartości prawidłowych w ocenie angio-TK, jest powszechne i występuje w 98% przypadków [78]. Stopień poszerzenia pnia płucnego słabo korelował z wartością ciśnienia skurczowego wewnątrz naczynia ($r = 0,18$; $p = 0,003$) wskazując na udział innych

czynników. Jednym z nich jest czas trwania choroby. Co szczególnie interesujące, istotne poszerzenie pnia płucnego (≥ 48 mm) wybitnie zwiększało ryzyko nagłego zgonu, niedającego się wytlumaczyć niewydolnością prawej komory serca, uznawaną dotychczas za zasadniczy mechanizm śmierci w PH. Z naszych obserwacji wynika, że nagły zgon dotyczący stabilnych chorych z PH (tzw. grupa *prevalent*) może nastąpić zarówno w wyniku pęknięcia bądź rozwarstwienia ściany tętniakowato zmienionej tętnicy płucnej (z tamponadą serca) lub też niedokrwienia lewej komory spowodowanego uciskiem poszerzonej tętnicy płucnej na pień lewej tętnicy wieńcowej. Następstwom ucisku przez poszerzoną tętnicę płucną można zapobiec implantacją stentu do pnia lewej tętnicy wieńcowej, co powoduje ustąpienie objawów dławicy i normalizację markerów uszkodzenia serca [79]. Poszerzenie tętnic płucnych w PH może również wpływać na drożność oskrzeli, wywołując czasem zespół pseudoopornej na standardowe leczenie astmy. Bardzo ciekawą implikację poszerzenia pnia płucnego opisali ostatnio Wells i wsp. w dużej grupie pacjentów z POChP. Stwierdzenie stosunku wymiaru pnia płucnego do aorty > 1 w tomografii komputerowej zwiększało ryzyko poważnego zaostrzenia POChP w przyszłości [80]. Stosunek wymiarów TP/AO > 1 miał większe znaczenie w przewidywaniu ryzyka wystąpienia zaostrzenia niż wszystkie inne analizowane zmienne, łącznie z wywiadem zaostrzenia w przeszłości.

Patrząc w przyszłość, rok 2013 zapowiada się również bardzo interesująco za sprawą organizowanego w Nicei Piątego Światowego Sympozjum Nadciśnienia Płucnego. Podobnie jak wcześniej w Evian, Wenecji czy Dana Point będzie ono okazją do zmodyfikowania standardów diagnostyki i leczenia PH. Na pewno jednym z ciekawszych tematów będzie problem wysokiego PH pojawiającego się w związku z przewlekłymi chorobami płuc o niewielkim lub umiarkowanym nasileniu. Dotychczas nie rozstrzygniętą kwestią pozostaje pytanie, których pacjentów z tej grupy pacjentów można bezpiecznie i skutecznie leczyć lekami naczynioaktywnymi stosowanymi w terapii tętniczego PH.

e-mail: marcin.kurzyna@ecz-otwoc.pl

Celowane leczenie w mukowiscydozie Przyszłość czy teraźniejszość?

Wojciech Skorupa,
Agnieszka Sobczyńska-Tomaszewska

Mukowiscydoza (CF, *cystic fibrosis*) jest wielonarządową chorobą genetyczną dziedziczną

w sposób autosomalny recesywny, najczęściej występująca wśród rasy białej. Jest nią dotkniętych około 60–70 tysięcy osób na świecie.

Mukowiscydozę powodują mutacje genu *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) zlokalizowanego na długim ramieniu 7 chromosomu. Gen ten koduje białko CFTR składające się z 1480 aminokwasów będące błonowym kanałem chlorkowym zależnym od cAMP. Wraz z białkiem ENaC (*epithelial Na-sodium channel*), będącym kanałem sodowym, oraz innymi białkami transportującymi jony, białko CFTR utrzymuje równowagę jonową pomiędzy wnętrzem komórek nabłonka a przestrzenią pozakomórkową. Białka transportujące jony są usytuowane w szczytowej błonie komórek nabłonka i regulują uwodnienie powierzchni nabłonka w drogach oddechowych, układzie pokarmowym itp.

W przypadku uszkodzenia lub braku białka CFTR dochodzi do obniżenia lub wręcz zahamowania transportu jonów chlorkowych na zewnątrz komórki oraz zwiększonej absorpcji jonów sodowych, co prowadzi do zwiększonego wchłaniania wody i zagęszczenia wydzieliny oskrzelowej, pogarszającego oczyszczanie śluzowo-rzęskowe oskrzeli. Dochodzi do infekcji, przewlekłego stanu zapalnego i postępującego uszkodzenia płuc (rozstrzenie oskrzeli, zwłóknienia pozapalne, torbiele i pęcherze rozedmowe). Zaostrzenia w przebiegu przewlekłej choroby oskrzelowej są najczęstszą przyczyną hospitalizacji, a niewydolność oddechu najczęstszą przyczyną zgonów chorych na mukowiscydozę [81–84].

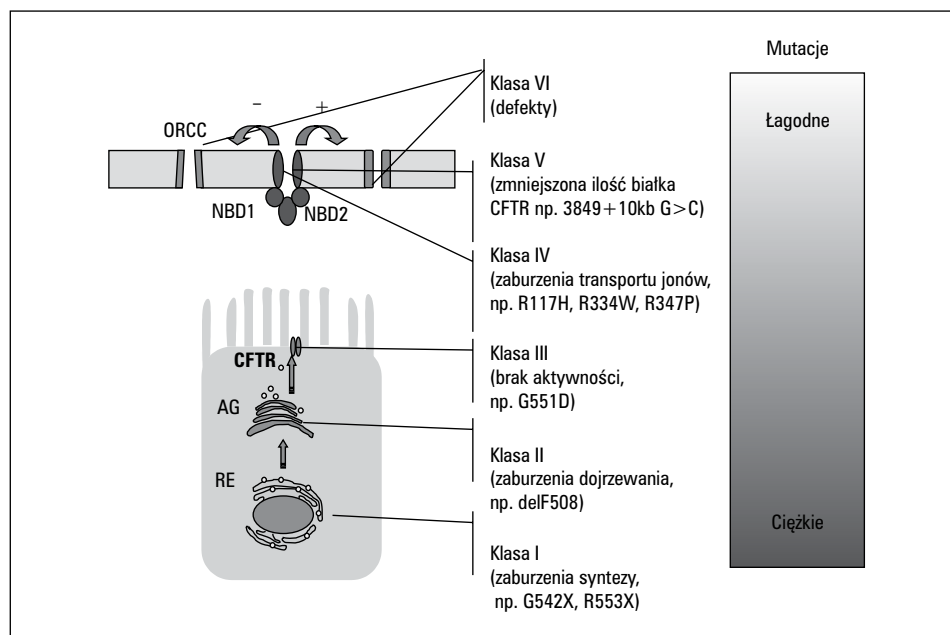
Mimo że budowa genu *CFTR* znana jest od ponad 20 lat, nie udało się do chwili obecnej wynaleźć skutecznej metody leczenia defektu podstawowego. Sukces wyrażający się wydłużeniem długości życia chorych na mukowiscydozę uzyskano dzięki zastosowaniu rozwiniętych metod opieki, skutecznej fizjoterapii, agresywnej antybiotykoterapii i właściwemu żywieniu.

Obecnie znamy ponad 1900 mutacji genu *CFTR*. Są one podzielone na VI klas w zależności od rodzaju wywoływanego przez nie zaburzenia (ryc. 1).

Poza badaniami dotyczącymi możliwości leczenia defektu genetycznego prowadzone są badania nad cząsteczkami poprawiającymi i/lub wzmacniającymi funkcję białka. I właśnie w tej dziedzinie uzyskano wyniki pozwalające na zastosowanie leczenia na poziomie białka *CFTR* [85].

Ivacaftor

Ivacaftor, na etapie badań klinicznych zwany VX770, jest drobną cząsteczką, która w badaniach



Rycina 1. Klasy mutacji genu *CFTR*

Figure 1. Classes of *CFTR* gene mutations

in vitro zwiększała wydzielanie jonów chlorkowych i płynu zewnątrzkomórkowego (wzmacniała działanie białka *CFTR*). Po uzyskaniu wyników wstępnych badań opracowano preparat doustny, który zbadano w wielu próbach klinicznych. Ze względu na sposób działania lek ten badano u chorych z mutacją G551D występującą u nich w co najmniej jednej kopii genu *CFTR*. Mutacja G551D należy do klasy III defektów genu *CFTR*. W Stanach Zjednoczonych i Europie występuje ona z częstością pomiędzy 4 a 5%. W Polsce mutacja G551D występuje rzadziej, bo u około 0,5% chorych [81, 86].

W badaniu II fazy przeprowadzonym wśród 39 chorych dorosłych z przynajmniej jedną mutacją G551D, stwierdzono obniżenie stężenia chlorków w pocie średnio o 59,5 mmol/l oraz znaczącą poprawę w badaniu różnicy potencjałów w błonie śluzowej nosa [87].

W wielośrodkowym badaniu randomizowanym, przeprowadzonym metodą podwójnie ślepej próby i kontrolowanym placebo (ivacaftor u 83 chorych, placebo u 78 chorych) przeprowadzonym z udziałem dorosłych i dzieci powyżej 12. rż., stwierdzono poprawę FEV_1 średnio o 10,6% w grupie przyjmującej lek. Poprawa FEV_1 była obserwowana po około dwóch tygodniach leczenia i utrzymywała się do zakończenia badania (48 tyg.). Ponadto, częstość zaostrzeń oskrzelowo-płucnych zmniejszyła się o 55%, masa ciała wzrosła średnio o 2,7 kg, obniżeniu uległo stężenie chlorków

w pocie o 48,1 mmol/l. Wyniki kwestionariusza jakości życia dla chorych na mukowiscydozę również uległy poprawie. Podobne wyniki uzyskano w badaniu dzieci pomiędzy 6. a 11. rż. — FEV_1 uległo poprawie o 12,6% w porównaniu z 0,1% w grupie przyjmującej placebo [88, 89].

Poprawa FEV_1 o 10 czy 12% wydaje się na pierwszy rzut oka niewielką. Jeżeli jednak porównamy te wyniki z wynikami badań nad lekami powszechnie stosowanymi w leczeniu mukowiscydozy okazuje się, że uzyskiwana poprawa jest porównywalna do tej, którą obserwuje się po wysokostężonej tobramycynie w nebulizacji (12%/20 tyg.), dornazie alfa (5,8%/24 tyg.) czy też soli hipertonicznej (3,2%/48 tyg.) [90–92].

Dzięki pozytywnym wynikom badań ivacaftor został zarejestrowany pod nazwą Kalydeco® w Stanach Zjednoczonych i Unii Europejskiej dla chorych z mutacją G551D powyżej 6. rż. Zalecane dawkowanie to 150 mg doustnie co 12 godzin z posiłkami zawierającymi tłuszcze [93].

Skuteczność ivacaftoru u chorych z mutacją G551D spowodowała podjęcie badań nad zastosowanie tego leku u chorych z innymi mutacjami zaburzającymi otwarcie *CFTR*. W badaniu *in vitro*, którego wyniki opublikowano w maju 2012 roku, potwierdzono pozytywne działanie ivacaftoru w wielu innych niż G551D mutacji [94]. Budzi to nadzieję na ewentualne rozszerzenie grupy chorych mogących przyjmować ten lek.

Ataluren

Część mutacji genu *CFTR* powoduje przedwczesne pojawienie się kodonu STOP, przez co dochodzi do wcześniejszego zahamowania syntezy białka. Białko takie nie może podjąć swojej funkcji i jest degradowane w komórce. Przykładem tego typu mutacji *CFTR* są W1282X, R553X, G542X, K710X. Zaburzenia tego typu — mutacje prowadzące do przedwczesnej terminacji określonego białka — nie są jedynie charakterystyczne dla mukowiscydozy. Występują one w wielu innych chorobach dziedzicznych, PH dystrofii mięśniowej Duchenne'a. Stąd też prowadzone są próby stosowania tego preparatu u pacjentów z innymi niż mukowiscydoza chorobami genetycznymi [85, 95].

Ataluren (PTC124) jest cząsteczką umożliwiającą pominięcie nieprawidłowego kodonu STOP, przez co synteza białka może być doprowadzona do końca. Podobnie jak ivacaftor, ataluren podaje się doustnie.

W badaniach klinicznych przeprowadzonych w małych grupach stwierdzono dobrą tolerancję leku i poprawę w zakresie różnicy potencjałów w błonie śluzowej nosa. Nie stwierdzono poprawy w zakresie wskaźników spirometrycznych (FEV₁) [96, 97].

W czerwcu 2012 roku, na stronie internetowej PR Newswire (<http://www.prnewswire.com>), opublikowano oficjalny komunikat PTC Therapeutics, firmy zajmującej się badaniem i wprowadzaniem doustnych preparatów typu atalurenu. Dotyczył on wstępnych wyników wielośrodkowego badania III fazy trwającego 48 tygodni i obejmującego 238 chorych na mukowiscydozę.

Zaobserwowano pozytywną tendencję w zmianach wartości FEV₁ w porównaniu z grupą otrzymującą placebo — obniżenie FEV₁ było o 3% mniejsze. Większą różnicę (6,7%) na korzyść atalurenu zaobserwowano w grupie nieprzyjmującej antybiotyków w nebulizacji. Różnicę tę można wytłumaczyć konkurencyjnym wobec atalurenu działaniem aminoglikozydów.

Wymienione wcześniej substancje to jedynie wierzchołek góry lodowej.

Obecnie prowadzone są liczne badania zarówno kliniczne, jak i laboratoryjne *in vitro* dotyczące wpływu opracowanych substancji na różne mutacje i w różnych konfiguracjach lekowych. Wśród badanych substancji jest VX-809 (lumacaftor), korektor dla mutacji F508del — najczęściej występującej u chorych na mukowiscydozę [98].

W świetle prowadzonych badań diagnostyka molekularna mukowiscydozy nabiera nowego wymiaru. Do niedawna miała ona znaczenie w rozpoznawaniu mukowiscydozy i rodzinnym poradnictwie genetycznym. Znajomość genoty-

pu chorego na mukowiscydozę może umożliwić w niedalekiej przyszłości zastosowanie leków dopasowanych do wykrytych mutacji (na przykład F508del — lumacaftor, G551D — ivacaftor). Obecnie jest to jeszcze fantazja, ale w przyszłości może stać się zwykłą praktyką będącą elementem nowego nurtu medycyny spersonalizowanej, w której dobór leczenia zależeć będzie od wariantów genetycznych (w tym typów mutacji) występujących w ludzkim genomie.

Należy przy tym zwrócić uwagę na fakt, że tego typu leki będą najskuteczniejsze u chorych, u których jeszcze nie doszło do zmian nieodwracalnych w płucach. Takie podejście otwiera nowe możliwości dla programu przesiewowego noworodków w kierunku mukowiscydozy. Może się okazać, że słowo „zapobieganie” nabierze właściwego wymiaru u dzieci rozpoznanych w ramach badań przesiewowych.

Kolejną kwestią wartą poruszenia jest możliwe działanie ogólnoustrojowe korektorów/wzmacniaczy białka *CFTR*. Wyniki dotychczasowych badań wykazują wpływ na stężenie chlorków w pocie, różnicę potencjałów w błonie śluzowej nosa, częstość zaostrzeń i wskaźniki spirometryczne. Nie znamy pewnej odpowiedzi na pytanie, jakie może być działanie w obrębie przewodu pokarmowego. Dochodzi do poprawy wchłaniania wskutek zwiększonej aktywności kanału chlorkowego w przewodach trzustkowych i poprawy funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki czy też obserwowany przyrost masy ciała jest spowodowany zmniejszoną liczbą zaostrzeń w przebiegu choroby?

Przeszkodą w szerokim wprowadzeniu leczenia celowanego mogą być bardzo wysokie koszty. Obecnie cena rocznego leczenia ivacaftorem jest szacowana na około 290 USD i wydaje się jednak porównywalna z kosztami leczenia innymi nowoczesnymi lekami stosowanymi w chorobach rzadkich.

Tak więc — przyszłość czy teraźniejszość...? e-mail: skorupa64@gmail.com

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

Piśmiennictwo:

1. Didkowska J., Wojciechowska U., Zatoński W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2009 roku. Publikacja wydana w ramach zadania „Rejestracja nowotworów złośliwych” Narodowego Programu Zwalczania Chorób Nowotworowych. 2009; 37–62.
2. Krzakowski M., Jassem J. (red.). Nowotwory złośliwe płuca i opłucnej. Podręcznik: Zalecenia postępowanie diagnostyczno — terapeutycznego w nowotworach złośliwych 2011 rok. Via Medica: Polska Unia Onkologii, Gdańsk 2011: 71–96.

3. Henschke C.I., McCauley D.I., Yankelevitz D.F. i wsp. Early Lung Cancer Action Project: overall design and findings from baseline skrining. *Lancet* 1999; 354: 99–105.
4. Swensen S.J., Jett J.R., Hatman T.E. i wsp. Lung Cancer skrining with CT: Mayo Clinic experience. *Radiology* 2003; 226: 756–761.
5. Edwaed F., Patz Jr, Stephen J., Swensen, James E. Herndon II Estimate of Lung Cancer Mortality from Low dose spiral computed tomography skrining trials: implications for current mass skrining recommendations. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 11.
6. Ashton RW, Jett JR. Skrining for non-small cell lung cancer. *Semin. Oncol.* 2005; 32: 253–258.
7. Bach P.B., Silcestri G.A., Hanger M., Jett J.R. Skrining for lung cancer: ACCP evidence-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 2007; 132: 695–775.
8. Dobrossy L., Kovacs A., Budai A., Cornides A. Skrining for early detection of lung cancer: conflict between clinical and public health viewpoints. *Orv. Hetil.* 2007; 148: 1587–1590.
9. The National Lung Skrining Trial Research Team: Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Skrining. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365: 395–409.
10. Alam N., Shepherd F.A., Winton T. i wsp. Compliance with post-operative adjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer: an analysis of National Cancer Institute of Canada and Intergroup Trial JBR.10 and a review of the literature. *Lung Cancer* 2005; 47: 385–394.
11. Kreuter M., Vansteenkiste J.F., Fisher J. F. i wsp. Randomized phase II trial on refinement of early-stage NSCLC adjuvant chemotherapy with cisplatin and pemetrexed versus cisplatin and vinorelbine: TREAT. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (supl. abstr. 7002).
12. Ikeda N., Nagase S., Ohira T. i wsp. Individualized adjuvant chemotherapy for surgically resected lung cancer and the roles of biomarkers. *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2009; 15: 144–149.
13. Bepler G., Olaussen K.A., Vataire A.L. i wsp. ERCC1 and RRM1 in the international adjuvant lung trial by automated quantitative in situ analysis. *Am. J. Pathol.* 2011; 178: 69–78.
14. Filipits M., Pirker R. Predictive markers in the adjuvant therapy of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2011; 74: 355–363.
15. Fidias P., Dakhil S.R., Lyss A.P. i wsp. Phase III study of immediate versus delayed docetaxel after induction therapy with gemcitabine plus carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: Updated report with survival. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 591–598.
16. Ciuleanu T., Brodowicz T., Zielinski C. i wsp. Maintenance pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care for non small-cell lung cancer: a randomised, double-blind, phase 3 study. *Lancet* 2009; 374: 1432–1440.
17. Pirker R., Pereira J.R., Szczesna A. i wsp. Flex study Team. Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (FLEX): an open-label randomised phase III trial. *Lancet* 2009; 373: 1525–1531.
18. Cappuzzo F., Coudert B.P., Wierzbiński R. i wsp. Efficacy and safety of erlotinib as first line maintenance in NSCLC following non-progression with chemotherapy: results from the phase III SATURN study. *J. Thorac. Oncol.* 2009; 4 (supl.1): 289.
19. Soon Y. Y., Stockler M.R., Askie L.M. i wsp. Duration of chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: a systemic review and meta-analysis of randomized trials. *J. Clin. Oncol.* 2009; 20: 3277–3284.
20. Paz- Ares L., Marinis F., Dedi M. i wsp. Maintenance therapy with pemetrexed plus best supportive care versus placebo plus best supportive care after induction therapy with pemetrexed plus cisplatin for advanced non-squamous non-small-cell lung cancer (PARAMOUT): a double blind, phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13: 247–255.
21. Mitsudomi T., Morita S., Yatae Y. i wsp. Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WOJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 121–128.
22. Maemondo M., Inoue A., Kobayashi K. i wsp. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N. Engl. J. Med.* 2010; 362: 2380–2388.
23. Rosell R., Morgan T., Queralt C. i wsp. Skrining for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361: 958–967.
24. Rosell R., Carcereny E., Gervais R. i wsp. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EUROTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13: 239–246.
25. Caicun Z., Yi-Long W., Gongyan C. i wsp. Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802): a multicentre, open-label, randomized, phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2011; 12: 735–742.
26. Petrelli F., Borgonovo K., Cabiddu M. i wsp. Efficacy of EGFR tyrosine kinase inhibitors in patients with EGFR mutated non-small cell lung cancer: a meta-analysis of 13 randomized trials. *Clin. Lung Cancer* 2012; 13: 107–114.
27. Miller V.A., Hirsh V., Cadranel J. i wsp. Afatinib versus placebo for patients with advanced, metastatic non-small-cell lung cancer after failure of erlotinib, gefitinib, or both, and one or two lines of chemotherapy (LUX-lung 1): a phase 2b/3 randomized trial. *Lancet Oncol.* 2012; 13: 528–536.
28. Mao C., Qiu L.X., Liao R.Y. i wsp. KRAS mutations and resistance of EGFR-TKI's treatment in patients with non-small-cell lung cancer: A meta-analysis of 22 studies. *Lung Cancer* 2010; 69: 272–278.
29. Pasi A.J. Phase II double-blind, randomized study of selumetinib (SEL) plus docetaxel (DOC) versus DOC plus placebo as second-line treatment for advanced KRAS mutant non-small cell lung cancer (NSCLC). Abstract nr 7503 — 2012 ASCO, www.asco.org/ASCOv2/Meetings/Abstract.
30. Kwak E.L., Bang Y.J., Camidge D.R. i wsp. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363:1693–1703.
31. Travis W.D., Brambilla E., Noguchi M. i wsp. International association for the study of lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J. Thorac. Oncol.* 2011; 6: 2011–2085.
32. Kerr K.M. Classification of lung cancer: proposals for change? *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2012; 136: 1190–1193.
33. Thunnissen E., Kerr K.M., Herth F.J. i wsp. The challenge of NS-CLC diagnosis and predictive analysis on small samples. Practical approach of a working group. *Lung Cancer* 2012; 76: 1–18.
34. Travis W.D., Rekhtman N: Pathological diagnosis and classification of lung cancer in small biopsies and cytology: strategic management of tissue for molecular testing. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2011; 32: 22–31.
35. Rekhtman N., Brandt S.M., Sigel C.S. i wsp. Suitability of thoracic cytology for new therapeutic paradigms in non-small cell lung carcinoma. High accuracy of tumor subtyping and feasibility of EGFR and KRAS molecular testing. *J. Thorac. Oncol.* 2011; 6: 451–458.
36. Nicholson A.G., Gonzales D., Shah P. i wsp. Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, Cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. *J. Thorac. Oncol.* 2010; 5: 436–441.
37. Pelosi G., Fabbri A., Bianchi F. i wsp. ΔNp63 (p40) and Thyroid Transcription Factor-1 immunoreactivity in small biopsies or cellblocks for typing non-small cell lung cancer. A novel two-hit, sparing-material approach. *J. Thorac. Oncol.* 2012; 7: 281–290.
38. Tournoy K.G., Carprioux M., Deschepper E. i wsp. Are EUS-FNA and EBUS-TBNA specimens reliable for subtyping non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2012; 76: 46–50.
39. Monaco S. Cytopathology of lung cancer: moving from morphology to molecular. *Diag. Histopathol.* 2012; 18: 312–320.
40. Nakajima T., Yasufuku K. How I do it — optimal methodology for multidirectional analysis of endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration samples. *J. Thorac. Oncol.* 2011; 6: 203–206.
41. Ricard J.D. New therapies for pneumonia. *Curr. Opin. Pulm. Med.* 2012; 18: 181–186.
42. Hurley M.N., Camara M., Smyth A. Novel approaches to the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2012; 40: 1014–1023.
43. Van Delden Ch., Kohler T., Brunner-Ferber F. i wsp. Azitromycin to prevent *Pseudomonas aeruginosa* ventilator-associated pneumonia by inhibition of quorum sensing: a randomized controlled trial. *Intensive Care Med.* 2012; 38: 1118–1125.
44. Schuetz P., Briel M., Christ-Crain M. i wsp. Procalcitonin to guide initiation and duration of antibiotic treatment in acute respiratory infections: an individual patient data meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 55: 651–662.
45. De Paw B., Walsh T.J., Donnelly J.P. i wsp. Revised definitions of invasive fungal disease from European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin. Infect. Dis.* 2008; 46: 1813–1821.
46. Blot S.I., Taccone F.S., Van den Abeele A.M. i wsp. A clinical algorithm to diagnose invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2012; 186: 56–64.
47. Menendez R., Torres A., Reyes S. i wsp. Initial management of pneumonia and sepsis: factors associated with improved outcome. *Eur. Respir. J.* 2012; 39: 156–162.

48. Woodhead M., Blasi F., Ewig S. i wsp. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17 (supl.6): 1–24.
49. Miller E.K., Edwards K.M., Weinberg G.A. i wsp. A novel group of rhinoviruses is associated with asthma hospitalizations. *J. Allerg. Clin. Immunol.* 2009; 123: 98–104.
50. Rubin B. 2012–2013 — the year in preview. *Paediatr. Respir. Rev.* 2012; 13: 67–70.
51. Hilty M., Burke C., Pedro H. i wsp. Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS ONE.* 2010; 5: e8578.
52. Gupta A., Bush A., Hawrylowicz C., Saglani S. Vitamin D and asthma in children. *Paediatr. Respir. Rev.* 2012; 13: 236–243.
53. Guidelines for the management of community acquired pneumonia in children: update 2011. *Thorax* 2011; 66 (supl. 2).
54. Bradley S., Byington C., Shah S. i wsp. The management of community — acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: clinical practice guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 53: e25–e76.
55. Grijalva C.G., Nuorti J.P., Zhu Y., Griffin M.R. Increasing incidence of empyema in complicating childhood community — acquired pneumonia in the United States. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50: 805–813.
56. Noguee L. Genetic basis of children's interstitial lung disease. *Pediatr. Allergy Immunol. Pulmonol.* 2010; 23: 15–24.
57. Perez-Velez C.M., Marais B.J.N. Tuberculosis in children. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367: 348–361.
58. Chiappini E., Accetta G., Bonsignori F., Boddi V., Galli L., Biggeri A., De Martino M. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in children: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2012; 25: 557–564.
59. Corrigan Ch.J., Wang W., Meng Q.F. i wsp. Allergen-induced expression of IL-25 and IL-25 receptor in atopic asthmatic airways and late-phase cutaneous responses. *JACI* 2011; 128: 116–124.
60. Custovic A., Rothers J., Stern D. i wsp. Effect of day care attendance on sensitization and atopic wheezing differs by Toll-like receptor 2 genotype in 2 population-based birth cohort studies. *JACI* 2011; 127: 390–397.
61. Barlow J.L., Bellosi A., Hardman C.S. i wsp. Innate IL-13-producing neutrophils arise during allergic lung inflammation and contribute to airways hyperreactivity. *JACI* 2012; 129: 191–198.
62. Kim H.Y., Chang Ya-Jen, Subramanian S. i wsp. Innate lymphoid cells responding to IL-33 mediate airway hyperreactivity independently of adaptive immunity. *JACI* 2012; 129: 216–227.
63. Williams L.K., Peterson E.L., Wells K. i wsp. Quantifying the proportion of severe asthma exacerbations attributable to inhaled corticosteroid nonadherence. *JACI*, 2011; 128: 1185–1191.
64. Dijkstra A., Postma D.S., Bruinenberg M., i wsp. SERPINE1-675 4G/5G polymorphism is associated with asthma severity and inhaled corticosteroid response. *Eur. Respir. J.* 2011; 38: 1036–1043.
65. Cookson W., Moffatt M., Strachan D.P. Genetic risks and childhood-onset asthma. *JACI* 2011; 128: 266–270.
66. Lluís A., Schedel M., Liu J. i wsp. Asthma-associated polymorphisms in 17q21 influence cord blood ORM DL3 and GSDMA gene expression and IL-17 secretion. *JACI* 2011; 127: 1587–1594.
67. Lowe A., Bråbäck L., Ekeus C., Hjern A., Forsberg B. Maternal obesity during pregnancy as a risk for early-life asthma. *JACI* 2011; 128: 1107–1109.
68. Siltanen M., Wehkalampi K., Hovi P. i wsp. Preterm birth reduces the incidence of atopy in adulthood. *JACI* 2011; 127: 935–942.
69. Penders J., Kummeling I., Thijs C. Infant antibiotic use and wheeze and asthma risk: a systematic review and meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 2011; 38: 295–302.
70. Bousquet J., Schünemann H.J., Samolinski B. i wsp. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA): Achievements in 10 years and future needs. *JACI* 2012; 130: 1049–1062.
71. Simonneau G., Torbicki A., Hoeper M.M., i wsp. Selexipag: an oral, selective prostacyclin receptor agonist for the treatment of pulmonary arterial hypertension. *Eur. Respir. J.* 2012; 40: 874–880.
72. Rubin L.J., Pulido T., Channick R.N., i wsp. Effect of macitentan on morbidity and mortality in pulmonary arterial hypertension (PAH): results from SERAPHIN Trial. *Chest* 2012; 142: 1026A.
73. Ghofrani H.A., Grimminger F., Hoeper M.M. i wsp. Riociguat for the treatment of inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension: a randomized, double-blind, placebo controlled study (CHEST-1). *Chest* 2012; 142:1 023A.
74. Madani M.M., Auger W.R., Pretorius V. i wsp. Pulmonary endarterectomy: recent changes in a single institution's experience of more than 2,700 patients. *Ann. Thorac. Surg.* 2012; 94: 97–103.
75. Berman M., Hardman G., Sharples L., i wsp. Pulmonary endarterectomy: outcomes in patients aged > 70. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2012; 416: e154–e160.
76. Montani D., Bergot E., Gunther S., i wsp. Pulmonary arterial hypertension in patients treated by dasatinib. *Circulation* 2012; 125: 2128–2137.
77. Badagliacca R., Poscia R., Pezzuto B. i wsp. Pulmonary arterial dilatation in pulmonary hypertension: prevalence and prognostic relevance. *Cardiology* 2012; 121: 76–82.
78. Żylkowska J., Kurzyńska M., Florczyk M., i wsp. Pulmonary artery dilatation correlates with the risk of unexpected death in chronic arterial or thromboembolic pulmonary hypertension. *Chest* 2012; 142: 1406–1416.
79. Demkow M., Kalinczuk L., Kepka C., Kurzyńska M., Torbicki A. Left main artery compression by pulmonary artery aneurysm and ostial athero-stenosis of left anterior descending artery in a young female with pulmonary arterial hypertension. *Eur. Heart. J.* 2012; 33: 2621.
80. Wells J.M., Washko G.R., Han M.K. i wsp. Pulmonary arterial enlargement and acute exacerbations of COPD. *N. Engl. J. Med.* 2012; 367: 913–921.
81. Patient registry: 2008 annual data report to the Center directors. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation, 2009.
82. Farrell P.M. The prevalence of cystic fibrosis in the European Union. *J. Cyst. Fibros.* 2008; 7: 450–453.
83. Gibson R.L., Burns J.L., Ramsey B.W. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2003; 168: 918–951.
84. Rubenstein R.C., Lockwood S.R., Lide E. i wsp. Regulation of endogenous ENaC functional expression by CFTR and F508-CFTR in airway epithelial cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2011; 300: L88–L101.
85. CF Genetic Consortium database, <http://www.genet.sickkids.on.ca/html>
86. Sobczyńska-Tomaszewska A., Ohtarzewski M., Czernska K. i wsp. Newborn skrining for cystic fibrosis: Polish 4 years' experience with CFTR sequencing strategy. *Eur. J. Hum. Genet.* 2012 Aug 15. doi: 10.1038/ejhg.2012.180.
87. Accurso F.J., Rowe S.M., Clancy J.P. i wsp. Effect of VX-770 in persons with cystic fibrosis and the G551D-CFTR mutation. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363: 1991–2003.
88. Ramsey B.W., Davies J., McElvaney N.G. i wsp. VX08-770-102 Study Group. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365: 1663–1672.
89. Aherns R., Rodriguez S., Yen K., Davies J. VX-770 in subjects 6 to 11 years with Cystic Fibrosis and the G551D-CFTR mutation. *Pediatr. Pulmonol. Suppl.* 2011; 46:283 (A203).
90. Ramsey B.W., Pepe M.S., Quan J.M. i wsp. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 23–30.
91. Fuchs H.J., Borowitz D.S., Christiansen D.H. i wsp. Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1994; 331: 637–642.
92. Elkins M.R., Robinson M., Rose B.R. i wsp. A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 229–240.
93. Internet — www.kalydeco.eu
94. Yu H., Burton B., Huang C.J. i wsp. Ivacaftor potentiation of multiple CFTR channels with gating mutations. *J. Cyst. Fibros.* 2012; 11: 237–245.
95. Beytía Mde L., Vry J., Kirschner J. Drug treatment of Duchenne muscular dystrophy: available evidence and perspectives. *Acta Myol.* 2012; 31: 4–8.
96. Kerem E., Hirawat S., Armoni S. i wsp. Effectiveness of PTC124 treatment of cystic fibrosis caused by nonsense mutations: a prospective phase II trial. *Lancet* 2008; 372: 719–727.
97. Wilschanski M., Miller L.L., Shoseyov D. i wsp. Chronic ataluren (PTC124) treatment of nonsense mutation cystic fibrosis. *Eur. Respir. J.* 2011; 38: 59–69.
98. Clancy J.P., Rowe S.M., Accurso F.J. i wsp. Results of a phase IIa study of VX-809, an investigational CFTR corrector compound, in subjects with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Thorax* 2012; 67: 12–18.