

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

DISERTAČNÍ PRÁCE

Miroslav Hodek

2016

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**

**Doktorský studijní program
Klinická onkologie a radioterapie**

**Vliv vstupních krevních parametrů na léčebnou
odpověď u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem
konečniku**

**Baseline Hematologic Parameters Influencing
Outcomes in Patients with Locally Advanced Rectal
Cancer**

MUDr. Miroslav Hodek

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Petera, Ph.D.

Hradec Králové, červen, 2016

Obhajoba dne:

Prohlášení autora

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracoval/a samostatně a že jsem uvedl/a všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

V Hradci Králové, dne 27. června 2016

Poděkování

Je pro mne milou povinností upřímně poděkovat všem, kteří mi pomáhali při realizaci mé vědecké práce.

V první řadě děkuji Prof. MUDr. Jiřímu Peterovi, Ph.D., který mi nabídl možnost pracovat a dále se vzdělávat na Klinice onkologie a radioterapie, tím mi poskytl výborné podmínky k doktorskému studiu, cennými radami a praktickými zkušenostmi přispěl ke vzniku a realizaci této vědecké práce.

Neméně významným díkem jsem zavázán primáři MUDr. Milanu Vošmikovi, Ph.D., který je nejen erudovaným odborníkem s obrovským přehledem v oboru, ale hlavně skvělým člověkem, kterého si za to vážím.

Další významné poděkování patří MUDr. Igoru Sirákovi, Ph.D., bez jeho rad, postřehů a hlavně obětavé dopomoci při statistickém zpracování dat, by tato práce vznikala velmi obtížně a komplikovaně.

Dále děkuji Prof. MUDr. Alexanderu Ferkovi, CSc. Za poskytnutí dodatečných klinických dat o souboru zkoumaných pacientů.

Zvláštní poděkování patří mé manželce Kateřině, dceři Sofii a celé mé rodině za podporu, trpělivost i čas, který jsem jim nemohl věnovat.

1. Obsah

1. Obsah.....	4
2. Seznam použitých zkratk.....	6
3. Obecný úvod	10
4. Cíle disertační práce.....	12
5. Úvod do problematiky a literární přehled	13
5.1 Karcinom konečnicku.....	13
5.1.1 Epidemiologie.....	13
5.1.2 Etiologie.....	15
5.1.3 Histopatologie	15
5.1.4 Růst a šíření nádoru	16
5.1.5 Diagnostika a vstupní vyšetření	17
5.1.6 TNM klasifikace	18
5.1.7 Historický vývoj léčby.....	20
5.1.8 Strategie léčby.....	23
5.1.9 Principy chirurgické léčby.....	25
5.1.10 Principy radioterapie.....	26
5.1.11 Konkomitantní chemoterapie při radioterapii	30
5.1.12 Principy systémové léčby	30
5.2 Vzájemný vztah zánětu a nádorového růstu.....	31
5.2.1 Vliv zánětu na vznik rakovinného bujení.....	32
5.2.2 Tumor infiltrující makrofágy (TAM).....	37
5.2.3 Tumor infiltrující NK buňky (Natural Killers)	37
5.2.4 Tumor infiltrující lymfocyty (TIL)	38
5.2.5 Transkripční faktory	39
5.2.6 Cytokiny.....	40
5.2.7 Proteiny akutní fáze	41
5.3 Hematologické parametry – prediktor léčebné odpovědi.....	42
5.3.1 Anémie	42
5.3.2 Trombocytóza	44
5.3.3 Vzájemný poměr neutrofilních granulocytů – lymfocytů (NLR).....	47
5.3.4 Vzájemný poměr trombocytů – lymfocytů (PLR)	50
5.4 Léky modifikující zánětlivou odpověď.....	51
5.4.1 Nesteroidní antiflogistika	52

5.4.2	Statiny	53
5.4.3	Antagonisté histaminového receptoru 2 (H2RA)	54
5.4.4	Anti-VEGF terapie	55
5.4.5	Anti-EGFR terapie	56
5.4.6	Nespecifická a specifická imunoterapie	57
6.	Metody a soubor nemocných	58
6.1	Charakteristiky souboru pacientů	58
6.2	Léčba	59
6.3	Statistická analýza	62
7.	Výsledky	64
8.	Diskuze	72
9.	Závěr	79
10.	Seznam použité literatury	80
11.	Přílohy	98

2. Seznam použitých zkratek

3D-CRT	Trojrozměrná konformní radioterapie
AI	Angioinvaze
BCL-2	Genová rodina bcl-2 genů
BMI	Body mass index
BOX technika	Technika 3D konformní radioterapie pomocí 4 polí
BRCA1	Gen pro breast cancer type 1 susceptibility protein
BRCA2	Gen pro breast cancer type 2 susceptibility protein
BRT	Brachyterapie
CA	California
CA 19-9	Nádorový marker 19-9
CD25	Membránový receptor CD25
CD4	Antigenový receptor CD4
CD8	Antigenový receptor CD8
CEA	Karcinoembryonální antigen
CI	Confidence interval
COX-1	Cyklooxygenáza 1
COX-2	Cyklooxygenáza 2
CRC	Kolorektální karcinom
CRP	C-reaktivní protein
CT	Počítačová tomografie
CTL	Cytotoxické lymfocyty
CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
CTV	Clinical target volume
CVS	Kardiovaskulární onemocnění
ČR	Česká republika
DC	Dendritické buňky
DFS	Disease-free survival (interval přežití bez nemoci)
Dmax	Maximální toleranční dávka
EBRT	Radioterapie zevním svazkem záření
EBV	Virus Epstein-Barrové

EGF	Epidermální růstový faktor
EGFR	Receptor pro epidermální růstový faktor
FAS	FAS ligand / FAS receptor
Foxp3	Protein FOX P3
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor
GM-CSF	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
GPS	Glasgow prognostic score
GTV	Gross tumor volume
Gy	1 Gray (1 Gy = 1 J/kg)
H2RA	Antagonisté histaminového receptoru H2
HB	Hemoglobin
HBV	Virus hepatitidy B
HCV	Virus hepatitidy c
HER2/neu	Receptor 2 pro EGF
HHV-8	Human Herpesvirus 8
HIFα1	Hypoxií indukovaný faktor α 1
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPV	Human papilloma virus
HR	Hazard ratio
CHRT	Chemoradioterapie
IG-IMRT	Obrazem řízená radioterapie s modulovanou intenzitou svazku záření
IL-10	Interleukin 10
IL-12	Interleukin 12
IL-13	Interleukin 13
IL-2	Interleukin 2
IL-23	Interleukin 23
IL-4	Interleukin 4
IL-6	Interleukin 6
IMRT	Radioterapie s modulovanou intenzitou svazku záření
INFγ	Interferon γ
JAK	Janusova kináza
KIR	Killer activation receptor
LD	Ložisková dávka

LVSI	Limfangioinvaze
MALT	Mucosa Associated Lymphoid Tissue
MAPK	Mitogen-activated protein kinases
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor
MDSC	Myeloid derived suppressor cells
MeV	Megaelektronvolt
MHC I	Major histocompatibility complex 1
MHC II	Major histocompatibility complex 2
MMR	Mismatch repair
MRI	Zobrazení magentickou rezonancí
MSI	Mikrosatelitární instabilita
MYC	Regulační gen pro transcripční faktor MYC
n.s.	Není signifikantní
NACHRT	Neoadjuvantní chemoradioterapie
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
NF-κB	Nukleární faktor kappa B
NK	Natural killer cells
NKT	Natural killer T cells
NLR	Neutrophil to lymphocyte ratio
OR	Odds ratio
OS	Overall survival (celkové přežití)
pCR	Patologická kompletní regrese
PD	Progressive disease
PD-1	Programmed cell death protein 1
PDL1	Programmed death-ligand 1
PET/CT	Pozitronová emisní tomografie / počítačová tomografie
PFS	Progression-free survival (interval přežití bez známek progresu)
PGE2	Prostaglandin E2
PI3K	Fosfatidylinositol-3-kináza
PLR	platelets to lymphocytes ratio
PLT	Trombocyty
PNI	Perineurální šíření
PR	Parciální regrese

PS	Performance status
PTV	Planning target volume
RAF	Gen pro RAF kinázu
RAS	RAS protoonkogen
RAS	RAS protoonkogen/protein
RBC	Erytrocyty
RET	RET protoonkogen
RR	Relativní riziko
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
SD	Stable disease, Standard deviation
SIR	Systemic inflammatory response (Systémová zánětlivá odpověď)
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3
TAM	Tumor-associated macrophage
TGFβ	Transforming growth factor β
TIL	Tumor infiltrující lymfocyty
TME	Totální mezorektální excize
TNFα	Tumor nekrotizující faktor α
TNM	TNM klasifikační systém zhoubných nádorů
Tregs	The regulatory T cells
TXA2	Tromboxan A2
USA	Untided States of America
UZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VEGF-A	Vascular endothelial growth factor A
VEGF-C	Vascular endothelial growth factor C
VEGF-D	Vascular endothelial growth factor D
VEGR-3	Vascular endothelial growth factor receptor 3
WBC	Leukocyty
WHO	World Health Organization
βhCG	β podjednotka lidského choriového gonadotropinu

3. Obecný úvod

Vzájemný vztah mezi zánětlivou odpovědí a nádorovým růstem je zkoumán již více než sto let. V současné době jsou poměrně dobře popsány mechanismy, které ovlivňují vzájemné působení těchto dvou procesů na molekulární a buněčné úrovni. Vzájemné interakce se uplatňují již při procesu kancerogeneze, kdy na jedné straně zánětlivá odpověď slouží v rámci imunologického dohledu k eliminaci počínajícího rakovinného bujení, ale na straně druhé může chronicky probíhající zánět jakékoli etiologie zvyšovat riziko vzniku rakovinného bujení.

Ve fázi rozvinutého nádorového bujení rozhoduje „nastavení“ imunitního systému o rychlosti lokálního růstu tumoru i o rychlosti a intenzitě jeho metastazování. I zde probíhají oboustranné interakce, kdy na jedné straně patologicky probíhající zánětlivá reakce utváří vhodné mikroprostředí pro další nádorový růst a naopak nádor svým přímým i nepřímým působením na imunitní systém postupně uniká z imunologického dohledu hostitelova těla.

Tyto procesy jsou provázeny intenzivní komunikací nádorových a imunitních buněk. Komunikace probíhá na podkladě produkce celé palety chemokinů, cytokinů, růstových faktorů, angiogenních faktorů, a také zvýšené exprese, nebo naopak downregulace receptorů a jejich ligandů. Takto vytvořená komunikační síť nejenže ovlivňuje pochody v měřítku nádorového mikroprostředí, ale může mít vliv i na celkovou zánětlivou odpověď a může tedy působit na fyziologické procesy v celém hostitelově těle.

Jedním z projevů probíhající systémové zánětlivé odpovědi jsou i změny v počtu krevních buněk. Tyto změny koncentrací absolutních hodnot krevních elementů nebo jejich vzájemných poměrů lze úspěšně využít jako nezávislý prediktivní faktor pro nádorovou odpověď na aplikovanou cytotoxickou léčbu nebo jako prognostický faktor pro celkovou léčebnou odpověď a přežití pacientů. Předléčebná hodnota krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů je velmi jednoduchý, rychlý a levný diagnostický test, který nám poskytuje cennou informaci o aktuálním stavu systémové zánětlivé odpovědi. Z jednotlivých podskupin krevních parametrů ve vztahu k onkologickým chorobám je v současné době nejlépe prozkoumán poměr absolutního počtu lymfocytů k absolutnímu počtu neutrofilních granulocytů, dále také koncentrace hemoglobinu a koncentrace

krevních destiček. V této práci budou ozřejměny jednotlivé pochody na buněčné i molekulární úrovni, které vedou ke změnám v periferním krevním obraze. Dále budou vysvětleny jednotlivé mechanismy, kterými tumor ovlivňuje imunitní systém ve svůj prospěch, budou také posouzeny možnosti, jak tyto nepříznivé jevy zvrátit, nebo alespoň jejich znalost využít k intenzifikaci terapeutického postupu s ohledem na využití nejmodernější onkologické terapie.

4. Cíle disertační práce

Cílem disertační práce bylo zhodnotit vztah vstupních krevních parametrů a léčebné odpovědi u vybrané skupiny pacientů. Cílovou skupinou byli zvoleni pacienti s lokálně pokročilým karcinomem konečníku bez známek systémové diseminace onemocnění. Tito pacienti byli primárně léčeni neoadjuvantní chemoradioterapií s následnou resekci konečníku typu totální mezorektální excize. Před zahájením neoadjuvantní terapie bylo provedeno vyšetření krevního obrazu včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů, zaznamenány elementární parametry a dále určeny poměry jednotlivých krvinek.

Tyto nálezy byly analyzovány ve vztahu k míře nádorové odpovědi na předoperační léčbu (míra downstagingu, kompletní patologické odpověď), ale i k celkovému léčebnému výstupu (interval přežití bez nemoci, celkové přežití). Hlavním cílem byl zhodnotit prediktivní a prognostický vliv předléčebných krevních parametrů a možnosti jeho využití v rámci terapie lokálně pokročilého karcinomu konečníku. Důraz byl kladen na možnost aplikace poznatků do běžné klinické praxe a zařazení zhodnocení stavu systémové zánětlivé odpovědi mezi vstupní stagingová vyšetření.

5. Úvod do problematiky a literární přehled

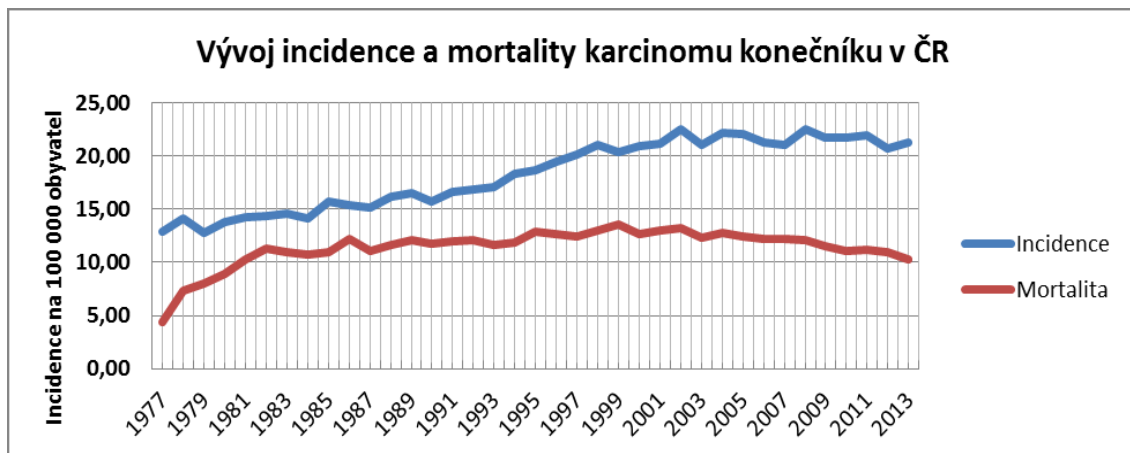
5.1 Karcinom konečníku

5.1.1 Epidemiologie

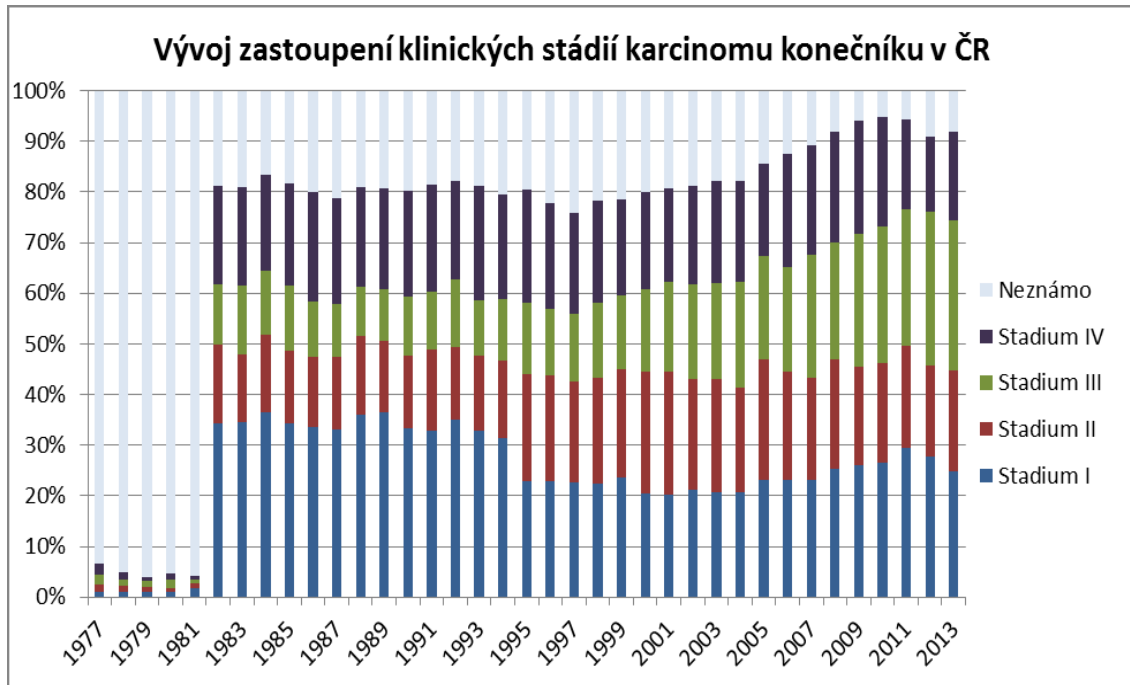
Kolorektální karcinom je jedno z nejčastějších nádorových onemocnění. Celosvětově toto onemocnění zaujímá třetí příčku v pomyslném žebříčku výskytu onkologických chorob. Česká republika se řadí na šesté místo v incidenci tohoto onemocnění mezi všemi zeměmi světa, v evropském kontextu dokonce drží smutnou první příčku (36.8 případů na 100000 obyvatel) [1]. Rakovina tlustého střeva má dlouhodobě rostoucí incidenci s maximem výskytu mezi pátým a sedmým decéniem života. I přes stoupající záchyt časných stádií se nadále jedná o onemocnění se závažnou prognózou a relativně vysokou mortalitou (4.57 na 100000 obyvatel). Z pohledu mé práce se budu zabývat pouze karcinomem konečníku, tedy chorobou postihující posledních 15-20 cm aborálního konce tlustého střeva, jde o část střeva lokalizovanou pod peritoneální řasou a z převážné části uloženou extraperitoneálně. Z epidemiologického hlediska se výrazněji nerozlišuje mezi karcinomem volného tlustého střeva (tračníku, esovité kličky) a karcinomem konečníku. Z klinického pohledu se však jedná o dvě samostatné jednotky, z nichž každá má svá specifika v biologickém chování a od toho se odvíjí různé léčebné přístupy. Včasnost záchytu a diagnostika choroby v brzkém stádiu, je nejpodstatnější prediktivní faktor pro celkové přežití [2].

Podle dat Národního onkologického registru Ústavu zdravotnických informací a statistiky, bylo v roce 2013 v ČR diagnostikováno celkově 2239 nových případů karcinomu konečníku (incidence 21.3 případů na 100000 obyvatel), jednalo se o 782 žen (14.62 na 100000 obyvatel) a 1457 mužů (28.23 na 100000 obyvatel), výskyt v mužské populaci je tedy 1.9x vyšší (Obrázek 1). Na onemocnění v tomtéž roce zemřelo celkově 1075 pacientů (10.23 úmrtí na 100000 obyvatel) z toho 365 (6.82 na 100000 obyvatel) žen a 710 mužů (13.6 na 100000 obyvatel). Nejvíce nových případů bylo diagnostikováno u pacientů mezi 70. a 80. rokem věku, tomu odpovídala i nejvyšší mortalita ve stejné věkové skupině (Obrázek 2).

Obrázek 2: Vývoj incidence a mortality karcinomu konečníku v ČR (převzato www.svod.cz, 01/2016)



Obrázek 2: Vývoj zastoupení jednotlivých klinických stádií karcinomu konečníku v ČR v době určení diagnózy (převzato www.svod.cz, 01/2016)



5.1.2 Etiologie

Z patofyziologického hlediska lze mezi rektálními karcinomy rozlišit dvě velké skupiny. První skupinou jsou méně časté tzv. hereditární karcinomy. Tyto karcinomy tvoří asi 10-30 % tumorů, vznikající na podkladě dědičné predispozice. Typickým příkladem je karcinom v důsledku hereditárních nepolypózních onemocnění (syndrom Lynch I, Lynch II, Li-Fraumeni, BRCA1, BRCA2). Samostatnou podskupinou jsou karcinomy v rámci dědičných adenomatózních polypóz (Familiární adenomatózní polypóza, juvenilní polypóza), někdy označované za familiární karcinomy, protože tyto karcinomy nalézáme ve zvýšeném počtu v rámci pokrevních příbuzných.

Druhou a největší skupinu, čítající asi 70-90% nádorů konečníku označujeme jako sporadický karcinom. Tento tumor vzniká na podkladě dlouhodobého působení nejrůznějších vnějších i vnitřních karcinogenů za současné přítomnosti dalších rizikových faktorů. Dlouhodobé působení těchto faktorů vede k postupným dysplastickým změnám sliznice střeva a skrze insitu karcinom až k rozvoji karcinomu invazivního. Mezi nejvýznamnější rizikové faktory pro vznik karcinomu konečníku patří kouření, nedostatek fyzické aktivity, nadváha a obezita, zvýšená spotřeba červeného masa a uzenin, dále konzumace alkoholu, strava chudá na vlákninu, přítomnost chronického zánětlivého onemocnění střeva (morbus Crohn, ulcerózní kolitida) a jako u většiny nádorových chorob i vyšší věk [3]. Asociace rozvoje rakoviny a složením stravy není ještě plně pochopena, ale předpokládá se výrazný efekt heterocyklických aminů vznikajících během tepelné přípravy masa, tyto látky poté stimulují vyšší produkci žlučových kyselin do stolice a skrze tvorbu reaktivních kyslíkových radikálů může tento mechanismus indukovat kancerogenezi [4].

5.1.3 Histopatologie

Dle WHO klasifikace (World Health Organization) rozlišujeme několik histopatologických typů nádoru konečníku. Nejobsáhlejší a nejčastěji se vyskytující skupinu (asi 90-95% tumorů) tvoří karcinomy, v této skupině jasně dominuje adenokarcinom různého stupně diferenciacie vycházející z epitelu žlázek tlustého střeva (8140/3). S výrazněji menší

četností jsou zastoupeny další druhy karcinomů jako mucinózní karcinom (8480/3), karcinom z buněk pečetního prstenu (8490/3), malobuněčný karcinom (8041/3), dlaždicobuněčný karcinom (8070/3), adenoskvamózní karcinom (8560/3), medulární karcinom (8510/3), nediferencovaný karcinom (8020/3).

Zcela vzácně jsou diagnostikovány ostatní typy zhoubných nádorů jako gastrointestinální stromální tumory (8936/1), leiomyosarkomy (8890/3), angiosarkomy (9120/3), Kaposiho sarkom (9140/3), maligní melanom (8720/3). Zcela raritně se vyskytují maligní lymfomy nebo sekundární tumory.

5.1.4 Růst a šíření nádoru

Typický sporadický karcinom vzniká na podkladě postupných dysplastických změn sliznice. Tyto změny jsou podmíněny působením různých karcinogenů. Jedná se o relativně dlouhé období (měsíce až roky), během kterého dochází k postupné progresi epitelových změn od běžného epitelu přes lehké až těžké dysplazie až k rozvoji neinvazivního „in-situ“ karcinomu (intraepiteliální neoplazie). Klinicky se tyto změny mohou manifestovat jako nově se tvořící polypózní výrůstky střeva (tubulární a vilózní) a jsou velice dobře preventabilní miniinvazivním odstraněním při běžném endoskopickém vyšetření (polypektomie případně mukosektomie) [5].

V okamžiku kdy intraepiteliální karcinom svým růstem naruší a překoná bazální membránu, hovoříme již o invazivním karcinomu. Další cesty šíření rektálního karcinomu jsou typicky tři, jedná se o lokální šíření přímým prorůstáním do blízkého i vzdálenějšího okolí, šíření skrze lymfatické cévy (lymfogenní) a krevní cévy (hematogenní).

Přímým šířením karcinom prorůstá postupně celou šíří stěny střeva až na serózní povrch, jelikož je většina rekta lokalizována extraperitoneálně, není typická diseminace po dutině břišní, tento jev vidáme velmi sporadicky a pouze u karcinomů lokalizovaných vysoko od análního svěrače a většinou s nálezem přímého prorůstání do esovité kličky. Dalším svým růstem může karcinom infiltrovat okolní orgány a způsobit výrazné symptomy choroby. Jedná se o bolest způsobenou infiltrací kostí a svalů malé pánve, tvorbu píštělí se samovolným únikem stolice a krvácení při invazi do prostaty, semenných váčků, dělohy, pochvy, močového měchýře, nebo kůže [5].

Lymfogenní šíření začíná při invazi tumoru do submukózy, kde se nalézá bohatá síť podslizničních lymfatických cév, při průniku tumoru do těchto cév se nádorové buňky nejprve šíří do perirektálních lymfatických uzlin, následně spádově přes ilické lymfatické uzliny až do uzlin paraaortálních a dále případně skrze ductus thoracicus do krevního oběhu. U nízcí sedících karcinomů infiltrujících kůži a orgány v oblasti přední stěny konečníku můžeme typicky pozorovat i primární šíření skrze inguinofemorální a zevní ilické lymfatické uzliny [5].

Hematogenní diseminace reprezentuje u karcinomu konečníku dvě cesty. První cesta je typická pro tumory středního a proximálního konečníku. Krev z této oblasti je drénována skrze horní rektální žílu do systému portální žíly a dále pak do jater. Primární záchyt metastatické postižení proto nejprve nacházíme v oblasti jater. Druhá cesta je typická pro tumory distálního konečníku. Zde nalézáme bohatou síť žil (pelxus venosus rectalis), která současně představuje krevní spojku mezi portálním systémem a systémem dolní duté žíly. Krev z této oblasti je vedena současně do portální žíly a je tedy možný rozvoj jaterních metastáz. Zároveň je však krev drénována i přes dolní a střední rektální žíly přímo do dolní duté žíly. Tento fakt vysvětluje, proč u pacientů s karcinomem distálního konečníku nalézáme ve vyšší míře metastatické postižení plic bez současného postižení jater, toto je v kontrastu s karcinomem volného tlustého střeva [5].

5.1.5 Diagnostika a vstupní vyšetření

Každý pacient s podezřením na nádorové onemocnění konečníku je důsledně a pečlivě vyšetřen. Základem diagnostiky je vždy endoskopické vyšetření (pankoloskopie) s odběrem bioptického vzorku k určení typu nádoru. Již součástí tohoto vyšetření většinou bývá odběr anamnézy a fyzikální vyšetření. Při potvrzení diagnózy následuje soubor tak zvaných stagingových vyšetření k určení rozsahu choroby a stanovení klinického stádia. Tento soubor vyšetření standardně obsahuje počítačovou tomografii trupu (CT hrudníku, břicha a pánve), endosonografické vyšetření konečníku, magnetickou rezonanci pánve (MRI pánve). U indikovaných případů, kde je vysloveno podezření na metastatické postižení, ale standardní vyšetření nepřinesla jasnou odpověď, se zpravidla doplňuje pozitronová emisní tomografie (formou PET/CT), MRI jater,

případně další doplňující vyšetření včetně explorativní laparoskopie nebo perkutánní bioptických odběrů.

Nedílnou součástí vyšetření je i posouzení stavu vnitřního prostředí pacienta pomocí rozboru biochemického složení krevního séra, odběru periferní krve k určení krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů, posouzení koagulačních parametrů krve, v neposlední řadě i vyšetření hladiny onkomarkerů (CEA, CA 19-9 , a další).

5.1.6 TNM klasifikace

K relevantnímu rozhodnutí o terapeutickém postupu je nutné přesné určení odpovídajícího klinického stádia. Klinické stádium choroby v době stanovení diagnózy je v současné době chápáno jako nejvýznamnější prognostický faktor. V běžné praxi se užívá TNM klasifikační systém [6].

5.1.6.1 T stádium: Primární nádor

Tx	Primární nádor nelze hodnotit
T0	Bez známek primárního nádoru
Tis	Karcinom in situ: intraepiteliální nebo invaze do lamina propria mucosae
T1	Nádor postihuje submukózu
T2	Nádor postihuje tunica muscularis propria
T3	Nádor prorůstá přes muscularis propria do subserózy nebo do neperitonealizované perikolické nebo perirektální tkáně
T4	Nádor přímo porušuje jiné orgány nebo struktury a/nebo perforuje viscerální peritoneum
T4a	Nádor prorůstá na viscerální peritoneum
T4b	Nádor přímo postihuje jiné orgány či struktury

5.1.6.2 N stádium: Regionální místní uzliny

- Nx** regionální lymfatické uzliny nelze hodnotit
- N0** V regionálních lymfatických uzlinách nejsou známky metastáz
- N1** Metastázy v 1-3 lymfatických uzlinách
- N1a** Metastáza v 1 regionální uzlině
- N1b** Metastázy ve 2-3 regionálních místních uzlinách
- N1c** Ložisko (ložiska) nádoru, tj. satelity, v subseróze nebo neperitonealizované perikolické či perirektální měkké tkáni bez metastázy v regionální místní uzlině
- N2** Metastázy ve 4 nebo více lymfatických uzlinách
- N2a** Metastázy ve 4-6 regionálních místních uzlinách
- N2b** Metastázy v 7 a více regionálních místních uzlinách
- pN0** Histologické vyšetření vzorků z regionální lymfadenektomie má standardně zahrnovat 12 a více místních uzlin. Jsou-li místní uzliny negativní, ale nebylo dosaženo standardně vyšetřovaného počtu, klasifikuje se pN0.

Za regionální místní uzliny jsou považovány horní, střední a dolní rektální uzliny (hemoroidální), dolní mezenterické, vnitřní ilické, mezorektální (pararektální), laterální sakrální, presakrální a sakrální promontoriální (Gerotovy). Metastázy v jiných lymfatických uzlinách se považují za M1.

5.1.6.3 M stádium: Vzdálené metastázy

- Mx** Vzdálené metastázy nelze hodnotit
- M0** Nejsou vzdálené metastázy
- M1** Prokázané vzdálené metastazování
- M1a** Metastázy omezené na jeden orgán (játra, plíce, vaječník, ne-regionální místní uzliny)
- M1b** Metastázy ve více než jednom orgánu nebo na peritoneu

Kategorie pT, ypT, pN, ypN, pM ypM odpovídají kategoriím T, N a M.

5.1.6.4 Rozdělení do klinických stadií

Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1,T2	N0	M0
Stadium II	T3,T4	N0	M0
Stádium IIA	T3	N0	M0
Stádium IIB	T4a	N0	M0
Stádium IIC	T4b	N0	M0
Stadium III	Jakékoli T	N1,2	M0
Stádium IIIA	T1,T2	N1	M0
	T1	N2a	M0
Stadium IIIB	T3,T4a	N1	M0
	T2,T3	N2a	M0
	T1,T2	N2b	M0
Stadium IIIC	T4a	N2a	M0
	T3,T4a	N2b	M0
	T4b	N1,N2	M0
Stadium IVA	Jakékoli T	Jakékoli N	M1a
Stadium IVB	Jakékoli T	Jakékoli N	M1b

5.1.7 Historický vývoj léčby

Dlouhá léta byla zlatým standardem terapie rektálního karcinomu abdominoperineální resekce popsaná Ernstem Milesem již v roce 1930, tuto pozici si udržela až do 60. let, kdy Dixonova dolní přední resekce umožnila svěrače zachovávající léčbu u karcinomů lokalizovaných horní třetině rekta. Od poloviny 70. let se v chirurgické léčbě začínají prosazovat staplery, tato technologie zdokonalila možnosti provedení kolorektálních či koloanálních anastomóz a odstranila u početné skupiny pacientů potřebu abdominoperineální resekce. Tyto postupy vedly k výrazně lepší kvalitě života pacientů po operační terapii, protože umožnily provádět vyšší počet svěrač zachovávajících operací, nicméně incidence lokálních recidiv po kurativní resekci rektálního karcinomu

se příliš nezměnila. U klinických stádií I a II (tedy cT1-2N0) činila asi 10%, u cT3N0 tumorů 15-30%, u cT3N1 35-50%, u cT3-4N+ tumorů asi 60%. Výrazné zlepšení výsledků chirurgické léčby přinesla až implementace techniky totální mesorektální excize (TME), ta byla zavedena do klinické praxe v 80. letech minulého století a zdokonalována v letech následujících. Jde se o techniku kompletního a precizního chirurgického odstranění mesorekta pod přímou zrakovou kontrolou se zachováním hypogastrického plexu [7-9]. I přes tento nezpochybnitelný pokrok operativy, zůstávalo procento pánevních recidiv po konvenční chirurgické léčbě nadále vysoké a byl zde tedy stále prostor pro zlepšení klinických výsledků. To vedlo k zařazení radioterapie do léčebného schématu v kombinaci s chirurgickým výkonem. Byl prokázán jasný pokles rizika lokální recidivy zhruba o 50% u pacientů, kteří byli adjuvantně ozařováni [10]. Studie s předoperační a pooperační radioterapií dále prokázaly redukcii rizika lokální recidivy u pacientů s tumorem penetrujícím stěnu rekta nebo postižením regionálních mízních uzlin. Pokles rizika byl pozorován o 15 -25%, ale bez jakéhokoli vlivu na celkové přežití. Jedinou světlou výjimku v tomto ohledu tvořila Stockholmská studie [11]. Holandskou skupinou bylo dále prokázáno signifikantní snížení rizika recidiv po proběhlé předoperační radioterapii i u pacientů operovaných technikou TME [12]. Tento „TME trial“ prokázal zlepšení 5 letého OS z 56% na 65% [13], benefit v přežití považován za významný příspěvek radioterapie.

Pokrok v adjuvantních pooperačních režimech integrující systémovou léčbu, radioterapii a současné kontinuální zdokonalování obou modalit vedl k celé řadě klinických studií, které potvrdily superioritu kombinované multimodální terapie, prokázaly zlepšení lokální kontroly a z některých dat nejednoznačně vyplynulo i možné prodloužení DFS a OS, které se však dodnes diskutuje a je předmětem dalšího zkoumání [14-16]. Studie v Mayo Clinic prokázala 10% zlepšení celkového přežití s použitím kontinuální intravenózní aplikace 5-fluorouracilu v porovnání s bolusovým podáváním cytostatika během adjuvantní radioterapie [17]. Pooperační chemoradioterapie se proto stala v 90. letech součástí celosvětově uznávaných doporučených postupů terapie pro lokálně pokročilý karcinom konečníku [18].

Poslední nedořešenou otázkou ohledně radioterapie zůstalo její načasování, tedy zda ji využít v předoperační nebo pooperační indikaci. Na toto se snažila odpovědět celá série studií zkoumající efekt předoperační radioterapie samostatně nebo v kombinaci

s konkomitantní chemoterapií [19, 20]. U lokálně pokročilých karcinomů byl navržen koncept předoperační radioterapie potencované kontinuálním podáváním chemoterapie, tak zvaná neoadjuvantní chemoradioterapie. Tento přístup umožnil u pacientů s karcinomem distálního rekta vysoké procento sfinkter šetřících operací. Takto zvolená léčebná strategie poskytuje lokální kontrolu srovnatelnou s radikálnější operací a pooperační chemoradioterapií [21-29]. Předoperační chemoradioterapie má navíc signifikantně méně negativních účinků na anorektální funkci a gastrointestinální trakt celkově v porovnání s pooperační radioterapií [30]. V rámci zachování objektivity je však nutno dodat, že někteří autoři tyto výsledky i nadále zpochybňují [31].

Současná předoperační radioterapie se spojena s asi 5% výskytem akutní toxicity stupně 3-4 (dle kritérií RTOG). Toto procento stoupá na 20-30% pokud je použita konkomitantní chemoterapie. Při použití dávkového boostu 5-9 Gy k aplikovaným 45 Gy ve 25 frakcích je akutní morbidita až 35% [32]. Nejčastějším typem akutní toxicity je dysfunkce střevní motility, přičemž převažují známky proktitidy nad známkami enteritidy. Závažné perioperační komplikace po předoperační radioterapii nejsou častější v porovnání s chirurgickou léčbou samotnou [33]. Pozdní komplikace stupně 3-4 (dle RTOG) zahrnují poruchy močového měchýře, rekta, měkkých tkání, neuropatie a poškození tenkého střeva. Týkají se asi 10% pacientů, což je srovnatelné se samostatnou operační terapií. Po předoperační konkomitantní chemoradioterapii může být zvýšena incidence rektální dysfunkce stupně 1-2 [34].

Několik studií demonstrovalo závislost lokální kontroly na dávce z předoperační radioterapie. Fortier se svým kolektivem pozoroval redukci lokálních recidiv z 33% na 9%, pokud se dávka předoperační radioterapie zvýšila ze 40Gy na 50Gy [35]. Další práce popsala snížení rizika lokálních recidiv z 20% na 8% při zvýšení dávky radioterapie ze 45 Gy na 55 Gy [36]. Zvýšení dávky představovalo benefit obzvláště u nádorů distálního rekta (méně než 6 cm od anorektálního spojení) a u fixovaných karcinomů. Protože význam downstagingu nádoru pro zlepšení resekability fixovaných karcinomů rekta je kritický, obdržení kompletní patologické odpovědi se jeví být potentním prediktorem přežití. Ahmed udává, že u pacientů, kde byla předoperační radioterapií dosažena kompletní patologická odpověď, bylo 10 let přežití až 100% [36]. Běžné režimy s radioterapií do dávek 45-50 Gy s konkomitantně podávaným 5-fluorouracilem dosahují patologické kompletní odpovědi v 11-30%, přičemž lokální recidivy se vyskytují v 9-14%.

Výsledky randomizovaných studií porovnávajících předoperační a pooperační chemoradioterapii prokazují vyšší počet sfinkter šetřících operačních výkonů v rameni s předoperační chemoradioterapií (44% vs. 34%) [25, 37]. Dávková eskalace je velmi limitována přítomností rizikových orgánů v malé pánvi, proto je i nadále diskutována a je zkoumána i možnost využití endoluminální brachyterapie [38, 39].

Předoperační chemoradioterapie je poměrně dobře prozkoumána a je obecně akceptována napříč medicínskými obory, pravým opakem je samostatná adjuvantní chemoterapie. Tato léčba je založena na aplikaci cytostatika 5-fluorouracil v kombinaci s dalšími cytostatiky (oxaliplatinou, irinotekanem). Myšlenka byla extrapolována z léčebných postupů pro karcinom volného tlustého střeva, i když se nádory konečníku a tlustého střeva histologicky neliší, pro své biologické chování na ně nahlížíme jako na dvě odlišné choroby. Prozatím nebyl prokázán jasný benefit adjuvantní chemoterapie u rektálního karcinomu, světlou výjimku tvoří skupina pacientů s tumorem lokalizovaným v oblasti 10-15cm o análního svěrače a zároveň velmi dobře odpovídajícím na předoperační chemoradioterapii (ve smyslu T i N downstagingu). Tato oblast zůstává předmětem dalšího zkoumání [40].

5.1.8 Strategie léčby

Základní rozdělení léčebného záměru je na léčbu radikální nebo paliativní. Radikální terapie by měla vést ke kompletní eradikaci onkologické choroby a navození dlouhodobé kompletní remise choroby. U karcinomu konečníku se v naprosté většině případů jedná o léčbu multimodální (operace, radioterapie, chemoterapie) a časově náročnou (celková doba léčby v řádu měsíců). Paliativní terapie je vedena s cílem zmírnění symptomů choroby a zlepšení kvality života. Jejím primárním cílem tedy není navození regrese choroby. Pro potřeby této práce se budeme zabývat pouze léčbou radikální, paliativní terapie s využitím moderních cílených preparátů svým rozsahem výrazně přesahuje cíle zkoumání této práce.

Léčebný přístup, jeho načasování a intenzitu je vždy nutné korigovat dle potřeb každého individuálního pacienta. Vždy je nutné přihlížet k jeho celkovému stavu, komorbiditám, věku ale i preferencím pacienta.

5.1.8.1 Stádium I

Základem terapie je vždy operační výkon. U stádií T1N0 lze akceptovat transanální excizi, pokud byla provedena s dostatečným negativním okrajem a nebyly nalezeny rizikové faktory (lymfangioinvaze, špatně diferencovaný karcinom, invaze do submukózy sm3) [41]. Od stádia T2N0 je nutno přistoupit k transabdominální resekci klasickým nebo laparoskopickým přístupem.

Adjuvantní terapie většinou nebývá indikována, avšak při nálezů patologického vyššího stádia nebo rizikových faktorů by měla být doplněna pooperační chemoradioterapie a adjuvantní chemoterapie.

5.1.8.2 Stádium II + III

U těchto stádií je doporučována kombinovaná terapie. Dle současných onkologických doporučení je preferována předoperační léčba – chemoradioterapie [42, 43]. U pacientů, kteří jsou primárně resekabilní bez zvýšeného rizika pozitivních resekčních okrajů (R1 resekce) a to hlavně v oblasti mesorektální facie (CRM - cirkumferenční resekční okraj) lze předoperačně indikovat samostatnou radioterapii na oblast pánve v akcelerovaném režimu LD 25Gy v 5 frakcích.

U pacientů, kde je vysoké riziko primární R1 resekce, je nutno indikovat chemoradioterapii pánve. U tohoto postupu byl prokázán benefit ve smyslu downstagingu oproti radioterapii samostatné.

U pacientů stádia T3N0 v oblasti proximálního rekta lze akceptovat i primární operační výkon. Pooperačně jsou pacienti ještě zajištěni adjuvantní chemoterapií.

5.1.8.3 Stádium IV

U těchto pacientů se jedná v převážné většině o léčbu paliativní, kde hlavní úlohu hraje léčba systémová (cytostatika, cílená terapie). Nicméně i u těchto pacientů není vhodné lokální terapii primárního tumoru se snahou o kontrolu onemocnění v pánvi opomíjet. Progrese choroby v pánvi je vždy provázena závažnými symptomy, které významným způsobem snižují kvalitu života. Zde se vždy volí individuální přístup, z chirurgické léčby

je možno provést paliativní resekci postižené části konečníku nebo pouze vyvedení derivační stomie jako prevenci obstrukce střeva. Některá pracoviště jsou schopna poskytnout ošetření tumoru laserovou rekanalizací, neposlední možností je i zavedení rektálního stentu k zajištění pasáže.

5.1.9 Principy chirurgické léčby

5.1.9.1 Transanální excize, transanální endoskopická resekce

Tyto operační techniky jsou rezervovány pro velmi úzkou skupinu pacientů. Úskalí postupu spočívá hlavně v absenci znalosti patologického stagingu uzlinového postižení (spoléháme se pouze na zobrazovací metody – klinický staging) a tedy i možného podhodnocení klinického stádia onemocnění, obzvláště při přítomnosti subklinického postižení perirektálních lymfatických uzlin[44]. Naopak nespornou výhodou výkonu je minimální morbidita, mortalita a rychlá rekonvalescence pacientů po výkonu.

Indikovaní pacienti by měli splňovat následující kritéria. Mělo by se jednat o stádium T1N0, nádor by měl být lokalizován alespoň 8cm od análního okraje, nádor by neměl v maximálním rozměru přesahovat 3cm a měl by být omezen na maximálně 30% cirkumference [41]. Výkon je považován za radikální v případě, že excize postihuje celou tloušťku stěny rekta až do perirektálního tuku, musí být dosažen alespoň 3mm resekční okraj ve všech směrech, preparát by neměl být fragmentován, neměla by být přítomna lymfagioinvaze nádorových buněk, špatná diferenciacie nebo invaze do dolní třetiny submukózy (sm3) [45, 46]. V případě nesplnění těchto podmínek je nutné indikovat transabdominální resekční výkon.

5.1.9.2 Transabdominální excize

Tyto techniky jsou založeny na principu totální mesorektální excize (TME), kdy je pomocí ostré preparace v jednom bloku kompletně odstraněna tkáň mesorekta, konkrétně tedy postižená stěna konečníku s dostatečným resekčním okrajem včetně perirektální tukové

tkáně, lymfatickými strukturami a mesorektální fascií. Současně jsou však šetřeny autonomní nervové pleteně (plexus hypogastricus) [9].

Tato technika má několik modifikací, pro tumory uložené proximálně (střední a proximální část konečníku) se užívá tzv. dolní přední resekce, kdy se spolu s TME resekuje proximální část rekta s vytvořením kolorektální anastomózy nebo trvalé kolostomie.

U tumorů infiltrujících anální svěrač nebo lokalizovaných v jeho těsné blízkosti se užívá abdominoperitoneální amputace konečníku, kdy se kompletně odstraňuje oblast rektosigmatu včetně anu, přilehlé mesenterium, mesorektum (TME) a perianální měkké tkáně. Výkon je vždy spojen s trvalou kolostomií [47].

Z hlediska operačního přístupu nebyl nalezen rozdíl ve výsledcích mezi laparoskopickou a klasickou otevřenou operací [48-50].

5.1.10 Principy radioterapie

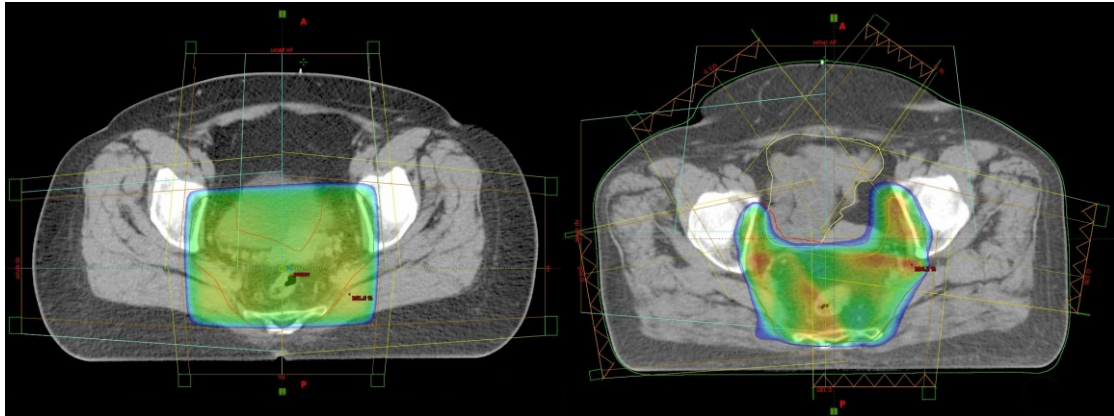
V radikální multimodální terapii karcinomu konečníku je v současné době preferována neoadjuvantní (předoperační) léčba před léčbou adjuvantní (pooperační). Byl prokázán lepší efekt na lokální kontrolu onemocnění a menší riziko výskytu závažných nežádoucích účinků. Doposud však nebyla rozřešena otázka frekvence sfinkterzachovávajících výkonů, tedy zda předoperační chemoradioterapie zvyšuje frekvenci těchto výkonů [31, 51-53]. V případě nutnosti downstagingu onemocnění je jasně indikována neoadjuvantní chemoradioterapie, pokud však není nutnost downstagingu a tumor je primárně operabilní bez rizika R1/R2 resekce, je možné volit i akcelerovaný režim 5x5Gy. Nevýhodou předoperační léčby je absence znalosti patologického stagingu, tedy riziko nadhodnocení klinického stádia dle vstupních zobrazovacích vyšetření a následný možný „over-treating“ [51].

5.1.10.1 Zevní radioterapie

Jedná se o nejčastěji využívanou techniku radioterapie, jak doručit ionizující záření do cílového objemu tkáně (oblast malé pánve). Záření produkované externím zdrojem

(lineární urychlovač), je kolimováno a modifikováno systémem clon a filtrů do přesně definovaného svazku a přes kůži pacienta proniká do cílového objemu v těle.

Obrázek 3: Porovnání rozložení dávky záření u 3D-CRT radioterapie (technika 4 polí - BOX technika, vlevo) a radioterapie s modulovanou intenzitou (IMRT, vpravo).



5.1.10.2 Plánování radioterapie

Ozařovací plán se připravuje v trojrozměrném plánovacím systému na podkladě obrazového výstupu z výpočetní tomografie. Obvykle jsou zhotoveny jednotlivé CT řezy o rozestupu 1-5mm, do kterých jsou následně konturovány cílové objemy a rizikové orgány.

5.1.10.3 Cílové objemy, rizikové orgány

Za cílové objemy se považují přesně specifikované oblasti v těle pacienta, kde je přímo lokalizováno klinicky rozpoznatelné nádorové onemocnění nebo se předpokládá jeho mikroskopické šíření (subklinické postižení) do těchto oblastí. V principu určujeme tři základní cílové objemy. GTV objem (Gross Tumor Volume) určujeme na podkladě jasně rozeznatelného makroskopického nádorového postižení na plánovacím zobrazovacím vyšetření (povětšinou CT). CTV objem (Clinical Target Volume) definujeme jako oblast možného mikroskopického šíření nádoru. Objem PTV (Planning Target Volume) definujeme jako geometrický lem k CTV, tento objem slouží k eliminaci chyb nastavení

polohy pacienta na ozařovacím stole a technologických nedokonalostí ozařovacích přístrojů.

Za rizikové orgány se považují orgány s blízkostí cílových objemů. U těchto orgánů je nutné předem určit aplikovanou dávku záření, kterou v průběhu ozařování obdrží. Při překročení tolerančních dávek jednotlivých orgánů, by došlo k rozvoji těžkých nežádoucích účinků až nevratnému poškození rizikového orgánu.

Vykreslování cílových objemů a rizikových orgánů vychází z doporučení ICRU [54, 55] a konturovacích atlasů dle RTOG doporučení [56, 57].

5.1.10.4 Předoperační radioterapie – cílové objemy

- GTV** Je určen rozsahem nádoru (GTVT) a postiženými uzlinami (GTVN).
- CTV 1** Zahrnuje vždy: tumor, celé mesorektum, presakrální prostor a vnitřní ilické uzliny.

Dle rozsahu a lokalizace tumoru dále zahrnuje:

Fossa ischiorectalis a oblast vnitřního a vnějšího análního svěrače u tumorů lokalizovaných do 6 cm od anu (nízce sedících) nebo pokud tumor invaduje do análních svěračů.

Obturatorní uzliny – je-li tumor lokalizován do vzdálenosti 10 cm od anu, v případě postižení uzlin v mesorektu nebo vnitřních ilických uzlin nebo pokud je přítomna invaze tumoru do jiných pánevních orgánů (T4).

Zevní ilické uzliny – v případě invaze tumoru do předních pánevních orgánů, jako prostata, semenné vajíčky, pochva, děloha, močový měchýř (T4) nebo existuje riziko postižení inguinálních uzlin.

Inguinální uzliny – pokud tumor postihuje dolní třetinu pochvy nebo anální svěrače.

Společné ilické uzliny – lze zahrnout při mnohočetném uzlinovém postižení.

- PTV 1** Je určen objemem CTV 1 s lemem, jehož velikost je stanovena protokolem pracoviště v závislosti na technickém vybavení (většinou 0.5-2cm).

Cílené ozáření nádoru (boost):

- CTV 2** Mesorektum v rozsahu tumoru s lemem 2 cm kraniálně a kaudálně od tumoru.
- PTV 2** Je určen objemem CTV 2 s lemem, jehož velikost je stanovena protokolem pracoviště v závislosti na technickém vybavení.

5.1.10.5 Pooperační radioterapie – cílové objemy

- GTV** Objem se neurčuje.
- CTV 1** Jako u předoperační radioterapie (místo „tumor“ odpovídá „lůžko tumoru“). Při radioterapii po amputaci rekta pro nízko sedící tumory CTV 1 zahrnuje perineální oblast i s jizvou.
- PTV 1** Je určen objemem CTV 1 s lemem, jehož velikost je stanovena protokolem pracoviště v závislosti na technickém vybavení.

Cílené ozáření oblasti anastomózy (boost):

- CTV 2** Zahrnuje oblast anastomózy s lemem 2 cm.
- PTV 2** Je určen objemem CTV 2 s lemem, jehož velikost je stanovena protokolem pracoviště v závislosti na technickém vybavení.

5.1.10.6 Poloha pacienta

Pronační na břicho nebo supinační poloha pacienta na zádech; doporučeno je plánování i ozařování pacienta s plným močovým měchýřem.

5.1.10.7 Ozařovací techniky

Z ozařovacích technik lze dávku aplikovat pomocí trojrozměrné konformní radioterapie (3D-CRT) s využitím tří nebo čtyř (BOX technika) ozařovacích polí nebo modernější radioterapií s modulovanou intenzitou svazku záření (IMRT) s využitím obvykle 5-7 ozařovacích polí.

5.1.10.8 Frakcionace a dávka záření radioterapie

- | | |
|--------------------|---|
| Dlouhý kurz | 45-50 Gy v 25 frakcích (PTV 1)
boost 5.4–9 Gy ve 3–5 frakcích (PTV 2),
frakcionace 5 x 1.8-2 Gy / týden |
| Krátký kurz | 25 Gy v 5 frakcích v 1 týdnu |

5.1.10.9 Kritické orgány

Tenké střevo	V45 < 195 cm ³ (celá peritoneální dutina) V15 < 120 cm ³ (individuální kličky)
Močový měchýř	Dmax < 65 Gy V80 < 15% V75 < 25% V70 < 35% V65 < 50%

5.1.11 Konkomitantní chemoterapie při radioterapii

V rámci předoperační léčby bylo prokázáno, že přidání chemoterapie k probíhající radioterapii snižuje riziko lokální recidivy, ale nemá žádný efekt na OS, časnou poléčebnou mortalitu, četnost svěrač šetřících výkonů ani výskyt pozdní toxicity. Tento vliv byl prokázán u klinických stádií II i III [58, 59] a porovnán se samostatnou předoperační radioterapií [60]. Jako optimální chemoterapeutický režim se jeví kontinuální infuze 5-fluorouracilu nebo biologicky ekvivalentní dávka kapecitabinu [15, 61]. Intenzifikace režimů přidáním dalších cytostatik (oxaliplatina) nebo cílených léčiv (anti-EGFR) nepřinesla požadovaný efekt a vedla pouze ke zvýšení akutní i chronické toxicity [62, 63].

5.1.12 Principy systémové léčby

Samostatná systémová léčba se u nádoru konečníku užívá ve formě adjuvantní pooperační chemoterapie (na bázi 5-fluorouracilu, oxaliplatiny, irinotekanu). Případně u generalizovaného onemocnění v paliativní indikaci v kombinaci s cílenou léčbou [43]. Systémová léčba výrazně přesahuje rámec této disertační práce, proto je zde pouze zmíněna a dále se jí nevěnuji.

5.2 Vzájemný vztah zánětu a nádorového růstu

Spojení mezi zánětem a zhoubným nádorovým procesem je zkoumáno více než 140 let. Již v roce 1876 byla Rudolfem Virchowem popsána přítomnost leukocytů v nádorové tkáni a byl rozpoznán silný vliv systémové zánětlivé odpovědi (SIR) na progresi tumoru [64]. V současnosti jsme schopni velmi dobře charakterizovat tento vzájemný vztah, na první pohled dvou nesourodých procesů v lidském těle. Zdá se, že zkoumání samotné podstaty SIR a jejího vlivu na nádorové bujení může vést i pochopení dějů uvnitř nádorové tkáně a otevřít cestu k novým možnostem léčebného ovlivnění tumoru. Obecně jsou popisovány oboustranné vzájemné interakce, kdy přítomnost SIR v těle může podněcovat utváření vhodného protumorogenního mikroprostředí. A naopak nádorové bujení skrze nejrůznější cytokiny a růstové faktory ovlivňuje celkové imunologické procesy v těle. Rakovinou indukovaná zánětlivá odpověď poté ovlivňuje základní charakteristiky maligního růstu, kterými jsou proliferace, přežívání buněk, migrace, invaze a metastazování [65].

Pochopení těchto procesů a rozpoznání aktuálního stavu zánětlivé odpovědi ještě před zahájením protinádorové terapie může být velmi důležitý prognostický a prediktivní faktor nádorové odpovědi, respektive celkového klinického výstupu léčby. Dle dostupných literárních dat víme, že SIR je spojeno se signifikantním ovlivněním výsledků terapie u nejrůznějších druhů malignit [66]. Aktivně probíhající zánět v těle ovlivňuje nejrůznější měřitelné parametry vnitřního prostředí, v první řadě se jedná hlavně o parametry krevního obrazu (absolutní i relativní počty krevních buněk). Tento diagnostický test je velmi snadno dostupný a může být využit k monitoraci akutní i chronické zánětlivé odpovědi [67].

Existuje několik prognostických skórovacích systémů založených na zkoumání zánětlivé odpovědi u onkologicky nemocných pacientů. Široce akceptovaný je hlavně Glasgowský skórovací systém (GPS), který využívá zvýšenou koncentraci cirkulujícího C-reaktivního proteinu a sníženou koncentraci albuminu. U tohoto systému již byla potvrzena jeho účinnost jako nezávislého prognostického ukazatele u pacientů s rakovinou [68, 69]. Nevýhodou systému je, že krevní parametry, na nichž je založen, nejsou většinou rutinně

zkoumány před zahájením protinádorové terapie. Toto se naopak netýká odběrů krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů [70].

Nejdůležitější krevní parametry s ohledem na jejich vliv na předoperační léčbu u lokálně pokročilého karcinomu konečníku jsou koncentrace hemoglobinu v krvi [71], poměr mezi absolutní hodnotou cirkulujících neutrofilních granulocytů a leukocytů (NLR – neutrophile to leukocyte ratio) [72] a koncentrace krevních destiček. Vliv těchto parametrů byl většinou zkoumán samostatně [73, 74] a byl demonstrován jejich dopad na dlouhodobé přežití u pacientů po radikální onkologické léčbě [75].

V obecném pohledu je role neutrofilních granulocytů v rámci SIR, respektive jejich zvýšená koncentrace v periferní krvi, chápána jako protumorigenní. Zdá se, že tyto krevní elementy jsou zodpovědné za uvolňování chemokinů, které formují mikroprostředí ve prospěch nádorového růstu a tudíž podporují růst a šíření nádoru [76]. Naopak lymfocyty reprezentují protinádorový efekt a jsou zodpovědné za zprostředkování protinádorové imunitní odpovědi [77].

Předpokládá se, že zvýšená hladina cirkulujících lymfocytů může korelovat se zvýšenou hladinou tumor infiltrujících lymfocytů, tedy lymfocytů lokalizovaných přímo v nádorové tkáni. [78]. Výhodou stanovení počtu lymfocytů (potažmo NLR) z periferní krve je snadná dostupnost a nízká cena tohoto testu, což se nedá říci o stanovení koncentrace TIL. V následujících podkapitolách jsou charakterizovány jednotlivé elementární pochody a stěžejní protagonisté ambivalentního vztahu tumor – zánět.

5.2.1 Vliv zánětu na vznik rakovinného bujení

Vliv chronického zánětu na vznik nádorového bujení je historicky poměrně dobře zdokumentován. Je všeobecně známo, že chronická zánětlivá onemocnění výrazně zvyšují dlouhodobé riziko propuknutí rakoviny v místě probíhajícího zánětu, tento fakt byl popsán u celé řady malignit (tabulka 1). Odhaduje se, že zhruba 20% úmrtí způsobených rakovinou (celosvětově) je v důsledku infekčního onemocnění a jím vyvolané chronické zánětlivé odpovědi, kdy tyto dva mechanismy jsou vlastním iniciátorem celého zhoubného procesu [79]. Nicméně celkový podíl zánětu na vzniku rakoviny je predikován u daleko vyššího procenta chorob (ne-li u 100%). Zánětlivou odpověď na úrovni

mikroprostředí totiž vyvolávají i neinfekční karcinogenní faktory. Až u 30% onkologických onemocnění se uvádí podíl inhalování tabákového kouře a ostatních znečišťujících látek, hlavně azbestu a křemíkového prachu, u další 35% onemocnění můžeme přisuzovat vliv dietárních faktorů (hlavně obezity a stravy bohaté na tuky a masné bílkoviny) [80]. U kuřáků tabáku (mimo přímý mutagenní vliv některých látek) dochází k ukládání mikročástic z kouře v oblasti plic a bronchiálního stromu, tím dochází k usnadnění rozvoje chronické obstrukční plicní nemoci (opět související se zánětlivou odpovědí), což je jedna z podmínek zvyšující riziko bronchogenního karcinomu [81]. Obdobný efekt byl pozorován u azbestových částic, které samy nemají přímý mutagenní potenciál, jejich přítomnost v tkáni však vede k tvorbě chronického zánětlivého mikroprostředí a tím i ke zvýšené tvorbě volných kyslíkových radikálů, které již mutagenní potenciál mají [82]. Obdobný efekt lze najít i v případě obezity, velmi dobře je například zdokumentován vznik hepatocelulárního karcinomu na podkladě steatohepatitidy [83]. Podrobný přehled o spojení chronického zánětu a rakoviny uvádí tabulka 1.

Typickým znakem pro zánět asociovaný s nádorovým bujením je přítomnost zánětlivých buněk a zánětlivých mediátorů (cytokinů a chemokinů) v tumorózní tkáni, tento stav je podobný zánětu v rámci hojení a vede k remodelaci a mohutné neoangiogenezi. Dle Mantovaniho vzniká zánětlivé protumorigenní mikroprostředí za současného působení dvou nezávislých drah. Podstatou vnější aktivační dráhy je chronický zánět tkáně nejrůznějšího původu, který skrze aktivaci buněk imunitního systému zvyšuje riziko maligní transformace buněk tkáně postižené právě chronickým zánětem. Naopak podstatou vnitřní dráhy je vlastní alterace genetického kódu buněk tkáně (mutace, chromozomální aberace), která následně cestou aktivace transkripčních faktorů (RET, RAS-RAF, MYC) vytváří zánětlivé mikroprostředí vhodné pro další mutace a iniciaci a progresi kancerogeneze (obrázek 4). Všeobecně lze tyto jevy vysvětlit jako odpověď hostitele na poškození a to na úrovni tkání až buněk, kdy je primární snahou organismu navození hojení tkání. Dochází k tvorbě a udržování poměrně složité chemické signální sítě za využití mnoha druhů chemokinů, cytokinů, parakrinní i autokrinních působků. Toto vyvolává přímou migraci leukocytů (neutrofilů, eosinofilů, monocytů) z krevního řečiště do místa zánětu a aktivaci dalších buněk vrozené i získané imunity. Běžný léčebný zánět však podléhá přísné autoregulaci (současná produkce zánět podporujících i zánět tlumících látek) a spontánně v čase regreduje, pokud je tento proces patologicky

udržován dlouhodobě nebo selže mechanismus regulace, může to vést až k tvorbě protumorigenního mikroprostředí, které usnadňuje vznik zhoubného bujení [84].

Tabulka 1: Podmínky vyvolávající chronickou zánětlivou odpověď jejich vztah k malignímu procesu (převzato z Coussens [76]).

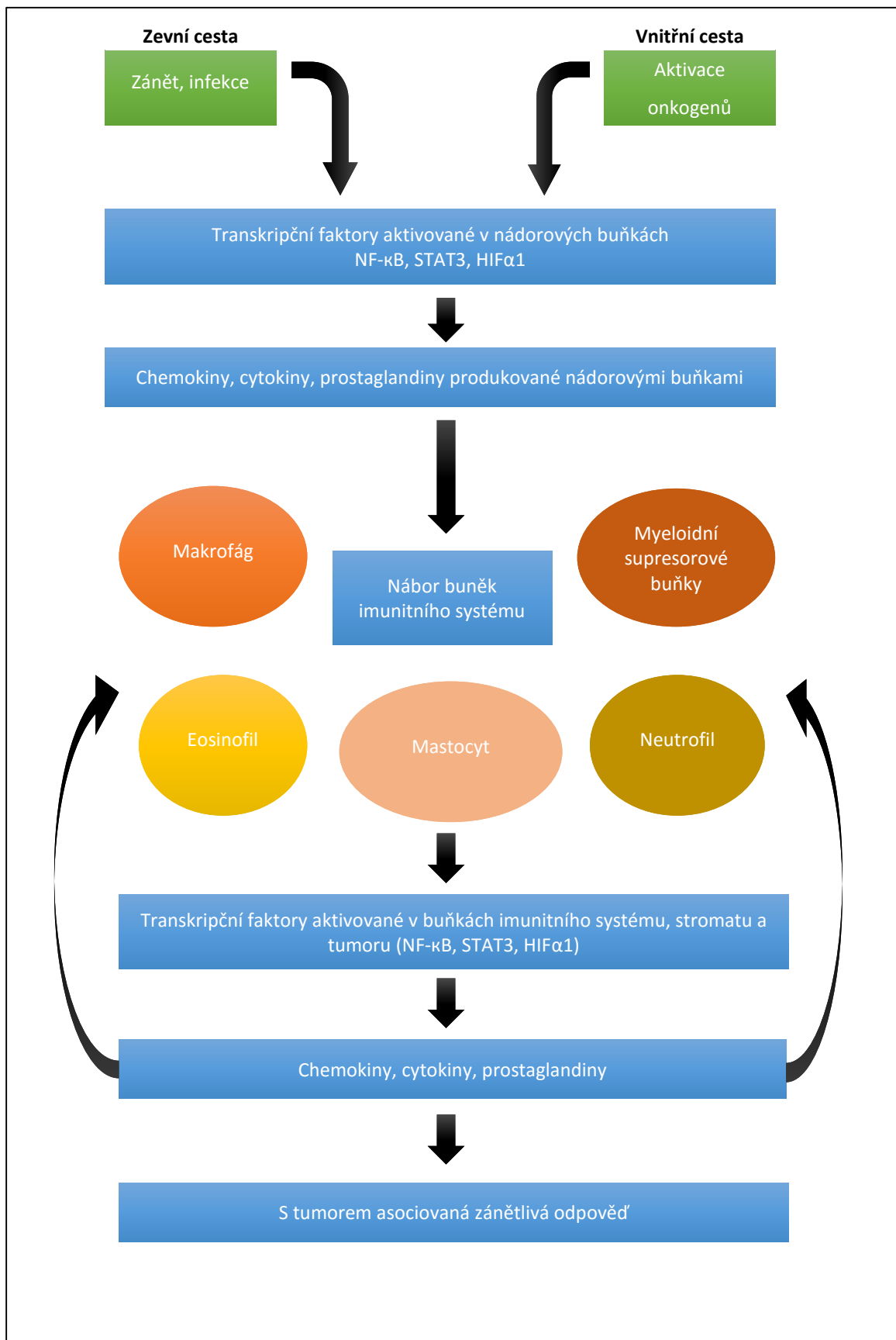
Malignity spojené s neinfekčním zánětem		
Patologický stav	Malignita	Etiologie
Azbestóza	Mezoteliom	Azbest
Bronchitis	Karcinom plic	Cigaretový kouř
Cystitis	Karcinom močového měchýře	Chronická katetrizace
Gingivitis	Karcinom dutiny ústní	
Idiopatický střevní zánět	Kolorektální karcinom	
Lichen sclerosus	Karcinom vulvy	
Chronická pankreatitida	Karcinom slinivky břišní	Alkoholismus
Barrettův jícn	Karcinom jícnu	Žaludeční kyseliny
Sjörgenův syndrom	MALT lymfom	
Hashimotova thyroiditis	MALT lymfom	
Dermatitida	Melanom	Ultrafialové záření
Malignity spojené s infekčními agens		
Cholangioitis	Cholangiokarcinom	Opisthorchis
Cholecystitis	Karcinom žlučníku	Chronický bakteriální zánět
Gastritis	Adenokarcinom žaludku	Helicobacter pylori
Hepatitis	Hepatocelulární karcinom	HBV, HCV
Mononucleosis	Non-Hodgkinův lymfom, Burkittův lymfom	EBV
AIDS	Kaposiho sarkom, spinocelulární karcinom	HIV, HHV-8
Osteomyelitis	Kožní karcinom v píštělích	Bakteriální infekce
Záněty malé pánve	Ovariální karcinom	Gonorrhoea, Chlamydie
Cervicitis	Karcinom čípku děložního	HPV
Chronická cystitida	Karcinom močového měchýře	Schistosomiasis

Prvními rekrutovanými buňkami akutní fáze zánětu bývají neutrofilní granulocyty, okamžitě následované monocyty. Monocyty jsou chemotaktickými faktory zánětu aktivovány a diferencují se v makrofágy, jednou aktivované makrofágy jsou obrovskou zásobárnou růstových faktorů a další cytokinů, pomocí nichž ovlivňují děje v zánětlivém mikroprostředí [76].

Nádorové buňky, obdobně jako zánět, produkují celou řadu chemotaktických látek, jež přitahují leukocyty z krevního oběhu, proto v nádorovém mikroprostředí nalzáme poměrně silnou a heterogenní infiltraci těmito buňkami. Jmenovitě se jedná o neutrofilní granulocyty, dendritické buňky a jejich prekursory, makrofágy a jejich prekursory, eozinofilní granulocyty, mastocyty a lymfocyty. Všechny jmenované buňky mají v rámci zánětlivé reakce své specifické funkce a produkují soubor chemických látek (mediátorů i aktivních látek), kterými indukují další genetické poškození maligních buněk (vysoce reaktivní formy kyslíkových radikálů, serinové a cysteinové proteázy), stejně tak látky indukující přímou buněčnou smrt (interferony, tumor nekrotizující faktory) [85].

Již několik desetiletí je zkoumán i koncept tzv. immunosurveillance, tedy imunologického dohledu a případné aktivace efektorových funkcí imunity k eliminaci rakovinného bujení ještě před jeho klinickou manifestací. Právě tento koncept popisuje vzájemné vztahy mezi imunitním systémem, zánětlivou odpovědí, nádorovým mikroprostředím, zhoubným bujením a cesty, kterými je tumor schopen uniknout imunologickému dohledu hostitelova imunitního systému [86].

Obrázek 4: Cesty spojující zánětlivé a nádorové procesy (dle Mantovani [65])



5.2.2 Tumor infiltrující makrofágy (TAM)

Tento typ buněk imunitního systému je v rámci nádorového mikroprostředí nalézán nejčastěji. Jedná se o aktivované monocyty, které vcestovaly do tumorózní tkáně v rámci akutní zánětlivé reakce. TAM jsou zodpovědné za invazivní růst nádoru, angiogenezi, (lymfangioinvasi, hemangioinvasi) a metastazování. Zvýšená koncentrace TAM je spojována spíše s horší prognózou onemocnění [87]. Běžně jsou tyto buňky děleny na 2 velké skupiny [88].

Skupina TAM M1 je úzce spjata s vrozenou nespecifickou imunitou, bývá aktivována endogenně přes INF γ nebo exogenně bakteriálními toxiny a je charakterizována produkcí prozánětlivých cytokinů (IL-2, IL-6, IL-12, IL-23, TNF α) a zvýšenou expresí MHC molekul (Major Histocompatibility Complex). TAM M1 jsou tedy schopné udržovat i základní protinádorovou imunitu a mohou se uplatnit v protinádorovém působení. Oproti tomu skupina TAM M2 je spojena čistě s nádorovou progresí, angiogenezí a remodelací nádorové tkáně a oslabením získané imunity. Signální molekuly pro TAM M2 jsou produkovány regulačními T buňkami (Tregs) nebo přímo nádorovými buňkami, jedná se hlavně o dráhy zahrnující imunosupresivní cytokiny (IL-4, IL-10, IL-13 a TGF β), růstové faktory (VEGF, CSF-M) a downregulaci MHC molekul II. třídy [89]. Právě expresí VGFR-A, VEGF-C, VEGF-D a receptoru VEGFR-3 mohou TAM M2 hrát hlavní roli v odpovědi nádorového mikroprostředí na hemangiogenní a lymfangoigenní stimuly a tím se podstatně podílet na rozvoji diseminace těmito cestami [90].

5.2.3 Tumor infiltrující NK buňky (Natural Killers)

Jako součást vrozené imunity se tyto buňky uplatňují v prevenci recidivy choroby po léčbě, dále jsou důležitým faktorem kontroly růstu nádoru a mohou ovlivňovat i proces metastazování [91]. Při jejich působení se uplatňují dva hlavní receptory. Prvním je NKG2D receptor, který může vázat celou řadu overexprimovaných ligandů přítomných na povrchu buněk tumoru. Druhým receptorem je KIR (Killer Inhibitory Receptor), který je specifický pro molekuly MHC třídy I. Downregulace MHC-I molekul je charakteristickým znakem pro nádorové buňky a může tedy být jednou z cest aktivace NK buněk. Aktivované

NK buňky dále působí cytotoxicky na nádorové buňky pomocí sekrece INF γ nebo na protilátkách závislou buněčnou cytotoxicitou [92].

Obdobně působí v nádorovém mikroprostředí NKT buňky, jedná se o atypické T-lymfocyty, které spojují charakteristiky T buněk i NK buněk. Rozpoznávají glykolipidové antigeny a molekuly MHC-I, po aktivaci NKT buněk dochází k sekreci prozánětlivých cytokinů a efektorových molekul způsobujících přímou buněčnou smrt (FAS ligand, Perforin) [78]. Zvýšená koncentrace obou typů buněk v nádorovém mikroprostředí je v případě kolorektálního karcinomu spojována s výrazně lepší prognózou [93, 94].

5.2.4 Tumor infiltrující lymfocyty (TIL)

Získaná protinádorová imunita je pevně spojena i s mechanismy imunity vrozené. Aktivace funkce lymfocytů probíhá cestou antigen prezentujících buněk (většinou se jedná o dendritické buňky), které předkládají nádorové antigeny CD4+ T buňkám (přes MHC-II) nebo CD8+ T buňkám (přes MHC-I). Aktivované CD8+ T buňky působí na tumor přímým cytotoxickým efektem a jsou elementárním prvkem protinádorové imunity. Jejich efekt je v rámci kolorektálního karcinomu široce popsán a je akceptován předpoklad, že zvýšená koncentrace těchto buněk v nádorové tkáni výrazně ovlivňuje prognózu ve smyslu lepší odpovědi na léčbu a delšího přežívání [95], dále je popsáno, že zvýšená hladina TIL je silnější prediktivní parametr celkového přežití než klinické stádium založené na TNM klasifikaci [96]. Tato charakteristika je definována také u paměťových T lymfocytů (CD45RO+). Aktivované CD4+ T buňky modulují protinádorovou zánětlivou odpověď, dále se dělí na další podskupiny. Th1 podskupina je charakteristická podporou sekrece cytokinů (hlavně IL-2 a INF γ) a posiluje protinádorový efekt. Opakem je skupina Th2, která spíše nádorový růst podporuje. Další velkou podskupinou jsou tzv. regulační CD4+ T buňky (Tregs), tyto buňky jsou typické overexpresí CD25+ a Foxp3+, tlumí imunitní odpověď a jsou všeobecně vnímány jako jeden z viníků, jak nádor může uniknout imunologickému dohledu [78].

Tabulka 2: Role jednotlivých subtypů imunitních buněk v nádorové imunitní odpovědi (dle Grivennikov 2010 [97])

TYP BUNĚK	PROTINÁDOROVÝ EFEKT	PRONÁDOROVÝ EFEKT
MAKROFÁGY DENDRITICKÉ BUŇKY MYELOIDNÍ SUPRESOROVÉ	Prezentace antigenu, produkce cytokinů (IL-12, INF)	Imunosuprese, cytokiny a chemokiny, růstové faktory, proteázy, angiogenní faktory
MASTOCYTY		Produkce cytokinů
B LYMFOCYTY	Nádor specifické protilátky?	Produkce cytokinů, Imunosuprese, aktivace mastocytů
CD8+ T LYMFOCYTY	Přímé cytotoxické působení, cytotoxické cytokiny	
CD4+ TH2 T LYMFOCYTY		Aktivace a zrání makrofágů Aktivace B lymfocytů
CD4+ TH1 T LYMFOCYTY	INF γ , pomoc cytotoxickým lymfocytům (CTL)	Produkce cytokinů
CD4+ TH17 T LYMFOCYTY	Aktivace CTL	Produkce cytokinů
CD4+ TREGS T LYMFOCYTY	Potlačení zánětlivé odpovědi	Imunosuprese produkce cytokinů
NK BUŇKY	Přímá cytotoxicita nádorových buněk	
NKT BUŇKY	Přímá cytotoxicita nádorových buněk	
NEUTROFILY	Přímá cytotoxicita, regulace odpovědi (CTL)	Produkce cytokinů Proteáz kyslíkatých a dusíkatých radikálů

5.2.5 Transkripční faktory

Transkripční faktory jsou v naprosté většině nádorů upregulovány. Upregulace se týká vlastních nádorových buněk stejně jako buněk hostitelského imunitního systému infiltrujících nádorovou tkáň. Dále se transkripční faktory podílejí na zvýšené syntéze pro zánět klíčových mediátorů, chemokinů a cytokinů. V popředí stojí tři faktory jedním je STAT3, druhým NF- κ B, třetím AP-1.

STAT3 je zástupcem rodiny STAT proteinů, jako odpověď na působení cytokinů (interferon, IL-5, IL-6) a růstových faktorů (EGF) dochází k jeho fosforylaci, tvorbě homo nebo heterodimeru s následnou translokací do jádra buňky, kde působí jako transkripční faktor. STAT3 zprostředkovává expresi různých genů v odpovědi na buněčné podněty, hraje tak klíčovou roli u mnoha elementárních procesů buněčného života, jako je růst buněk nebo apoptotická smrt [98]. Aktivace skrze IL-6 působí na nádorové buňky antiapoptoticky a podporuje nádorový růst právě upregulací dalších antiapoptotických a

proproliferativních faktorů. Dále se rozhodující mírou podílí na náboru buněk myeloidní řady a jejich další diferenciaci v makrofágy a dendritické buňky infiltrující tumor. V neposlední řadě může druhotně indukovat nádorovou imunosupresi přes regulaci makrofágů a MDSC [99].

NF- κ B tvoří celou skupinu transkripčních faktorů, aktivace je regulována převážně cytokiny (TNF- α , IL-1, IL-6), jejich cílem je vazba na promotory RNA polymerázy II, čímž dochází k overexpresi genů majících dopad na imunitní procesy, lokální i systémovou zánětlivou odpověď, buněčný růst a smrt (antiapoptotický gen BCL2), nádorový růst, invazi a metastazování, angiogenezi, také se podílí na overexpresi genů pro adhezivní molekuly a pro enzymy uplatňující se v syntéze prostaglandinů (COX2) [100]. Dle dostupných dat vyplývá, že NF- κ B by mohl být pojítkem mezi probíhajícím chronickým zánětem a vznikem rakoviny. Pokročilé tumory mají typicky mikroprostředí podobné doutnajícímu zánětu, v takovém prostředí mají TAM opožděnou a defektní NF- κ B aktivaci. Za defektní tuto aktivaci je zodpovědná podjednotka faktoru NF- κ B homodimer p50 (negativní regulátor NF- κ B signální dráhy). Defektní aktivace TAM vede k expresi protumorogenního fenotypu těchto buněk (TAM M2) a může vést až k iniciaci maligního procesu [65].

AP-1 transkripční faktor obdobně jako předchozí dva ovlivňuje celou řadu fyziologických funkcí a buněčných procesů, jeho specialitou řízení přežívání tkání a regenerace tkání. Hraje velmi významnou roli v aktivaci proliferace fibroblastů, a to jak v rámci zánětlivého hojení, tak i jako součást maligního bujení. Aktivita faktoru bývá regulována cestou post-translační modifikace s tvorbou DNA vázajících dimerů [101].

5.2.6 Cytokiny

Cytokiny slouží k přenosu informace na intercelulární úrovni, tím se i podílí na usnadnění nádorového růstu. Cytokiny jsou v iničiálních fázích karcinogeneze produkovány převážně imunitními nebo zánětem modifikovanými buňkami. Skrze aktivaci transkripčních faktorů působí na premaligní buňky (převážně myeloidní progenitorové a zralé myeloidní), tím je stimulují k expresi genů zajišťujících zvýšenou proliferační aktivitu a přežívání buněk postižené tkáně. Tento mechanismus promoce nádorového bujení je v rámci vlivu

cytokinů nejčastější. Jeden druh cytokinu povětšinou aktivuje vícero transkripčních faktorů, při fyziologickém průběhu je cytokinová aktivita negativně zpětnovazebně regulována právě aktivovanými transkripčními faktory. Při maligním procesu se tato zpětná vazba ztrácí a dochází k trvalé stimulaci maligního růstu cytokiny produkovanými nádorovým mikroprostředím. Nejčastějšími molekulami ovlivňující nádorový růst jsou IL-1, IL-6, IL-23, TNF- α . Celý koloběh může být navíc potencován vlivem chemokinů, vedlejších produktů aktivace transkripčních faktorů. Chemokiny nadále z krevního řečiště rekrutují imunitní buňky, které se tak stávají součástí nádorového mikroprostředí, tím se celá spirála kancerogeneze roztáčí na vyšší otáčky [97].

Více specifické cytokiny, kam řadíme G-CSF, GM-CSF, M-CSF, SCF (Stem Cell Factor = KIT ligand), VEGF a IL-3, podporují myelopoézu a částečně se podílí na inhibici zrání myeloidních buněk. Prozánětlivé, od tumoru odvozené solubilní faktory jako IL-1 β , IL-6 a TGF β a dále také cytokiny produkované aktivovanými T-buňkami (INF γ , IL-4) iniciují imunosupresivní signální dráhy a podněcují diferenciaci MDSC v imunosupresivní makrofágy nebo v dendritické buňky [102].

Cytokinová signální síť se proto přímo nabízí být propojovacím článkem mezi lokální a systémovou zánětlivou odpovědí v rámci maligního procesu. Skrze cytokiny pravděpodobně dochází k rozvoji celkových nespecifických příznaků, které pozorujeme u celé řady onkologických pacientů (kachexie, únava, nechutenství, subfebrilie a další). Obdobný vliv může tato signální síť mít i na hodnoty krevních parametrů před a poté i v průběhu onkologické terapie. Konkrétním silným kandidátem na toto místo je například IL-6, multifunkční prozánětlivý cytokin, produkovaný převážně makrofágy, jeho zvýšená aktivita koreluje s výrazně vyšší infiltrací tumorové tkáně makrofágy v kontrastu s absencí ostatních zánětlivých buněk [103]. Dále byl pozorován vzájemný vztah mezi krevní koncentrací cytokinů a hodnotami různých prognostických skórovacích systémů (GPS, NLR) [102].

5.2.7 Proteiny akutní fáze

Proteiny akutní fáze nám poskytují relativně dobrý obraz o stupni a závažnosti probíhajícího systémového zánětu. Jedná se bílkoviny přítomné v krevní plazmě, jejichž

koncentrace se v důsledku systémové zánětlivé odpovědi výrazně mění. Jak jsme si již popsali, jsou maligní onemocnění a zánětlivá odpověď neodmyslitelně spjata do vyššího funkčního celku. Z toho vyplývá skutečnost, že u některých molekul akutní fáze kromě možnosti monitorace probíhajícího zánětu byla prokázána i schopnost predikce závažnosti a průběhu maligního onemocnění. Typickými zástupci této skupiny látek jsou plazmatické proteiny jako albumin, α_1 kyselý glykoprotein, α_1 antitrypsin, amyloid A, složky komplementu (zejména C3 a C4), haptoglobin a fibrinogen, prokalcitonin a v neposlední řadě C-reaktivní protein (CRP). Většina proteinů je syntetizována játry a v důsledku působení zánětlivých cytokinů intenzita jejich produkce stoupá a tím stoupá i měřitelná plazmatická koncentrace. Příkladem může být právě CRP, jenž se uvolňuje z hepatocytů po působení IL-6 [104]. U CRP byla popsána jeho prognostická schopnost u rozvinutého maligního onemocnění [105]. Zajímavostí však je, že tato molekula může být použita i v diagnostice některých typů časných rakovinných stádií, kdy ještě není plně rozvinut klinický obraz choroby [106], dále také jako ukazatel zvýšeného rizika rozvoje maligního bujení [107]. Velký potenciál proteinů akutní fáze v oblasti prognózy a predikce odpovědi tumorů se skrývá hlavně v možnosti kombinovat měření plazmatické koncentrace různých molekul, případně kombinovat s naměřenými hladinami krevních buněk. Tyto získané hodnoty můžeme sumarizovat do prognostických skórovacích systémů, v běžné klinické praxi je nejvíce rozvinutým, na zánětlivých parametrech založený „Glasgowský skórovací systém“ a jeho modifikace [108-110].

5.3 Hematologické parametry – prediktor léčebné odpovědi

5.3.1 Anémie

Anemie je obvykle chápána jako nepříznivý prognostický faktor nejen u nádorů konečníku [111], ale u naprosté většiny onkologických onemocnění [112]. Jedná se o stav, kdy klesne koncentrace hladiny hemoglobinu v krevním oběhu pod 120 g/l u žen a 130 g/l u mužů (dle WHO). Tento jev je spojován s přítomností agresivnějších forem nádorů a taktéž s vyšší radiorezistencí vůči ionizujícímu záření [71]. U nádorů gastrointestinálního traktu byl dlouhodobě přijímán fakt, že anemizace je důsledek chronických krevních ztrát

z nádoru před jeho diagnostikováním. Anemičtí pacienti jsou však početně nalézáni i v souborech negastrointestinálních maligních tumorů. Nejlépe je tato problematika prozkoumána v oblasti nádorů hlavy a krku [113] a cervikálního karcinomu [114]. V současnosti je anémie asociovaná s maligním onemocněním chápána spíše jako vedlejší projev interakcí mezi nádorem a imunitním systémem hostitele (chemické a vzájemné buněčné interakce), případně jako multifaktoriální záležitost, kde chronické krvácení hraje spíše minoritní roli. Obdobně je to i u ostatních krevních parametrů, které jsou zmíněny v následujících kapitolách. S vysokou pravděpodobností se tedy jedná o jev paraneoplastický, jehož výhodou je snadná detekovatelnost z periferní krve a věrohodnost informace o aktuálním nastavení SIR (protumorogenní nebo antitumorogenní).

Vliv anemie na horší nádorovou odpověď v rámci chemoradioterapie je historicky připisován nižší oxygenaci tumorové tkáně, která vede ke zvýšené angiogenezi a formování mutovaných buněčných linií s vyšší odolností k hypooxygenaci. U anemických pacientů byla prokázána vysoká hladina cirkulujících angiogenní faktorů [115]. V hypooxygenované tkáni je předpokládán i nižší účinek radioterapie [116], která působí převážně nepřímo skrze tvorbu volných kyslíkových radikálů [117]. Odhaduje se, že až u 30 % pacientů s karcinomem konečníku je před zahájením terapie pro maligní onemocnění anémie diagnostikována [118], ta následně negativně ovlivňuje téměř všechny léčebné parametry jako nádorovou odpověď ve smyslu downstagingu [71, 119-121], pravděpodobnost lokoregionální kontroly [111, 120], délku DFS [122] i OS [123]. Zvýšená neoangiogeneze potencovaná chronickou hypoxií může být jednou z příčin systémového selhání terapie a diseminace maligního procesu. Rozvoj chirurgických technik v léčbě CRC je doprovázen paralelním rozvojem technik radioterapie, na počátku nového tisíciletí se chemoradioterapie stává nedílnou součástí předoperační léčby. Je popsáno, že u zhruba 20 % nemocných dochází po neoadjuvantní chemoradioterapii k navození pCR. Tato skupina pacientů má dlouhodobě výrazně lepší prognózu. Začínají se proto objevovat odborné publikace, které se snaží nalézt prediktivní faktor pro pCR. Vzhledem ke znalosti potřeby dobré oxygenace tkání pro účinnost radioterapie, se jako nejlépe dostupným parametrem jeví vstupní hladina hemoglobinu. Tento princip je extrapolován z jiných onkologických diagnóz. V roce 2005 vychází Boxeho práce zkoumající vliv vstupní hladiny hemoglobinu u 100 pacientů léčených pro rektální

karcinom neoadjuvantní chemoradioterapií. Výsledkem je, že neanemičtí pacienti mají popsanou výrazně lepší nádorovou odpověď než pacienti s přítomnou anémií. Ve skupině anemických pacientů je výrazně vyšší zastoupení pokročilých klinických stádií tumoru, stejně tak mají neanemičtí menší riziko lokální recidivy a signifikantně delší OS [122]. V roce 2007 následuje korejská studie, v této práci je zahrnut větší počet zkoumaných subjektů (351 pacientů), a zabývá se různými dalšími prediktivními faktory (hladina CEA, TNM staging, hemoglobin). Z multivariační analýzy poté vyplývá, že vstupní hladina hemoglobinu (hraniční hodnota 12.5 g/dL) je nezávislý prediktivní faktor pro downstaging nádoru [119]. Další publikace na dané téma na sebe nenechávají dlouho čekat, následuje německá studie na 94 pacientech, která prokazuje negativní dopad nižších hladin hemoglobinu (hraniční hodnota 12 g/dL) na medián OS a lokální kontrolu [111]. Další vědeckou prací, která definitivně potvrzuje domněnku, že přítomnost anémie má významný vliv na nádorovou odpověď, je Leeova práce z roku 2009, která se opírá o robustní soubor 490 pacientů. U skupiny pacientů s iniciační hladinou hemoglobinu pod 9 g/dL je pozorována výrazně horší odpověď tumoru na chemoradioterapii. Jako druhotný výstup tato vědecká práce uvádí, že korekce anémie pomocí krevních transfuzí před nebo v průběhu vlastní terapie, žádným významným způsobem neovlivní nádorovou odpověď [71]. K obdobným závěrům postupně docházejí i další autoři [120, 124-127] a anémie se tak postupně zařazuje mezi významné negativní prediktivní faktory pro nádorovou odpověď po aplikované chemoradioterapii.

5.3.2 Trombocytóza

Změny v počtu krevních destiček spadají také do obrazu změn indukovaných nádorovým růstem. Trombocytóza je pozorována až u 57% onkologických pacientů [128] a její spojení s nádorovým růstem bylo prvně popsáno již v roce 1872, v současné době je chápána jako znak horší prognózy a je nalézána u celého spektra malignit [129]. Trombocytóza vzniká v důsledku interakcí nádorových buněk, endotelových buněk kostní dřeně a megakaryocytů, mediátory interakcí jsou hlavně IL-1, IL-6 GM-CSF, G-CSF produkované přímo buňkami tumoru nebo nepřímo buňkami hostitelského imunitního systému [128].

Svou funkcí jsou trombocyty tradičně řazeny mezi buňky hemostatického systému, jejich význam je však v těle složitější a různorodější a sahá daleko za tuto funkci. Pro trombocyty je charakteristická možnost komplexních buněčných změn začínajících u prostorových (tvarových) transformací buňky, dále se jedná o vlastní produkci proteinů, uvolňovací funkci proteinů a metabolitů uložených v nitrobuněčných granulích, parakrinní regulaci a v neposlední řadě i vzájemné buněčné interakce. Většina těchto změn je vázána na aktivaci a agregaci destiček po stimulaci variabilními signály. Buněčná membrána obsahuje klasickou fosfolipidovou vrstvu a je kryta glykoproteiny a integriny, tyto složky jsou podstatné pro správně fungující, destičkami zprostředkovanou hemostázu (aktivace, adheze, agregace). Hlavními receptory jsou glykoprotein Ib-IX-V (účastní se vazby von Willebrandova faktoru), glykoprotein VI (pomáhá adhezi ke kolagenu), glykoprotein IIb-IIIa [130]. U těchto a mnohých dalších struktur byl prokázán vliv na nádorový růst, neoangiogenezi a metastazování. Jako příklad lze uvést receptor IIb/IIIa, který kromě tradiční role při vazbě fibrinogenu, může i přenášet signál vedoucí k uvolnění destičkových angiogenních faktorů [131]. Nádorové buňky mohou trombocyty aktivovat přímým kontaktem nebo skrze chemické mediátory jako adenosindifosfát, thrombin, thromboxan A2 nebo tumorem produkované proteinázy, při následném uvolnění obsahu trombocytů do peritumorálního prostoru lze předpokládat usnadnění prostupu nádorových buněk intravaskulárně (porušení bazální membrány) s následným metastazováním [132]. Aby mohlo dojít k porušení bazální membrány cév, je nutná spoluúčast proteolytických enzymů (gelatinázy, metaloproteinázy). Tyto enzymy mohou být uvolňovány z přímo z aktivovaných krevních destiček nebo nepřímo jako důsledek aktivační kaskády různých působků [133].

Dalším způsobem jak krevní destičky ovlivňují nádorové chování a vztah tumor-imunita je tzv. „destičkové mimikry“. Je známo, že trombocyty mají schopnost chránit nádor proti cytotoxickému působení NK buněk a TNF- α . Některé maligní buňky jsou navíc schopny uniknout aktivnímu imunologickému dohledu hostitele tím, že získají fenotyp podobný destičkám. Dosahují toho expresí receptorů a adhezivních molekul, které jsou nalézány i na povrchu trombocytů. Příkladem může být destičkový transformační faktor β , který má schopnost vyvolat downregulaci receptoru NKG2D na povrchu NK buněk a tedy přímo působí na protinádorovou aktivitu NK buněk [134].

Žádný nádorový růst nemůže dlouhodobě existovat bez intenzivní neoangioginivaze. Nádor bez schopnosti indukovat novotvorbu cév je schopen dosáhnout rozměru maximálně 2-3mm v průměru, větší nádory již nejsou schopny zajistit výživu buněk prostou difuzí látek z okolí [135]. Trombocyty byly identifikovány jako významný proangiogenní činitel, dle literatury obsahují na 30 proteinů účastnících se regulace angiogeneze, ale hlavně jsou největší zásobárnou VEGF v lidském těle. Odhaduje se, že více jak 80% cirkulujícího VEGF v séru pacientů s maligním nádorem pochází právě z trombocytů [136]. Za fyziologických podmínek slouží uvolňovaný VEGF k podpoře a usnadnění hojení v rámci zánětlivé reakce. Při tomto typu reakce je však uvolňování VEGF v rovnováze s uvolňováním antiangiogenních látek, které naopak brzdí nekontrolovanou novotvorbu krevních cév v pozdějších stádiích zánětu. V nádorovém mikroprostředí je tato vzájemná rovnováha výrazně narušena ve prospěch uvolňování VEGF [137]. Moderní protinádorová terapie u diseminovaného karcinomu konečníku bývá založena právě na užití látek působících na VEGF signální osu a tedy proti neoangiogenezi (např. bevacizumab, aflibercept).

O vlivu trombocytózy na léčebný výstup po neoadjuvantní chemoradioterapii karcinomu rekta lze v literatuře nalézt pouze velmi málo referencí. Tato oblast je poměrně dobře prozkoumána u jiných onkologických onemocnění. Aktuálně je známo, že trombocytóza negativně ovlivňuje prognózu u pacientů s nádory horní části gastrointestinálního traktu [138, 139], s malignitou vycházející z gynekologických orgánů [140-142], pacientů s plicními tumory [143] a mnohých dalších [144, 145]. V rámci kolorektálního karcinomu, byl tradičně jako první zkoumán vztah hladiny krevních destiček a léčebného výstupu u primárně operovaných pacientů. Tímto tématem se zabývala mexická práce publikovaná v roce 2012, skupina autorů zde na souboru 163 pacientů prokázala, že zvýšená hladina trombocytů (hraniční hodnota $350 \times 10^9/l$) je spojena se signifikantně kratším OS. Tento fakt byl nezávisle popsán při předoperačním i pooperačním výskytu trombocytózy. Závěr autorů je, že hladinu krevních destiček je nutno chápat jako výrazný a při tom snadno dostupný prognostický faktor u pacientů s karcinomem konečníku [146]. Studie byla následně v rámci stejného periodika kritizována pro jistou metodologickou nesoudržnost, nicméně ukázala směr výzkumu. V následujícím roce vychází vědecká publikace japonských autorů, která se již zabývá předoperační chemoradioterapií ve vztahu k hladině trombocytů. Tato studie na vzorku 101 pacientů prokazuje, že iniciační hladina PLT silně koreluje s nádorovou odpovědí na předoperační léčbu, s četností

výskytu pCR a co více, pacienti s iniciální trombocytózou (nad $365 \times 10^9/l$) mají signifikantně kratší interval přežití bez lokální recidivy. OS nebyl překvapivě trombocytózou ovlivněn, vysvětlením může být poměrně krátký medián sledování (22.5 měsíců) v době vydání publikace [147]. Prozatím posledním vědeckým počinem na dané téma je studie Kimova vědeckého týmu. Tato práce se opírá o robustní kohortu zkoumaných subjektů (314 pacientů), kteří byly postupně zařazováni v letech 2003 až 2011. U 22 % pacientů byla zaznamenána iniciální trombocytóza (hraniční hodnota $370 \times 10^9/l$). V multivariační analýze byla poté prokázána jako negativní, nezávislý prediktivní faktor pro navození pCR. Dále pacienti s předléčebnou trombocytózou měli kratší 3 letý DFS a hlavně kratší OS v porovnání s pacienty s normálním počtem krevních destiček [148]. Výše popsané ukazuje, že trombocytóza významně ovlivňuje jak odpověď tumoru na předoperační chemoradioterapii, tak i dlouhodobou prognózu přežití pacientů.

5.3.3 Vzájemný poměr neutrofilních granulocytů – lymfocytů (NLR)

Jak již bylo zmíněno v předešlých kapitolách, zánětlivé mikroprostředí hraje významnou roli v rozvoji a růstu nádorového bujení, změny a interakce na úrovni mikroprostředí se však mohou projevat i v systémové zánětlivé odpovědi [97]. Běžně užívané měřitelné parametry periferní krve, které charakterizují akutní zánětlivou odpověď, jsou zvýšené hladiny C-reaktivního proteinu, hypoalbuminémie, elevace zánětlivých cytokinů a zvýšený počet leukocytů, případně změny v relativních počtech subtypů leukocytů [68]. V posledním desetiletí byl úspěšně klinicky ověřen a implementován koncept měření vzájemného poměru neutrofilních granulocytů a celkového počtu lymfocytů, tzv. neutrophil-to-leukocyte ratio (NLR). NLR je nespecifický parametr, který může být ovlivňován různými vnějšími i vnitřními vlivy (infekce, medikace), jeho prognostická hodnota byla prokázána i u nenádorových onemocnění, příkladem je pankreatitida [149], ischemická choroba srdeční [150], septické stavy [151] a kritičtí nemocní pacienti [152, 153]. Tato veličina bývá měřena před zahájením primární léčby, ale může být monitorována i v průběhu vlastní terapie. NLR ukazuje na aktuální nastavení SIR ve smyslu protumorigenní nebo antitumorigenním. Byl prokázán výrazný vliv

elevovaného NLR na léčebný výstup u celé řady malignit a to bez ohledu na zvolený léčebný postup nebo pokročilost choroby [154]. Vstupní hodnota NLR je obecně považována za signifikantní prediktivní faktor pro parametry přežití (OS, DFS, PFS), tak i pro parametry vlastní nádorové odpovědi (pCR, SD, PR, PD). Tento vliv NLR byl pozorován u celého spektra maligních tumorů léčených různými modalitami [75], rovněž byl podrobně zkoumán i u kolorektálního karcinomu [155, 156].

Mechanismus vlivu změn hladin leukocytů na klinický výstup terapie je stále zahalen nejasnostmi a není dokonale prozkoumán, předpokládá se však výrazný efekt neutrofilie, respektive lymfocytózy. Neutrofilie je chápána jako projev zánětlivé odpovědi, která vede k útlumu protinádorové imunitní reakce, inhibuje cytotoxické působení aktivovaných T-lymfocytů, NK buněk a NKT buněk [157]. Pravým opakem je zvýšená hladina lymfocytů, která je projevem aktivní protinádorové imunity. Krevní hladiny leukocytů poté mohou být odrazem intenzity infiltrace tumorové tkáně těmito buňkami. Stěžejní role zvýšené lymfocytární infiltrace tumorózní tkáně byla potvrzena řadou studií a je asociována lepší prognózou [158]. Při vzestupu hladiny NLR je popisována intenzivní infiltrace tumoru makrofágy a neutrofilními granulocyty, tyto buňky jsou schopné produkovat růstové faktory (včetně VEGF) a tím podporovat další růst nádoru a nepřímo tedy zhoršovat prognózu.

Historie intenzivního výzkumu vlivu NLR na léčebnou odpověď u kolorektálního karcinomu začíná v roce 2005, kdy se začínají objevovat první práce potvrzující prognostický význam. Výzkum v oblasti kolorektálního karcinomu není zaměřen pouze na jednu léčebnou modalitu, postupně je popsán signifikantní vliv vstupních hodnot NLR na léčebný výstup u primární operační léčby, paliativní chemoterapie [159], resekce jaterních metastáz [160] a v neposlední řadě i u neoadjuvantní chemoradioterapie. V současné době je NLR široce akceptován a jsou vedeny diskuze primárně o velikosti hraniční hodnoty, která určuje lepší nebo horší prognózu subjektu. Konzervativní studie nalézají hraniční hodnotu NLR v rozmezí 4-5, radikálnější studie poté v rozmezí 2-3 (nejčastěji je zmiňována hodnota 2.8) [155].

Nejprve v roce 2005 Walsh se svou skupinou prokazuje signifikantně horší přežívání pacientů po primární resekci kolorektálního karcinomu hodnoty NLR nad 5 [161]. Obdobné výsledky u primárně operovaných pacientů byly v následujících letech potvrzeny čínskou studií, tato studie však pracovala s výrazně nižší hraniční hodnotou NLR

(konkrétně 2) [162]. Následně v roce 2012 taiwanskou studií, která byla robustnější do počtu zařazených pacientů, neprokázala sice vliv vyšších hodnot NLR na celkové přežívání, ale zdokumentovala vliv hodnoty nad 3 na horší 5 leté DFS, tento vliv byl výraznější u karcinomu tračnicku, než u karcinomu konečnicku [163]. Další studie z roku 2012 zabývající se opět primárně resekovanými pacienty, prokázala korelaci hodnoty NLR nad 5 se zvýšeným rizikem jak pro lokoregionální recidivu, tak i systémovou diseminaci [164]. V následujících letech byly publikovány další práce prokazující prognostickou hodnotu parametru NLR na výstupy primární operační léčby kolorektálního karcinomu. Byl prokázán pozitivní vliv nízkých hodnot NLR na prodloužení OS [165-168].

Pro tuto práci jsou však podstatnější studie zkoumající vliv NLR na léčebnou odpověď po předoperační chemoradioterapii a to z pohledu intervalů přežití (OS, DFS), tak i z pohledu odpovědi tumoru na terapii (pCR). První prací na toto téma je Kitayamaova publikace z roku 2011, studie se nezabývá se přímo zkoumáním NLR, ale absolutním i relativním zastoupením lymfocytů v periferní krvi před zahájením chemoradioterapie, zvýšená hladina lymfocytů je poté asociována s vyšší četností navození pCR, delším OS i DFS [169]. Další vědecká práce sice již posuzovala přímý vliv NLR na OS, DFS a čas do lokální recidivy, tento nezávislý vliv potvrdila, nezabývala se však dopadem na vlastní nádorovou odpověď (downstaging) [72]. Efekt nízkých hladin NLR na downstaging byl nakonec potvrzen v izraelské studii na 140 pacientech, kdy bylo prokázáno, že hladina NLR pod 5 signifikantně zlepšuje nádorovou odpověď na neoadjuvantní léčbu a zároveň zvyšuje pravděpodobnost navození pCR [170]. Výrazné prodloužení OS i DFS bylo v následujících letech potvrzeno i dalšími autory. Nejprve Shen a jeho kolektiv popsal negativní prognostický vliv hladin NLR nad 2.8 na intervaly přežívání, neprokázal však signifikantní dopad na vlastní nádorovou odpověď [171]. Poté k obdobným závěrům dospěl Kimův autorský tým [172]. Jedinou studií s pouze negativním výsledkem, kdy se nepodařilo prokázat prediktivní význam zvýšené hodnoty NLR na nádorovou odpověď ani na přežití pacientů, zůstává brazilská studie z roku 2015. Nedostatkem této práce je relativně nízký počet zkoumaných pacientů [173].

V neposlední řadě byla oblast zkoumání NLR u kolorektálního karcinomu podrobena i meta-analytickému rozboru. Doposud byly publikovány dvě meta-analýzy na toto téma, kdy do zkoumání byly zařazeny různorodé studie. Vždy se jednalo o pacienty s nádorem tlustého střeva (tračnick nebo konečnick), léčebný záměr byl však rozdílný (primární

operace, chemoterapie, chemoradioterapie). Závěr těchto meta-analýz je, že vstupně zvýšená hladina NLR představuje nezávislý negativní prediktivní faktor pro OS i PFS (DFS) [155, 156]. Z výše popsaného vyplývá, že aktuálně máme dostatečně silné důkazy k zařazení parametru NLR mezi vstupní prediktivní faktory OS a PFS u kolorektálního karcinomu, bez ohledu na primární léčebný záměr. Zvýšená hladina NLR negativně ovlivňuje délku přežívání pacientů. Co prozatím zůstává nezodpovězeno, je vliv NLR na nádorovou odpověď po neoadjuvantní chemoradioterapii, z publikovaných studií máme prozatím rozporuplné informace o korelaci hladin NLR i intenzitě downstagingu.

5.3.4 Vzájemný poměr trombocytů – lymfocytů (PLR)

Vzájemný poměr hladin destiček a lymfocytů se aktuálně (z hlediska medicíny založené na důkazech) zdá být nejslabším z hematologických faktorů ovlivňujících léčebný výstup karcinomu konečníku. Dle dostupných vědeckých dat se jedná o parametr, jehož význam je v oblasti tumorů dolní části gastrointestinálního traktu stále velice kontroverzní. Publikovaná data naznačují, že by se mohlo jednat o veličinu s vlivem na nádorovou odpověď i celkovou prognózu. Je však nezpochybnitelným faktem, že v medicínských databázích lze nalézt pouze malé množství prací zabývajících se touto problematikou u pacientů léčených neoadjuvantní chemoradioterapií pro rektální karcinom. Další negativní skutečností je, že hodnota PLR povětšinou nebyla v těchto studiích zkoumána jako primární cíl, ale jednalo se o druhotný výstup z celkových výsledků.

V roce 2014 byla čínskou pracovní skupinou publikována meta-analytická studie, která zjišťovala dopad předléčebné hodnoty PLR na OS. Celkově bylo do analýzy zařazeno 26 předchozích publikací posuzujících různé typy malignit a různé typy léčby. V hlavním závěru bylo řečeno, že elevovaná hladina PLR může predikovat horší terapeutický výstup pro OS v kombinaci s HR 1.60 (95% CI: 1.35–1.90, $P < 0.001$) pro maligní nádorová onemocnění obecně [174]. Obdobných výsledků se poté dobrala další meta-analýza publikovaná v ten samý rok na to samé téma. U hodnot PLR nad 185 byl zaznamenán kratší OS [154]. V následujících letech se objevují další meta-analýzy již zaměřené na hladiny PLR u konkrétních typů malignit. Je tak postupně prokázán negativní vliv

vysokých hladin PLR na OS u tumorů žaludku [175], tumoru jícnu a nemalobuněčných nádorů plic [176-179].

U pacientů s kolorektálním karcinomem se problematikou PLR zabývala korejská studie z roku 2012, která na vzorku 200 primárně operovaných pacientů posuzovala vztah NLR, PLR a prognózy. PLR byl identifikován jako nezávislý prognostický faktor pro OS. Vstupní hodnoty PLR nad 300 výrazně zkracují OS [165]. O rok později byly parametry NLR i PLR identifikovány jako signifikantní prognostický faktor pro OS i u pacientů s generalizovaným nádorem tlustého střeva léčených systémovou terapií, predikce léčebné odpovědi na podkladě hodnoty PLR však nebyla potvrzena [180]. Jedinou studií, která primárně studovala vztah PLR (spolu s NLR a PLT), prognózy a nádorové odpovědi, byla japonská studie z roku 2015 na kohortě 89 pacientů odléčených neoadjuvantní chemoradioterapií s následnou TME operací. Zvýšené vstupní hodnoty PLR byly asociovány se signifikantně horším OS, signifikantní vliv PLR na nádorovou odpověď (downstaging) nebyl pozorován [181].

Hodnota PLR v oblasti kolorektálního karcinomu vyžaduje další vědecké bádání, dostupné studie naznačují, že ji lze zařadit mezi prognostické faktory, kdy zvýšená hladina negativně ovlivňuje délku OS. Možnost využití PLR, jako prediktivního faktoru pro odhad nádorové odpovědi na předoperační léčbu, nebyla prozatím potvrzena.

5.4 Léky modifikující zánětlivou odpověď

Zánětlivá odpověď organismu a vlastní proces maligního růstu jsou pevně a neoddělitelně spjati na všech úrovních kancerogeneze. Spojení nalézáme již od prvotních změn ve zdravých tkáních, přes vznik neinvazivního a následně invazivního nádoru, dále pak i u progresu a metastazování nádorových buněk. Jak jsme si již ukázali, prognóza pacientů a úspěšnost protinádorové terapie z velké míry záleží i na aktuálním stavu imunitní odpovědi hostitele ve smyslu protumorozní nebo antitumorozní. V moderní medicíně máme celou řadu medikamentů, které se přímo či nepřímo využívají k modifikování zánětlivé odpovědi (lokální i systémové). Nabízí se tedy otázka, zda je možné tyto léky využít jako součást terapie nebo prevence nádorových onemocnění. A na tuto problematiku se zaměříme v následující podkapitole.

5.4.1 Nesteroidní antiflogistika

Nesteroidní antiflogistika (NSAID) jsou skupinou látek využívanou pro své protizánětlivé vlastnosti již řadu desetiletí. Princip působení je založen na inhibici aktivity enzymu cyklogenoxygenázy (COX). COX reprezentuje dvojice izoenzymů (COX-1 a COX-2). COX-1 se účastní převážně syntézy nezáánětlivých prostaglandinů a tromboxanu A₂. COX-2 se podílí na produkci záánětlivých prostaglandinů a prostacyklinů.

Produkty COX-1 se uplatňují v různých fyziologických funkcích, jako jsou ochrana žaludeční sliznice před působením kyselého prostředí, zvyšování krevního průtoku v ledvinách, vylučování sodíkových kationtů a tonizace dělohy v průběhu porodu. Dalším významným produktem COX-1 tromboxan A₂ (TXA₂) z aktivovaných destiček, TXA₂ zvyšuje adhezivitu destiček a indukuje vazokonstrikci, čímž se uplatňuje v hemostatické funkci trombocytů. Naopak produkty COX-2 se uplatňují hlavně v záánětlivých procesech. Působení produkovaných prostaglandinů a prostacyklinů podněcuje tvorbu záánětlivého mikroprostředí, zvyšuje citlivost nociceptorů, zvyšuje bazální teplotu organismu a celkově se podílí na průběhu lokální i systémové záánětlivé odpovědi [182].

Z hlediska působení rozlišujeme dvě skupiny NSAID. První jsou neselektivní NSAID, které inhibují jak COX-1 tak COX-2 a mají širší spektrum nežádoucích účinků, dané hlavně inhibicí protektivních prostaglandinů ve sliznici zažívacího traktu. Typickými zástupci jsou aspirin, ibuprofen, naproxen, indometacin a jejich deriváty. Druhou skupinou představují COX-2 selektivní inhibitory, které ze své podstaty tlumí záánětlivé projevy. Sem patří tzv. koxiby (celecoxib, rofecoxib, etoricoxib) a dále sem můžeme řadit i COX-2 preferenční molekuly (s malým efektem na COX-1) jako je nimesulid.

Myšlenka na využití NSAID v léčbě CRC vzešla z pozorování pacientů s familiární adenomatozní polypózou. U skupiny pacientů, kteří dlouhodobě užívali NSAID, došlo ke snížení počtu střevních polypů. Obdobný protektivní efekt byl pozorován i u pacientů s Lynchovým syndromem [183]. Na podkladě epidemiologických studií byl dokázán protektivní vliv dlouhodobého užívání NSAID (10 let a více) i na incidenci sporadického kolorektálního karcinomu [184].

Efekt NSAID je ve větší míře přisuzován inhibici funkce COX, v menší míře poté na COX nezáánětlivých pochodech. U pacientů s CRC bylo po zahájení terapie NSAID

pozorováno zvýšení apoptotické aktivity v nádorové tkáni, snížení proliferační aktivity, menší míra neoangiogeneze a nižší metastatický potenciál buněk. Popsána byla také lepší diferenciaci nádorových buněk pod vlivem NSAID, snížení tkáňového poolu pluripotentních kmenových buněk, downregulace genů zajišťujících vyšší metabolický obrat potřebný pro nádorový růst a také genů zvyšujících odolnosti vůči oxidativnímu stresu [185, 186].

Na COX-2 závislé účinky NSAID vychází z předpokladu poklesu koncentrace prostaglandinu E2 (PGE2), u kterého byly popsány protumorigenní a imunosupresivní efekty. Zvýšená koncentrace PGE2 v nádorové tkáni může zvyšovat i chemorezistenci a radiorezistenci a tím zhoršovat léčebný výstup. Zvýšená exprese COX-2 je nalézána především v nádorech distální části tračnicku a také konečníku [187]. Dalším účinným mechanismem, který oslabuje aktivitu tumoru je inhibice COX-1, kdy sníženou tvorbou TXA₂ dochází k inhibici destičkových funkcí a jejich aktivace. Důsledkem je usnadnění imunologického dohledu a snížení rizika hematologického rozsevu nádoru [188]. Na COX nezávislé efekty NSAID se uskutečňují především působením přímo na transkripční faktory a jejich signální dráhy (NF-κB, PI3K, PKB) [189].

Z pohledu vlastní zánětlivé odpovědi se NSAID mohou uplatňovat jak na lokální tak i systémové úrovni. U lokální odpovědi hraje významnou roli již zmiňovaný PGE2 a inhibice jeho syntézy. Nicméně dalším důležitým jevem je zvyšování exprese molekul MHC-II na povrchu nádorových buněk, tím dochází k zefektivnění protinádorové imunity zprostředkované cytotoxickými lymfocyty. V tumorózní tkáni dochází ke zvýšení počtu aktivovaných T-lymfocytů a naopak k poklesu počtu imunosupresivních Tregs [190]. Na systémové úrovni se předpokládá oslabení imunosupresivního působení nádorových cytokinů na lymfocyty a NK-buňky, což se projevuje poklesem plazmatické koncentrace proteinů a cytokinů akutní fáze (CRP, IL-6, TNFα). Sekundárním jevem je zlepšení metabolických funkcí a výživového stavu pacientů [191].

5.4.2 Statiny

Statiny jsou léky primárně užívané k léčbě hypercholesterolemie. Jejich podstatou jsou látky kompetitivně inhibující aktivitu 3-hydroxy-3-metylglutaryl koenzym A reduktázy

(MGH-CoA), tedy enzymu katalyzujícího krucální krok v syntéze cholesterolu, přeměnu HMG-CoA na mevalonát. Jeho inhibicí je omezena intrahepatální syntéza cholesterolu. Statiny však mají celou řadu pleiotropních účinků, upravují dysfunkci endotelových buněk, snižují obsah srážlivých faktorů a zvyšují účinnost trombolytických mechanismů, ovlivňují funkci destiček, makrofágů a monocytů, mají protizánětlivé účinky a stabilizují aterosklerotické pláty. Vlivem statinů je v plazmě snižována koncentrace C-reaktivního proteinu a prozánětlivých cytokinů, dochází i k poklesu exprese membránových adhezivních molekul MHC-II. Naopak stoupá aktivita tkáňového aktivátoru plazminogenu (tPA) a exprese eNOS (endotelové NO syntázy) [192]. U některých typů malignit byla pozorována redukce rizika vzniku rakovinného bujení při dlouhodobém užívání statinů, tento jev však nebyl meta-analytickým rozbořem u CRC potvrzen [193].

Mevalonát jako konečný produkt MGH-CoA reduktázy je nezbytný pro aktivaci signální kaskády RAS a pro transdukcii signálu do buněčného jádra. Inhibice syntézy mevalonátu se jako pleotropní efekt projevuje ve snížení buněčné proliferace, zvýšené indukci apoptózy, inhibici neoangiogeneze, metastazování a zvýšené citlivosti nádorových buněk na oxidační stres [194, 195]. Dalším efektem je protizánětlivé působení dané snižováním koncentrace prozánětlivých cytokinů a imunomodulační efekt skřze aktivaci T-lymfocytů a overexpresi MHC-II [196].

Účinnost statinů v terapii nebo prevenci CRC je prozatím podložena slabými důkazy a je nutné ji podrobit intenzivnímu vědeckému výzkumu.

5.4.3 Antagonisté histaminového receptoru 2 (H2RA)

Jsou léky běžně užívané k terapii gastropatií, především sekundárních peptických vředů, dále symptomatického gastroesofageální refluxu a gastropatií při dlouhodobém užívání NSAID nebo glukokortikoidů. Mechanismus účinku je založen na blokádě histaminových H2 receptorů na parietálních buňkách žaludeční sliznice, tím dochází k poklesu sekrece kyseliny chlorovodíkové (bazální i stimulované). Historickým zástupcem této skupiny je cimetidin, který již není požíván v běžné praxi pro vysoké riziko nežádoucích účinků (gynekomastie, galaktorea) a lékových interakcí inhibicí cytochromu P450. Novějšími

molekulami jsou ranitidin a famotidin, jejichž antisekreční účinnost je několikanásobně vyšší než u cimetidinu a mají pouze omezený potenciál lékových interakcí.

U pacientů s nádory žaludku byl v klinických studiích pozorován benefit v přežití u podskupiny, která dlouhodobě užívala H2RA [197]. Preklinická data ukazují na možný přímý protinádorový efekt uplatňující se skrze inhibici funkce histaminu. Předpokladem je, že histamin působí jako autokrinní nebo parakrinní růstový faktor pro maligní buňky. Zvýšené koncentrace histaminu a histidin dekarboxylázy, klíčového enzymu pro syntézu histaminu, jsou běžně nalézány v buňkách CRC, opakem jsou normální koncentrace v buňkách zdravé sliznice [198]. Předpokládá se, že aktivita histaminu zvyšuje expresi COX2 a PGE2, stejně jako expresi VEGF. Zvýšená koncentrace histaminu je spojena s přítomností časného uzlinového postižení a metastazování. Blokádou histaminu je navozena inhibice adhezivních schopností maligních buněk a tím snížení jejich invazivního a metastatického potenciálu, histamin dokonce zlepšuje biologickou dostupnost aplikovaného 5-fluorouracilu [199, 200]. V rámci lokální zánětlivé odpovědi je aktivací H2 receptoru na Tregs buňkách navozen imunopresivní efekt pro buňkami zprostředkovanou protinádorovou imunitu. To je v kontrastu s intenzivnější infiltrací nádorové tkáně aktivovaným T-lymfocyty (CD 3+) při užívání H2RA [201].

Stejně tak je histaminem oslabována i systémová zánětlivá odpověď. Pomocí H2RA je tento jev vyrušen a dochází k obnově koncentrací a aktivity cirkulujících T-lymfocytů a NK buněk. Tento jev je regulován pravděpodobně skrze IL-2 a INF γ [202].

5.4.4 Anti-VEGF terapie

Inhibitory VEGF signální dráhy (bevacizumab, aflibercept) jsou v současnosti dobře etablovány do terapeutického procesu metastatického kolorektálního karcinomu. Aplikují se v kombinaci s klasickými chemoterapeutiky nebo samostatně a jsou primárně využívány pro jejich antiangiogenní účinek, čímž dochází k omezení novotvorby nádorových cév, omezení nádorového růstu a metastazování [203-205]. Méně známý je však imunomodulační efekt bevacizumab (Anti VEGF-A monoklonální protilátky). Tento jev spočívá ve schopnosti VEGF blokovat diferenciaci dendritických buněk v tumorózní tkáni, tím výrazně omezuje jejich antigen-prezentující funkci a vyvolává

tak jakési nádorové mimikry, kdy se nádorové antigeny stávají neviditelnými pro efektorové imunitní buňky [206]. VEGF působí na nezralé dendritické buňky primárně přes receptor VEGFR1 a dráhu transkripčního faktoru NF- κ B. Místo zralých dendritických buněk, které jsou nezbytné pro správné fungování buněčné protinádorové imunity, dochází v nádorovém mikroprostředí ke kumulaci nezralých MDSC, které jsou naopak charakteristické svým silným imunosupresivním účinkem na protinádorovou imunitu [207]. Přes receptor VEGFR2 se uplatňuje imunosupresivní efekt i na již zralé dendritické buňky, kdy VEGF působí jako silný inhibitor antigen-prezentující funkce [208]. Klinické nálezy naznačují, že blokáda VEGF signální dráhy může zlepšit léčebný klinický výstup skrze zlepšení funkce a činnosti dendritických buněk [209].

5.4.5 Anti-EGFR terapie

Obdobně jako anti-VEGF terapie je v rámci terapie kolorektálního karcinomu využívána i cílená léčba zaměřená na rodinu receptorů pro epidermální růstové faktory (EGFR) a jejich signální kaskádu. V současné době jsou v terapii aplikovány dvě protilátky proti EGFR, cetuximab a panitumumab. Obě molekuly působí v těle hostitele obdobně, mají téměř stejné spektrum nežádoucích účinků a i velmi podobnou účinnost [210]. Z našeho pohledu je zajímavá molekula cetuximab. U této látky bylo popsáno nejen přímé působení na nádorové buňky, ale také schopnost vyvolat fenomén, který se nazývá imunogenická buněčná smrt. U panitumumabu je tento efekt výrazně slabší [211]. Cetuximab je chimérická humanizovaná protilátka, kdy vazebná anti-EGFR část je získána z myší protilátky a spojena s lidskými IgG1 lehkými a těžkými řetězci. Toto je také hlavní rozdíl proti panitumumabu, který je plně humánní protilátkou. Vazba na extracelulární receptorovou doménu vede ke kompetitivní inhibici receptorové funkce, downregulaci membránového receptoru jeho dimerizací a internalizací a ve svém důsledku k inhibici přenosu růstového signálu do jádra buňky (signálních dráhy MAPK, PI3K/AKT, JAK). Cetuximab má asi dvakrát vyšší afinitu k EGFR-1 než přirozené ligandy (EGF, TGF α) [212]. Hlavní imunogenický efekt cetuximabu je připisován aktivaci na protilátkách závislé, buňkami zprostředkované imunitní odpovědi. Jedná se o stav, kdy se anti-EGFR protilátky navázané na EGFR nádorových buněk stávají antigenními strukturami pro dendritické

buňky, dendritické buňky prezentují antigen cytotoxickým T-lymfocytům. Vazebný receptor Fc-gamma lokalizovaný na anti-EGFR protilátkách se tak stává cílovou strukturou pro cytotoxické T-lymfocyty, při jejich adhezi na povrch nádorové buňky dochází k cytolytickému působení a následnému rozpadu nádorové buňky [212]. Dalšími popisovanými imunogenickými mechanismy působení anti-EGFR terapie jsou komplementem zprostředkovaná cytotoxicita [213] a adaptivní imunita na podkladě CD8+ cytotoxický T-lymfocytů [214].

5.4.6 Nespecifická a specifická imunoterapie

Imunoterapie (včetně vakcinace) není v současnosti běžně aplikována rámci klinické praxe při léčbě CRC hlavně pro nedostatek validních vědeckých důkazů. Téma je lépe prozkoumáno v jiných oblastech onkologie, například při terapii karcinomu močového měchýře, karcinomu prostaty, maligního melanomu a karcinomu ledviny. O nespecifické imunoterapii u CRC bylo v minulosti publikováno několik studií fáze II naznačujících možný prospěch pacientů při aplikaci imunostimulačních molekul GM-CSF, interleukinu nebo interferonu, které vedou k posílení protinádorové nespecifické imunity, silné důkazy ze studií třetí fáze však chybí. Podobně lze uvažovat i aplikaci molekul inhibujících imunosupresivní mechanismy (inhibice Tregs, anti-PDL1, anti-CTLA4) [78]. Více vědeckých prací u CRC je publikováno o stimulaci specifické imunity, kdy jsou hledány různé druhy vakcín proti specifickým antigenním strukturám, jako jsou CEA, β hCG, RAS peptid, glykoprotein 1, MSI, HER2/neu. Výsledky těchto postupů jsou však dosti protichůdné a jedná se převážně o studie první a druhé fáze klinického zkoušení. Do skupiny imunoterapie řadíme též aplikace in-vitro antigenně stimulovaných autologních buněk vlastního imunitního systému nebo atenuovaných nádorových buněk. Velké naděje se vkládají převážně do aplikace dendritických buněk. DC jsou separovány z krevního oběhu, in-vitro aktivovány nádorovými antigeny a následně vpraveny zpět do těla. Obdobným způsobem lze připravit vakcínu obsahující aktivované T-lymfocyty. Rozdíl spočívá v extrakci lymfocytů, kdy se využívají převážně TIL [78].

6. Metody a soubor nemocných

6.1 Charakteristiky souboru pacientů

Nábor pacientů do této studie probíhal mezi lednem 2009 a lednem 2015, celkově bylo zařazeno 173 pacientů s lokálně pokročilým karcinomem konečníku, jednalo se o 120 mužů a 53 žen. U všech pacientů byl typ nádoru ověřen histopatologickým vyšetřením, vždy se jednalo o adenokarcinom konečníku s různým stupněm diferenciací (dle WHO morfologické klasifikace 8140/3). Pacienti byli vždy léčeni v plném souladu s aktuálně platným doporučeným postupem terapie užívaným v rámci Fakultní nemocnice Hradec Králové pro komplexní léčbu karcinomu konečníku, tedy primární neoadjuvantní chemoradioterapií, následným operačním výkonem typu TME a případnou adjuvantní chemoterapií. Doporučený léčebný postup pro chemoradioterapii vychází vždy z platných Národních radiologických standardů a doporučení evropské (ESTRO) a americké (ASTRO) společnosti pro radiační onkologii. Statistická analýza souboru a zpracování získaných dat bylo provedeno k cílovému datu 26. 7. 2015.

Všichni zařazení pacienti byli v dobrém celkovém stavu hodnoceným dle PS WHO (PS 0-1), věk pacientů se pohyboval v rozmezí 35-80 let (průměr 62.8 let, medián 63.5 let +/- standardní odchylka 8.84), u všech pacientů byla souborem standardních stagingových vyšetření vyloučena přítomnost vzdálených metastáz. Předléčebný diagnostický proces k určení klinického stádia choroby (cT stádium, cN stádium), byl založen na fyzikálním klinickém vyšetření per rektum, endoskopickém vyšetření s histopatologickým rozbohem tumorózní tkáně, endosonografickém transtrektálním vyšetření, vyšetření pánve magnetickou rezonancí (MRI) a vyšetření trupu počítačovou tomografií (CT). U některých pacientů, zvláště v prvních letech náboru, bylo CT hrudníku nahrazeno prostým zadopředním rentgenovým snímkem. Obyčejný rentgenový snímek však může být insuficientní v detekci drobnoložiskového metastatického postižení plic, proto je v současné době plně nahrazen CT vyšetřením. Zastoupení klinických T-stádií v souboru bylo pozorováno v poměru cT1 0x (0%), cT2 4x (2.3%), cT3 143x (82.7%), cT4 26x (15.0%). Klinická N-stádia byla v souboru

zastoupena v poměru cN0 15x (8.7%), cN1 49x (28.3%), cN2 109x (63.0%). Poměr zastoupení plně odpovídá klinické praxi, kdy jsou k předoperační chemoradioterapii indikováni pacienti s tumorem stádia cT3 a výše nebo pacienti s detekovaným uzlinovým postižením. Hodnocení gradingu (z diagnostické biopsie) tumoru odpovídalo 13x (7.6%) grade 1, 129x (75.0%) grade 2 a 30x (17.4%) grade 3. Nádor byl nejčastěji lokalizován v oblasti distálního konečníku 77x (44.8%), méně v oblasti středního konečníku 64x (37.2%) a nejméně často v proximálního konečníku 31x (18.0%).

U všech pacientů byly zaznamenány vstupní hodnoty krevních parametrů, jednalo se o odběr krevního obrazu a diferenciální rozpočet leukocytů (automatický analyzátor). Hodnota NLR byla vypočtena jako poměr absolutní hodnoty koncentrace neutrofilních granulocytů k absolutní hodnotě koncentrace lymfocytů z daného krevního odběru. Hodnota PLR byla vypočítána jako poměr absolutní hodnoty koncentrace trombocytů k absolutní hodnotě koncentrace lymfocytů z daného krevního odběru. Odběry byly prováděny vždy v časovém intervalu maximálně sedmi dnů před zahájením neoadjuvantní chemoradioterapie. Detailní charakteristiky souboru pacientů a charakteristiky nádorů včetně jejich vlivu na celkové přežití a přežití bez nemoci jsou shrnuty v tabulce 3.

6.2 Léčba

Předoperační chemoradioterapie se zakládala na radioterapii zevním svazkem záření, požadovaná ložisková dávka 45Gy na objem pánve (CTV 1) byla aplikována ve 25 frakcích (dávka záření na jednu frakci 1.8Gy). Léčba proběhla v průběhu pěti týdnů, ozařování se provádělo vždy od pondělí až pátku s víkendovými přestávkami. Po ukončení radioterapie na oblast pánve byla navýšena ložisková dávka na oblast nádoru (CTV 2) technikou zmenšování polí o 5.4Gy ve 3 frakcích. Celkově tedy všichni pacienti obdrželi ložiskovou dávku 50.4Gy ve 28 frakcích.

U všech pacientů byla užitá jedna ze dvou technik ozařování, buď trojrozměrná konformní radioterapie (3D-CRT) nebo radioterapie s modulovanou intenzitou svazku (IMRT). 3D-CRT technika obnášela využití tří (dvě bočné, jedno zadopřední) nebo čtyř ozařovacích polí (BOX technika - dvě bočné, jedno zadopřední, jedno předozadní).

Při IMRT technice bylo standardně užito 5-7 ozařovacích polí, počet polí se řídil výslednou dávkovou distribucí. Vždy bylo požadováno dosažení dávkové maxima uvnitř objemu PTV1 respektive PTV2 a zároveň 95% cílového objemu muselo být pokryto alespoň 95% předepsané ložiskové dávky. Dávkové maximum u IMRT techniky bylo na hranici 107% předepsané ložiskové dávky u 3D-CRT techniky na hranici 110%. K vlastnímu ozáření byl užit megavoltážní fotonový svazek (6 nebo 8 MeV) z lineárního urychlovače (Varian Medical Systems, Palo Alto, CA, USA). V průběhu radioterapie probíhala konkomitantní chemoterapie formou kontinuální infuze 5-fluorouracilu v dávce 200mg/m²/24 hodin. Infuze probíhala po celou dobu radioterapie, tedy nepřetržitě po dobu 28 ozařovacích dnů.

V mezidobí mezi ukončením chemoradioterapie a operací všichni pacienti podstoupili klinický restaging formou MRI pánve a CT trupu. Frekvence zaznamenaných radiologických odpovědí byla následující, našli jsme 71 (41.0%) parciálních regresí, 71 (41.0%) stabilizací choroby, 8x (4.7%) byla popsána progresse choroby a ve 23 (13.3%) případech nebylo možno odpověď z nejrůznějších příčin určit. Hodnocení léčebné odpovědi se řídilo aktuálně platnými RECIST kritérii.

V intervalu 6-8 týdnů od ukončení chemoradioterapie proběhl plánovaný operační výkon, kdy primárně byla snaha o provedení operace typu totální mezorektální excize. Z celkového počtu pacientů jich 89 (51.4%) podstoupilo laparoskopický typ operace, klasickou otevřenou operaci 55 pacientů (31.8%), 28x bylo nutné laparoskopický výkon konvertovat na otevřený (16.2%) a 1x (0.6%) se zvolil hybridní operační postup. Resekovaná tkáň byla zhodnocena zkušeným patologem, který určil patologický staging (pT stádium, pN stádium, respektive ypT a ypN).

Radikality resekce typu R0 bylo dosaženo u 152 (87.9%) případů, mikroskopicky pozitivní resekční okraje R1 byly zaznamenány v 19 (11.0%) patologických nálezech a u dvou pacientů (1.1%) se jednalo pouze o paliativní resekci R2 s makroskopickým reziduem tumoru v operační ráně. Totální mezorektální excize byla uskutečněna 138x (79.8%), kvalitu excize popsal patolog jako ME I 71x (41.0%), IIA 25x (14.4%), IIB 11x (6.4%), IIIA 38x (22.0%), IIIB 28x (16.2%).

Tabulka 3: Charakteristiky souboru pacientů a nádorů a jejich vliv na přežití (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza)

N = 173	CHARAKTERISTIKY	DFS	OS
POHLAVÍ	Ženy 53 (30.6%) Muži 120 (69.4%)	n.s.	n.s.
VĚK [ROKY]	Průměr 62.8, Rozsah 35-80, Medián 63.5, SD 8.84	n.s.	n.s.
BMI	Průměr 28.3, Rozsah 14.6-44, Medián 27.7, SD 4.46	n.s.	n.s.
DIABETES MELLITUS	Ne 137 (79.2%) Ano 36 (20.8%)	n.s.	n.s.
CVS CHOROBY	Ne 127 (73.4%) Ano 46 (26.6%)	n.s.	n.s.
KLINICKÉ T-STÁDIUM	T2 4 (2.3%) T3 143 (82.7%) T4 26 (15.0%)	p = 0.002	p = 0.009
KLINICKÉ N-STÁDIUM	N0 15 (8.7%) N1 49 (28.3%) N2 109 (63.0%)	n.s.	n.s.
GRADING NÁDORU	G1 13 (7.6%) G2 129% (75.0%) G3 30 (17.4%)	n.s.	n.s.
LOKALIZACE NÁDORU	Distální 77 (44.8%) Střední 64 (37.2%) Proximální 31 (18.0%)	p = 0.05 (nižší = horší)	n.s.
CIRKULÁRNÍ VS. SEMICIRKULÁRNÍ	Cirkulární 47 (27.3%) Semic. 125 (72.7%)	p = 0.02 HR 2.26 95%CI 1.05 – 4.88	p = 0.006 HR 3.05 95%CI 1.21 – 7.72
STENÓZUJÍCÍ NÁDOR	Ne 126 (74.1%) Ano 44 (25.9%)	p = 0.001 HR 2.96 95%CI 1.30 – 6.74	p = 0.0001 HR 4.72 95%CI 1.76 – 12.64
LVSI	Ne 160 (92.5%) Ano 13 (7.5%)	n.s. (p = 0.10)	p = 0.0008 HR 4.67 95%CI 0.80 – 27.38
AI	Ne 154 (89.0%) Ano 19 (11.0%)	p = 0.008 HR 2.91 95%CI 0.85 – 9.92	p = 0.04 HR 2.70 95%CI 0.66 – 11.01
PNI	Ne 145 (83.8%) Ano 28 (16.2%)	p = 0.008 HR 2.64 95%CI 0.99 – 7.04	p = 0.005 HR 3.20 95%CI 1.00 – 10.27
R0 RESEKCE	R0 152 (87.9%) R1 19 (11.0%) R2 2 (1.1%)	p < 0.0001	p = < 0.0001
POČET POZITIVNÍCH LN	Průměr 1.0, Rozsah 0-15,0 Medián 0, SD 2.29	p = 0.04	p = 0.0002

BMI = Body-Mass Index; CVS = Kardiovaskulární choroby; LVSI = lymfangioin vaz e; AI = angioin vaz e; PNI = perineurální šíření; HR = Cox-Mantel hazard ratio; 95% CI = 95% confidence interval; SD = Standard Deviation; n.s. = nesignifikantní; DFS = disease-free survival; OS = overall survival

Kompletní patologická odpověď jsme definovali jako nález ypT0ypN0, kdy v resekátu nebyly zaznamenány žádné viabilní nádorové buňky. Charakteristiky léčebných odpovědí a jejich vliv na OS a DFS jsou detailně uvedeny v Tabulce 4. Pooperační patologický nález při hodnocení ypT-stádia odpovídal ypT0 22x (12.7%), ypT1 18x (10.4%), ypT2 65x (37.6%), ypT3 56x (32.4%), ypT4 12x (6.9%). Hodnocení ypN-stádia vypadalo následovně ypN0 117x (67.6%), ypN1 40x (23.1%), ypN2 16x (9.3%).

Adjuvantní (pooperační) chemoterapii jsme aplikovali celkově u 141 (83.4%) pacientů, 24 (14.8%) pacientů neobdrželo žádnou pooperační chemoterapii, zbývající tři pacienti krátce po operaci zahájili paliativní léčbu, pro časnou diseminaci choroby. Při rozhodování o indikaci a složení pooperační chemoterapie jsme zohlednili faktory jako vstupní klinické stádium, patologická odpověď na předoperační léčbu (Dworak), případné pooperační komplikace a hlavně aktuální celkový stav pacienta (PS WHO).

6.3 Statistická analýza

K základnímu popisu souboru jsme použili elementární parametry deskriptivní statistiky, které představovali medián, aritmetický průměr, směrodatná odchylka a 95% interval spolehlivosti pro spojitá data, dále také absolutní a relativní četnosti pro kategorická data. K analýze celkového přežití a přežití bez nemoci byla použita Kaplan-Meierova metoda a Logrank test. Univariační a multivariační Coxova regresní analýza stanovila vliv charakteristik pacienta, tumoru, léčby a hematologických vlastností na parametry přežití. Logistická regresní analýza byla využita pro nalezení dopadu spojitých krevních parametrů na charakteristiky léčebné odpovědi. Také byl analyzován vztah mezi různými hraničními hodnotami u krevních veličin a odpovědí na léčbu pomocí testu χ^2 (chí-kvadrát). Jako hladina statistické významnosti byla zvolena hodnota $p < 0.05$. Všechny statistické analýzy byly provedeny s využitím software NCSS 8 (NCSS, Kaysville, Utah).

Tabulka 4: Charakteristiky léčebné odpovědi a jejich vliv na přežití (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza)

N = 173	CHARAKTERISTIKY	DFS	OS
ypT-STÁDIUM	ypT0 22 (12.7%) ypT1 18 (10.4%) ypT2 65 (37.6%) ypT3 56 (32.4%) ypT4 12 (6.9%)	p < 0.0001	p = 0.001
ypN- STÁDIUM	ypN0 117 (67.6%) ypN1 40 (23.1%) ypN2 16 (9.3%)	p = 0.03 pN1/pN0 HR 1.65 95%CI 0.70 – 3.89 pN2/pN0 HR 3.40 95%CI 0.84 – 13.78	p = 0.05, pN1/pN0 HR 1.53 95%CI 0.52 – 4.51 pN2/pN0 HR 3.45 95%CI 0.75 – 15.87
pCR (ypT0ypN0)	21 (12.1%)	p = 0.03, žádná událost v rameni pCR	n.s. (p = 0.09), žádná událost v rameni pCR
T DOWNSTAGING	Ano 116(67.0%) Ne 57 (33%)	p = 0.002, HR 0.35 95%CI 0.17 – 0.74	p = 0.02, HR 0.37 95%CI 0.15 – 0.91
N DOWNSTAGING	Ano 134 (77.5%) Ne 39 (22.5%)	p = 0.05, HR 0.49 95%CI 0.21 – 1.16	p = 0.03, HR 0.40 95%CI 0.15 – 1.11
T nebo N DOWNSTAGING	Ano 154 (89.0%) Ne 19 (11.0%)	p = 0.04, HR 0.42, 95%CI 0.12 – 1.42	p = 0.03, HR 0.35 95%CI 0.08 – 1.47
T a N DOWNSTAGING	Ano 96 (55.5%) Ne 77 (44.5%)	p = 0.0008, HR 0.30 95%CI 0.15 – 0.61	p = 0.005, HR 0.29 95%CI 0.12 – 0.66

pCR = patologická kompletní regrese; HR = Cox-Mantel hazard ratio; 95% CI = 95% confidence interval; n.s. = nesignifikantní; DFS = disease-free survival; OS = overall survival

7. Výsledky

Při mediánu sledování 35 měsíců (rozsah 5.6-76.9 měsíců) 22 (12.7%) pacientů zemřelo a u dalších 34 (19.7%) byla zaznamenána progresse onkologické choroby. Četnost lokálních pánevních recidiv byla na úrovni 7.5%, četnost vzniku jaterních metastáz byla 9.3%. Nutné je zmínit, že prozatím k datu analýzy nebyl dosažen medián trvání OS ani DFS. Tříletý OS byl pozorován v 84.9% (95%CI 78.7%-91.1%), pětiletý OS v 81.7% (95%CI 74.3%-89.1%). Tříletý DFS byl zaznamenán u 76.6% (95%CI 69.3%-83.9%), pětiletý DFS poté u 75.1% (95%CI 67.4%-82.9%).

V následující retrospektivní analýze byl zkoumán vliv jednotlivých vstupních parametrů krevního obrazu (Tabulka 5) na OS a DFS. Hodnoty byly analyzovány z pohledu kontinuálních proměnných i jako široké spektru jednotlivých prahových hodnot a jejich spojitost s celkovou léčebnou odpovědí.

V souladu s očekáváním jsme našli mnoho předléčebných parametrů krevního obrazu, které představovali signifikantně významný prognostický faktor pro OS i DFS. Detailní přehled poskytuje tabulka 5. Jednalo se o tyto parametry, řazené jsou dle sestupné síly signifikance, absolutní počet červených krvinek (RBC), hladina hemoglobinu, absolutní počet neutrofilních granulocytů, absolutní počet bílých krvinek (WBC), NLR a v neposlední řadě hodnota PLR.

V logistické regresní analýze byla pouze hladina hemoglobinu, jakožto spojitá proměnná, signifikantně asociována se zvýšenou frekvencí patologických odpovědí nádorového onemocnění (downstagingu) na předoperační chemoradioterapii. Konkrétně se jednalo o nálezy u kompletní patologické odpovědi pCR ($p=0.05$; OR 1.04, 95%CI 1.00-1.07); T-downstagingu ($p=0.006$; OR 1.03, 95%CI 1.01-1.05); N-downstagingu ($p=0.09$; OR 1.02, 95%CI 1.00-1.04); T nebo N-downstagingu ($p=0.007$; OR 1.04, 95%CI 1.01-1.07); T a N-downstagingu ($p=0.02$; OR 1.02, 95%CI 1.00-1.04), výrazný signifikantní vliv vyšších hladin hemoglobinu se objevoval u všech typů odpovědí. Ostatní krevní parametry nevyšly v logistické regresní analýze statisticky signifikantní pro predikci léčebnou odpovědi ve smyslu regrese tumoru po předoperační chemoradioterapii. Tento nálezy byl v rozporu s neparametrickou analýzou jejich konkrétních prahových hodnot.

Hladina hemoglobinu a červených krvinek byla statisticky nejsignifikantnější parametr ovlivňující přežití bez ohledu na proměnlivost prahových hodnot (Tabulka 7, 8, 9). Nejvýraznější statisticky významný rozdíl v OS byl nalezen mezi pacienty s normální hladinou hemoglobinu a anemickými pacienty ($p=0.0007$), definice anemie představovala pokles Hb pod 135 g/l u mužů a méně jak 120 g/l u žen (Obrázek 5). Anémie tedy byla identifikována jako negativní predikční faktor pro celkovou léčebnou odpověď, nicméně vyšší hladiny hemoglobinu a erytrocytů měly dopad na četnost pCR i odpověď primárního tumoru a to na vyšší hladině významnosti (Tabulka 7, 8, 9).

Tabulka 5: Vstupní krevní parametry a jejich vliv na přežití (Coxova univariční regresní analýza)

N = 173	PRŮMĚR (ROZSAH) MEDIÁN +/- SD	DFS	OS
WBC [x10 ⁹ /l]	7.75 (1.74-19.57) 7.31 +/- 2.21	p = 0.045; RR 1.12, 95%CI 1.00 – 1.26	p = 0.03; RR 1.15, 95%CI 1.01 – 1.31
RBC [x10 ¹² /l]	4.83 (3.66-5.78) 4.83 +/- 0.41	p < 0.0001; RR 0.19, 95%CI 0.09 – 0.41	p < 0.0001; RR 0.13, 95%CI 0.05 – 0.33
HEMOGLOBIN [g/l]	142.2 (92-177) 144 +/- 15.91	p = 0.007; RR 0.97, 95%CI 0.95 – 0.99	p = 0.006; RR 0.97, 95%CI 0.95 – 0.99
TROMBOCYTY [x10 ⁹ /l]	263.1 (122-515) 260 +/- 70.60	p = 0.0004; RR 1.01, 95%CI 1.00 – 1.01	p = 0.002; RR 1.01, 95%CI 1.00 – 1.01
NEUTROFILY [x10 ⁹ /l]	5.03 (2.31-11.03) 4.97 +/- 1.49	p = 0.034, RR 1.23, 95%CI 1.02 – 1.50	p = 0.008, RR 1.33, 95%CI 1.08 – 1.65
EOSINOFILY [x10 ⁹ /l]	0.20 (0-0.94) 0.16 +/- 0.16	n.s.	n.s.
BASOFILY [x10 ⁹ /l]	0.03 (0-0.28) 0.03 +/- 0.03	n.s.	n.s.
MONOCYTY [x10 ⁹ /l]	0.61 (0.1-1.52) 0.58 +/- 0.22	n.s.	n.s.
LYMFOCYTY [x10 ⁹ /l]	1.88 (0.65-11.27) 1.73 +/- 1.07	n.s.	n.s.
NLR	3.13 (0.64-14.83) 2.78 +/- 1.70	p = 0.13, RR 1.15, 95%CI 0.96 – 1.39	p = 0.02, RR 1.21, 95%CI 1.03 – 1.43
PLR	163.5 (22.75-609.46) 144.9 +/- 76.67	p = 0.02, RR 1.01, 95%CI 1.00 – 1.01	p = 0.02, RR 1.01, 95%CI 1.00 – 1.01

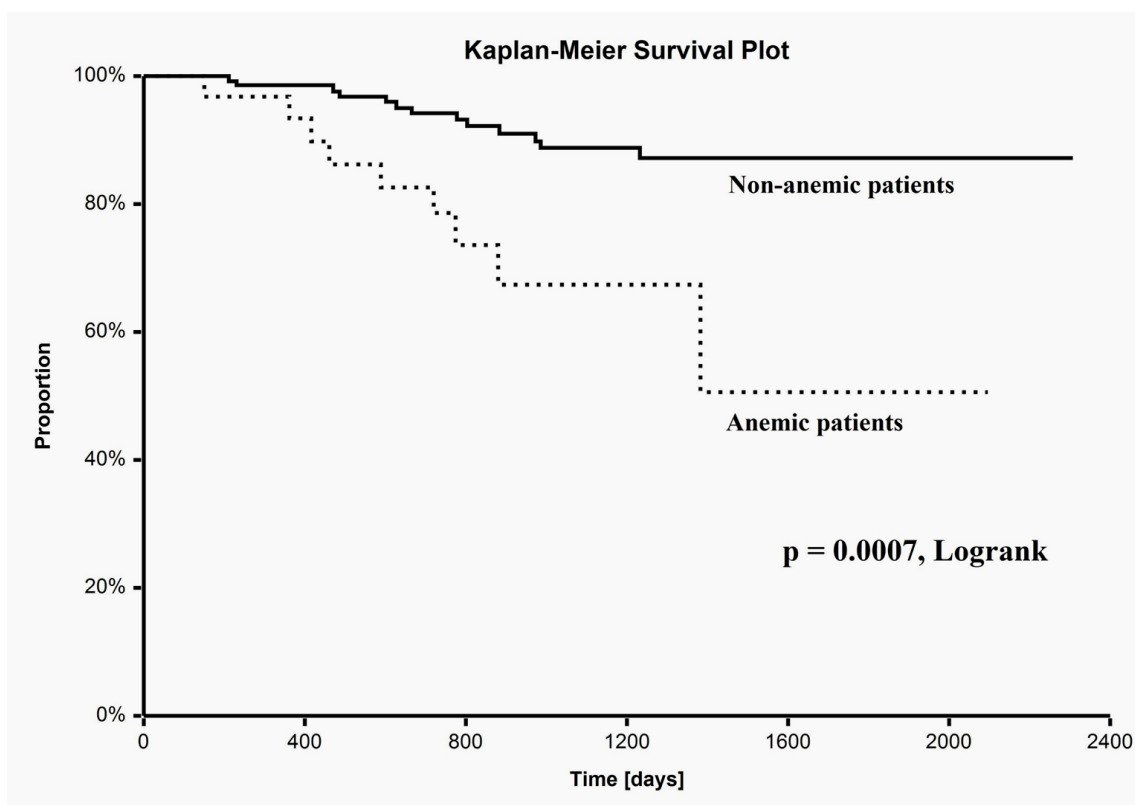
WBC = Leukocyty; RBC = Erytrocyty; NLR = Neutrophil to Lymphocyte ratio; PLR = Platelet to Lymphocyte ratio; RR = Risk Ratio; 95%CI = 95% Confidence Interval; SD = Standard Deviation; n.s. = nesignifikantní; DFS = disease-free survival; OS = overall survival

Absolutní počet krevních destiček byl rozpoznán jako negativní prognostický faktor pro OS a DFS, statisticky signifikantní obzvláště v hladinách mezi $250\text{-}300 \times 10^9/\text{l}$. Avšak hladina trombocytů sama o sobě nebyla signifikantní pro odpověď tumoru na proběhlou chemoradioterapii. Výjimkou představovala pouze vyšší četnosti patologických kompletních odpovědí na hraniční hodnotě PLT $150 \times 10^9/\text{l}$ ($p=0.02$).

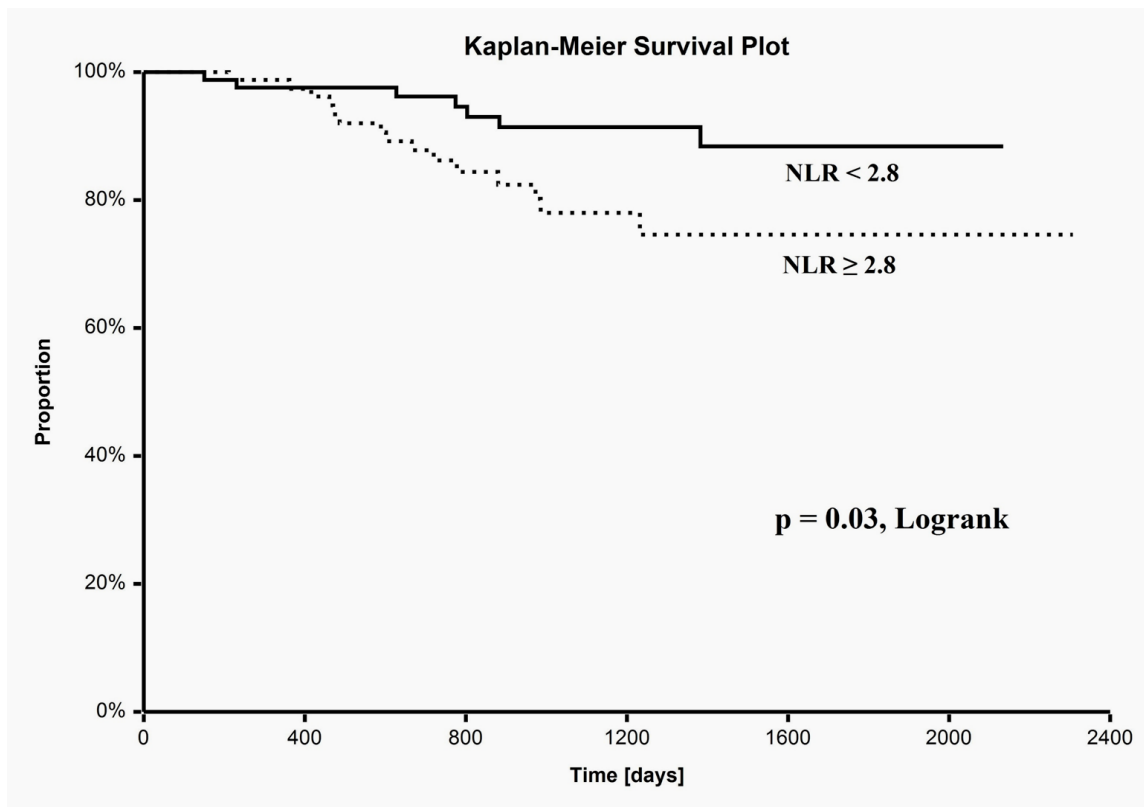
Obdobně jako u krevních koncentrací trombocytů, bylo i u PLR zjištěno, že je významným prognostickým faktorem pro DFS i OS, přičemž nejlepší výsledky přežití jsme prokázali u pacientů s PLR v rozmezí od 100 do 175 ($p = 0.03$). Na druhou stranu parametr PLR nepředstavuje dobrý prediktor odpovědi tumoru na léčbu, jedinou výjimku tvoří výrazně vyšší četnost pCR u hladiny PLR 175 ($p = 0.03$). Všechny ostatní charakteristiky odpovědi na léčbu lze považovat za zanedbatelné a nesignifikantní ve všech hladinách PLR.

Elevace vstupní hladiny absolutního počtu neutrofilních granulocytů vedla ke zhoršení OS (avšak ne s DFS), nejvýraznější rozdíly byly zaznamenány na hladinách od $6.0 \times 10^9/\text{l}$ ($p = 0,009$) do $7,0 \times 10^9/\text{l}$ ($p = 0,003$); ostatní prahové hodnoty se jevily jako statisticky nesignifikantní (Tabulka 11). Důležité je i zmínit, že absolutní počet neutrofilů samotný nebyl dobrým ukazatelem léčebné odpovědi tumoru, na rozdíl od NLR.

Obrázek 5: Vliv přítomnosti anémie na celkové přežití



Obrázek 6: Vliv přítomnosti nízkého NLR (hraniční hodnota 2.8) na celkové přežití.



Tabulka 6: Vliv hodnot NLR na nádorovou odpověď a přežití (χ^2 test; Logrank test); v závorkách uvedeny procenta pacientů s odpovídajícími hodnotami NLR.

NLR	pCR	T	N	T nebo N	T a N	OS	DFS
1.8 (85.0%)	p=0.91	p=0.11	p=0.94	p=0.56	p=0.27	p=0.27	p=0.79
2.0 (79.8%)	p=0.89	p=0.07	p=0.39	p=0.26	p=0.08	p=0.09	p=0.26
2.2 (75.1%)	p=0.91	p=0.02	p=0.12	p=0.13	p=0.01	p=0.04	p=0.21
2.4 (62.4%)	p=0.67	p=0.25	p=0.17	p=0.28	p=0.12	p=0.04	p=0.16
2.6 (54.9%)	p=0.49	p=0.13	p=0.34	p=0.08	p=0.25	p=0.04	p=0.35
2.8 (49.1%)	p=0.43	p=0.02	p=0.50	p=0.07	p=0.11	p=0.03	p=0.20
3.0 (43.4%)	p=0.67	p=0.04	p=0.69	p=0.18	p=0.15	p=0.07	p=0.19
3.2 (36.4%)	p=0.26	p=0.28	p=0.65	p=0.97	p=0.53	p=0.24	p=0.29
3.4 (27.8%)	p=0.54	p=0.43	p=0.94	p=0.69	p=0.58	p=0.53	p=0.56
3.6 (23.7%)	p=0.27	p=0.57	p=0.92	p=0.78	p=0.79	p=0.98	p=0.88
3.8 (20.8%)	p=0.35	p=0.65	p=0.96	p=0.98	p=0.71	p=0.58	p=0.96
4.0 (19.7%)	p=0.61	p=0.75	p=0.76	p=0.65	p=0.74	p=0.55	p=0.99
4.2 (13.9%)	p=0.95	p=0.97	p=0.46	p=0.65	p=0.76	p=0.12	p=0.23

NLR = neutrophil to leukocyte ratio; pCR = patologická kompletní remise; T = T-downstaging; N = N-downstaging; T nebo N = downstaging v oblast T nebo N; T a N = downstaging v oblasti T i N; OS = overall survival; DFS = disease-free survival

Tabulka 7: Krevní parametry se signifikantním vlivem na odpověď tumoru na léčbu (Logistická regresní analýza)

N = 173	pCR	T	N	T nebo N	T a N
WBC [x10 ⁹ /l]	p = 0.97, OR 1.00 (0.82-1.23)	p = 0.14, OR 0.90 (0.78-1.04)	p = 0.95, OR 0.99 (0.85-1.17)	p = 0.22, OR 0.89 (0.74-1.07)	p = 0.49, OR 0.95 (0.83-1.09)
RBC [x10 ¹² /l]	p = 0.12, OR 2.59 (0.80-8.38)	p = 0.11, OR 1.92 (0.87-4.23)	p = 0.91, OR 1.05 (0.44-2.53)	p = 0.45, OR 1.56 (0.49-4.99)	p = 0.24, OR 1.56 (0.74-3.27)
HEMOGLOBIN [g/l]	p = 0.05, OR 1.04 (1.00-1.07)	p = 0.006, OR 1.03 (1.01-1.05)	p = 0.09, OR 1.02 (1.00-1.04)	p = 0.007, OR 1.04 (1.01-1.07)	p = 0.02, OR 1.02 (1.00-1.04)
PLT [x10 ⁹ /l]	p = 0.27, OR 1.00 (0.99-1.00)	p = 0.14, OR 1.00 (0.99-1.00)	p = 0.22, OR 1.00 (0.99-1.00)	p = 0.45, OR 1.00 (0.99-1.00)	p = 0.05, OR 1.00 (0.99-1.00)
NEUTROFILY [x10 ⁹ /l]	p = 0.69, OR 1.06 (0.79-1.43)	p = 0.12, OR 0.84 (0.68-1.04)	p = 0.79, OR 0.97 (0.76-1.23)	p = 0.10, OR 0.79 (0.59-1.05)	p = 0.49, OR 0.93 (0.76-1.14)
EOSINOFILY [x10 ⁹ /l]	p = 0.70, OR 1.69 (0.11-25.7)	p = 0.66, OR 0.64 (0.09-4.55)	p = 0.28, OR 4.02 (0.31-51.4)	p = 0.74, OR 1.72 (0.07-41.6)	p = 0.78, OR 1.31 (0.20-8.71)
BASOFILY [x10 ⁹ /l]	p = 0.93, OR 1.93 (NA)	p = 0.97, OR 1.25 (NA)	p = 0.26, OR NA (NA)	p = 0.43, OR NA (NA)	p = 0.62, OR NA (NA)
MONOCYTY [x10 ⁹ /l]	p = 0.95, OR 0.93 0.12-7.21)	p = 0.25, OR 0.44 (0.11-1.77)	p = 0.61, OR 1.63 (0.30-7.82)	p = 0.91, OR 1.28 (0.13-9.61)	p = 0.46, OR 0.60 (0.16-2.30)
LYMPHOCYTY [x10 ⁹ /l]	p = 0.61, OR 0.87 (0.50-1.51)	p = 0.56, OR 0.92 (0.69-1.22)	p = 0.93, OR 0.99 (0.71-1.38)	p = 0.69, OR 0.92 (0.63-1.35)	p = 0.70, OR 0.95 (0.72-1.25)
NLR	p = 0.99, OR 1.00 (0.76-1.31)	p = 0.59, OR 0.95 (0.79-1.14)	p = 0.65, OR 1.06 (0.84-1.33)	p = 0.77, OR 0.96 (0.74-1.25)	p = 0.95, OR 1.01 (0.84-1.20)
PLR	p = 0.27, OR 1.00 (0.99-1.00)	p = 0.31, OR 1.00 (0.99-1.00)	p = 0.76, OR 1.00 (0.99-1.00)	p = 0.87, OR 1.00 (0.99-1.01)	p = 0.26, OR 1.00 (0.99-1.00)

WBC = Leukocyty; RBC = Erytrocyty; PLT = Trombocyty; NLR = neutrophil to lymphocyte ratio; PLR = platelet to lymphocyte ratio; OR = Odds Ratio (= 95% Confidence Intervals), NA = není dostupné

Absolutní počet lymfocytů jsme neshledali statisticky významným pro predikci OS ani DFS, jakož i pro predikci odpovědi na chemoradioterapii, což bylo opět v rozporu s NLR.

Hodnota NLR byla signifikantně asociována jak s přežitím (OS, DFS) tak i s odpovědí tumoru na léčbu. Tento fakt jsme pozorovali při různých prahových hodnotách (Tabulka 6). Pacienti s NLR v rozmezí hodnot od 2.2 až 2.8 měli významně lepší OS a vyšší četnost i kvalitu odpovědi primárního nádoru. Zejména hodnota NLR 2.8 byla spojena s největší statistickou významností pro OS ($p = 0.03$, obrázek 6), downstaging primárního tumoru ($p = 0.02$). Četnost pCR nebyla u zkoumaných pacientů významně závislá na vstupní hladině NLR.

Počty eosinofilní nebo bazofilních granulocytů ani monocytů nebyly statisticky významné jako prediktory pro přežití (OS ani DFS), ani pro predikci odpovědi tumoru na léčbu. Detailní charakteristiky jednotlivých zkoumaných parametrů a jejich vliv na nádorovou odpověď, OS a DSF ukazují Tabulky 5-12.

Tabulka 8: Prahové hodnoty hemoglobinu a jejich vliv na odpověď nádoru a parametry přežití (χ^2 test; Logrank test); v závorkách uvedeny procenta pacientů s odpovídajícími hodnotami hemoglobinu.

Hb [g/l]	pCR	T	N	T nebo N	T a N	OS	DFS
100 (98.3%)	p=0.52	p=0.21	p=0.35	p=0.54	p=0.44	p=0.47	p=0.13
110 (96.5%)	p=0.35	p=0.07	p=0.52	p=0.07	p=0.27	p=0.89	p=0.11
120 (90.2%)	p=0.41	p=0.06	p=0.05	p=0.0007	p=0.21	p=0.12	p=0.21
130 (81.5%)	p=0.60	p=0.06	p=0.08	p=0.005	p=0.14	p=0.08	p=0.15
140 (58.4%)	p=0.03	p=0.02	p=0.08	p=0.01	p=0.03	p=0.004	p=0.007
150 (35.3%)	p=0.03	p=0.02	p=0.77	p=0.39	p=0.05	p=0.06	p=0.11
160 (12.1%)	p=0.30	p=0.15	p=0.88	p=0.82	p=0.27	p=0.08	p=0.57
ANEMIE (17.9%)	p=0.09	p=0.04	p=0.02	p=0.004	p=0.04	p=0.0007	p=0.02

Hb = hemoglobin; pCR = patologická kompletní remise; Anemie = Hb < 120 g/l muži ženy, Hb < 135 g/l muži, T = T-downstaging; N= N-downstaging; T nebo N = downstaging v oblast T nebo N; T a N = downstaging v oblasti T i N; OS = overall survival; DFS = disease-free survival

Tabulka 9: Prahové hodnoty erytrocytů a jejich vliv na odpověď nádoru a parametry přežití (χ^2 test; Logrank test); v závorkách uvedeny procenta pacientů s odpovídajícími hodnotami erytrocytů.

RBC [.10 ¹² /l]	pCR	T	N	T nebo N	T a N	OS	DFS
4.00 (98.3%)	p=0.52	p=0.99	p=0.35	p=0.54	p=0.70	p=0.31	p=0.51
4.25 (90.8%)	p=0.45	p=0.33	p=0.81	p=0.53	p=0.13	p<0.0001	p<0.0001
4.50 (78.6%)	p=0.16	p=0.75	p=0.46	p=0.58	p=0.57	p<0.0001	p<0.0001
4.75 (61.3%)	p=0.59	p=0.19	p=0.48	p=0.19	p=0.32	p=0.0003	p=0.0005
5.00 (38.2%)	p=0.34	p=0.06	p=0.67	p=0.53	p=0.29	p=0.04	p=0.003
5.25 (14.5%)	p=0.05	p=0.05	p=0.74	p=0.06	p=0.35	p=0.04	p=0.01
5.50 (5.2%)	p=0.002	p=0.03	p=0.40	p=0.28	p=0.04	p=0.29	p=0.17

RBC = počet erytrocytů; pCR = patologická kompletní remise; T = T-downstaging; N = N-downstaging; T nebo N = downstaging v oblast T nebo N; T a N = downstaging v oblasti T i N; OS = overall survival; DFS = disease-free survival

Tabulka 10: Vliv hodnot PLR na nádorovou odpověď a přežití (χ^2 test; Logrank test); v závorkách uvedeny procenta pacientů s odpovídajícími hodnotami PLR.

PLR	pCR	T	N	T nebo N	T a N	OS	DFS
75 (95.9%)	p=0.31	p=0.57	p=0.70	p=0.13	p=0.93	p=0.97	p=0.71
100 (83.2%)	p=0.12	p=0.27	p=0.45	p=0.44	p=0.23	p=0.02	p=0.32
125 (64.7%)	p=0.77	p=0.29	p=0.77	p=0.88	p=0.18	p=0.04	p=0.19
150 (49.1%)	p=0.75	p=0.52	p=0.30	p=0.42	p=0.33	p=0.03	p=0.03
175 (35.8%)	p=0.03	p=0.39	p=0.44	p=0.92	p=0.16	p=0.04	p=0.03
200 (27.2%)	p=0.05	p=0.10	p=0.33	p=0.31	p=0.08	p=0.31	p=0.17
225 (16.8%)	p=0.34	p=0.14	p=0.48	p=0.60	p=0.09	p=0.19	p=0.46
250 (12.1%)	p=0.27	p=0.13	p=0.88	p=0.82	p=0.09	p=0.15	p=0.09
275 (8.1%)	p=0.55	p=0.41	p=0.15	p=0.63	p=0.90	p=0.06	p=0.01
300 (5.8%)	p=0.26	p=0.24	p=0.33	p=0.92	p=0.72	p=0.002	p=0.0008

PLR – platelet to lymphocyte ratio; pCR = patologická kompletní remise; T = T-downstaging; N = N-downstaging; T nebo N = downstaging v oblast T nebo N; T a N = downstaging v oblasti T i N; OS = overall survival; DFS = disease-free survival

Tabulka 11: Vliv hodnot neutrofilů na nádorovou odpověď a přežití (χ^2 test; Logrank test); v závorkách uvedeny procenta pacientů s odpovídajícími hodnotami neutrofilů.

NEU [$\cdot 10^9/l$]	PCR	T	N	T nebo N	T a N	OS	DFS
3.0 (93.6%)	p=0.75	p=0.68	p=0.27	p=0.23	p=0.57	p=0.19	p=0.10
4.0 (76.9%)	p=0.64	p=0.22	p=0.99	p=0.82	p=0.31	p=0.06	p=0.29
5.0 (49.7%)	p=0.79	p=0.03	p=0.39	p=0.45	p=0.40	p=0.20	p=0.08
6.0 (18.5%)	p=0.50	p=0.15	p=0.19	p=0.12	p=0.14	p=0.009	p=0.06
7.0 (8.7%)	p=0.33	p=0.54	p=0.30	p=0.04	p=0.86	p=0.003	p=0.17
8.0 (4.1%)	p=0.86	p=0.28	p=0.59	p=0.78	p=0.10	p=0.14	p=0.29

Neu = počet neutrofilů; pCR = patologická kompletní remise; T = T-downstaging; N = N-downstaging; T nebo N = downstaging v oblasti T nebo N; T a N = downstaging v oblasti T i N; OS = overall survival; DFS = disease-free survival

Tabulka 12: Vliv hodnot trombocytů na nádorovou odpověď a přežití (χ^2 test; Logrank test); v závorkách uvedeny procenta pacientů s odpovídajícími hodnotami trombocytů.

PLT [$\cdot 10^9/l$]	pCR	T	N	T nebo N	T a N	OS	DFS
150 (97.7%)	p=0.02	p=0.16	p=0.91	p=0.48	p=0.43	p=0.43	p=0.31
200 (84.4%)	p=0.08	p=0.69	p=0.59	p=0.98	p=0.40	p=0.37	p=0.25
250 (54.3%)	p=0.51	p=0.33	p=0.77	p=0.87	p=0.20	p=0.008	p=0.02
300 (22.5%)	p=0.68	p=0.04	p=0.16	p=0.11	p=0.04	p=0.02	p=0.02
350 (11.6%)	p=0.76	p=0.48	p=0.78	p=0.88	p=0.32	p=0.30	p=0.05
400 (5.8%)	p=0.23	p=0.24	p=0.17	p=0.35	p=0.09	p=0.13	p=0.01
450 (2.3%)	p=0.45	p=0.46	p=0.91	p=0.48	p=0.21	p=0.01	p<0.0001

PLT = počet trombocytů; pCR = patologická kompletní remise; T = T-downstaging; N = N-downstaging; T nebo N = downstaging v oblasti T nebo N; T a N = downstaging v oblasti T i N; OS = overall survival; DFS = disease-free survival

8. Diskuze

V disertační práci je prezentována kohorta pacientů, na které byl prokázán signifikantní vliv vstupních hematologických parametrů na nádorovou odpověď i dlouhodobé přežití. Jedná se pacienty s lokálně pokročilým karcinomem rekta, kteří byli radikálně léčeni předoperační chemoradioterapií s následnou resekci typu TME. Jde o jeden z nejrozsáhlejších a nejkoherentnějších souborů na dané téma, zabývající se komplexně předléčebnými krevními hodnotami a jejich dopadem na klinický výstup. Doposud publikované studie (zmněné v této práci) se převážně zabývaly vlivem pouze jednoho konkrétního krevního parameteru na downstaging nádoru nebo intervaly přežití. V této práci je nabízen ucelený pohled na danou problematiku. Spojovatelem jednotlivých kapitol je zánětlivá odpověď a imunitní reakce, která se jako červená nit táhne celým procesem karcinogeneze.

Výsledky publikované v této disertační práci mají být dokladem, že předléčebné krevní hodnoty jsou odrazem aktuálního stavu imunitního systému a probíhající SIR, kdy vše je důsledkem vzájemných interakcí mezi maligním nádorem a imunitou hostitele. Jak bylo popsáno v předešlých kapitolách, jsou agresivní tumory schopny modifikovat imunitní odpověď ve svůj prospěch, uniknout tím imunologickému dohledu, lokálně i systémově vyvolat imunosupresi a dokonce i rozvinou systém jakéhosi nádorového mimikry a stát se neviditelnými pro cytotoxické buňky. Vzájemné interakce tumor-imunita probíhají převážně na úrovni nádorového mikroprostředí, ale díky prostupnosti buněk a cytokinů mezi mikroprostředím a krevní cirkulací, dochází u nemalého počtu agresivních tumorů k rozvoji SIR, ta se poté stává negativním prognostickým faktorem pro vlastní nádorovou odpověď i dlouhodobou prognózu pacientů po terapii. Nespornou výhodou představuje fakt, že její posouzení je snadno dostupné pomocí jednoduchého krevního testu.

Klinické výstupy této práce jsou v souladu s doposud publikovanými vědeckými daty a plně zapadají do kontextu vztahů zánět-tumor. Nezpochybnitelně nejdůležitějším krevním parametrem v mé práci, tak jak bylo předpokládáno, byla koncentrace hemoglobinu respektive absolutní počet erytrocytů. Anémie, před zahájením terapie nebo v průběhu léčby, je popisována u celé řady malignit a je prokázán její negativní vliv

na OS i DFS . Nejlépe je její dopad zmapován u dlaždicobuněčných karcinomů, obzvláště u karcinomů hlavy a krku [215] nebo hrdla děložního [216]. Také u CRC je anémie identifikována jako prediktor nádorové odpovědi, OS a rizika lokální rekurence onemocnění [71, 120], podobné je to i u ostatních tumorů trávicí trubice [217, 218]. Důkazy však existují i u dalších druhů malignit [112].

Naopak relativně vyšší hladiny Hb a RCB reprezentují signifikantní prediktor pro větší intenzitu patologické odpovědi na aplikovanou neoadjuvantní chemoradioterapii. U anemických pacientů se historicky předpokládá nižší účinnost radioterapie v důsledku nižší oxygenace nádorových tkání. Kyslík a jeho volné radikály jsou velmi důležité pro sekundární interakce ionizujícího záření v tkáni. Hypoxická tkáň proto vykazuje vyšší míru radiorezistence než tkáň adekvátně kyslíkem zásobená [117]. Dalším projevem hypoxické tkáně je zvýšená neoangiogeneze, která usnadňuje progresi a metastazování tumoru a navíc skrze působení angiogenních faktorů může mít lokální imunosupresivní efekt [207, 208].

O příčinách vzniku anémie při rozvinutém CRC se stále vedou odborné diskuze. Z celé řady možností se jako nejlogičtější jeví tři. Zaprvé může anemizace vznikat chronicky, při dlouhodobých ztrátách krve z tumoru do gastrointestinálního traktu, toto však nevysvětluje přítomnost nízkých hladin hemoglobinu u pacientů, kde není diagnostikována přítomnost krve ve stolici. Druhou možností je, že se jedná o maligní epifenomén nebo jistou formou paraneoplastického příznaku, kdy přítomnost aktivní onkologické choroby v těle vyvolává řadu ne zcela logicky souvisejících symptomů [219]. Třetí a z mého pohledu nejpodstatnější příčinou je působení nádoru skrze cytokiny na imunitní systém hostitele, toto působení se projevuje jako změny v periferním krevním obraze (viz. kapitola 5). A stejně jako dochází k rozvoji trombocytózy nebo vysokého NLR, je i rozvoj anémie součástí těchto změn. Nepřímé důkazy k potvrzení tohoto předpokladu můžeme hledat v neúspěšných snahách různých vědeckých skupin, které se pokoušeli pomocí krevních transfuzí [114, 220] nebo derivátů erythropoetinu normalizovat hladiny Hb a tím ovlivnit klinický výstup terapie a prognózu pacientů, data jsou však extrapolována z jiných onkologických diagnóz, proto je nutno brát je při přejímání na CRC s rezervou a nadhledem.

Do léků stimulujících erytropoézu (erythropoetin, darbepoetin) byly po jejich zavedení do klinické praxe vkládány velké naděje obzvláště u onkologických pacientů. Nadšení

však postupně opadlo, jak byly předkládány jednotlivé vědecké důkazy, že tyto preparáty sice velmi dobře fungují v rámci léčby anémie, ale prognózu onkologicky nemocných nezlepšují, ba naopak jejich použití je signifikantně spojeno s kratším OS. Předpokládá se, že erythropoetinové receptory mohou být exprimovány také nádorovými buňkami a jejich stimulace působí jako růstový faktor podporující nádorový růst [221, 222]. Dalším výzkumem byl identifikován i antiapoptotický účinek a také výrazný angiogenní vliv erythropoetinu. Rozhodující slovo a ukončení debat mělo až provedení Cochranova systematického přehledu a meta-analýzy na dané téma v roce 2009. Na datech z celkového počtu 13933 onkologických nemocných (53 vědeckých studií) bylo zaznamenáno signifikantní zvýšení mortality a zkrácení celkového přežití v důsledku používání preparátů stimulujících erytropoézu [223, 224].

Obdobné přecenění vlivu nacházíme i při použití krevních transfuzí podávaných s cílem normalizovat hladiny hemoglobinu a tím ovlivnit prognózu pacienta. I zde po fázi velkého nadšení nastává fáze rychlého vědeckého vystřízlivění. Opakovaně se nepodařilo prokázat benefit aplikovaných transfuzí na ovlivnění nádorové odpovědi ani na přežívání pacientů, nejrobustnější data nalézáme u cervikálního karcinomu a nádorů hlavy a krku léčených primární chemoradioterapií [114, 220].

Při znalosti těchto poznatků se nabízí myšlenka, zda vliv anémie na účinnost radioterapie není dlouhodobě nadhodnocen. Přítomnost anémie i nadále zůstává silným a nezávislým prognostickým faktorem u řady onkologických onemocnění, ale nízká hladina hemoglobinu se z pohledu radioterapie zdá být nevýznamná a její korekce nevede ke zlepšení odpovědi nádoru. Z tohoto faktu vyplývá, že anémie je spíše znakem větší agresivity tumoru, jeho větší provázanosti s fyziologickými pochody organismu se silným vlivem na modulaci systémové zánětlivé odpovědi. Přítomnost agresivnějších typů nádorů logicky negativně ovlivňuje léčebný výstup a samozřejmě zhoršuje i prognózu pacientů.

Jak jsme si ukázali, je tedy snaha o korigování anémie z hlediska ovlivnění prognózy onemocnění slepou uličkou. Daleko širší možnosti naskýtá cílený zásah do pochodů řídících počty bílých krvinek a jejich vzájemných poměrů v periferní krvi. Aktuální stav systémové zánětlivé odpovědi, který je reprezentován především veličinou NLR, představuje dle dostupných dat, zcela zásadní prognostický faktor u CRC. Zde prezentovaný soubor pacientů jeví obdobné znaky jako soubory v dříve

publikovaných studiích. I v mém souboru se podařilo prokázat signifikantní negativní vliv zvýšené hodnoty NLR na DSF, OS i nádorovou odpověď. Hraniční hodnota byla rozpoznána na úrovni 2.8, některé publikace nalézají totožnou hodnotu, jiné pracují i s daleko vyššími hodnotami NLR 4-5 [74]. Tuto jistou diskrepanci si vykládám faktem, že většina klinických zkoumání byla prováděna na úrovni jedné vědecké instituce a analyzována retrospektivně, mohlo tak docházet k selekci pacientů se specifickými charakteristikami, které následně ovlivňují prahovou hodnotu NLR. Hodnota NLR není specifická pro nádorová onemocnění, ale může být ovlivněna celou řadou patofyziologických procesů [153]. Další příčinou lze hledat v rozdílné metodice určování diferenciálního rozpočtu leukocytů (např. automatická vs. manuální).

Moderní onkologická terapie je stále častěji založena na imunoterapii, tedy na postupech, kdy aplikovaná léčba nepůsobí přímo na nádorové buňky, ale významně ovlivňuje funkci a činnost výkonných nebo pomocných buněk imunitního systému a ty poté zajišťují vlastní likvidaci nádorového onemocnění. Největší pokroků bylo prozatím dosaženo v terapii maligního melanomu a karcinomů plic [225].

U diagnózy CRC se v svislosti s radioterapií stále častěji hovoří o takzvané imunogenické buněčné smrti a abskopálním efektu léčby. Imunogenická smrt je ve své podstatě vedlejším efektem cytotoxické léčby a tato schopnost byla pozorována u mnoha druhů protinádorové terapie [226-228]. Protinádorová léčba (cytotoxické působení) vede u části buněk nádoru k přímému poškození a zániku, tím se do nádorového (zánětlivého) mikroprostředí masivně uvolňuje řada antigenních struktur, které jsou poté skrze antigen prezentující buňky (převážně dendritické buňky) nabízeny cytotoxickým T-lymfocytům. Aktivované cytotoxické T-lymfocyty poté zajišťují imunogenickou likvidaci těch nádorových buněk, které nebyly poškozeny z vnějšku aplikovanou protinádorovou léčbou [226, 228]. Abskopální efekt je naopak charakteristický pro léčbu radioterapií. U některých maligních onemocnění byl popsán jev, kdy po paliativním ozáření symptomatického nádorového ložiska, došlo ke grafické regresi i ložisek ležících mimo ozařované pole. Tento jev byl umocněn aplikací preparátu modifikujících imunitní odpověď [229, 230].

Existuje několik možností, jak imunologické procesy v těle ovlivnit. Některé protinádorové léky prokazují mimo jiné i schopnost usnadnit maturaci dendritických buněk a tím zvýšit účinnost jejich antigen prezentující funkce [231], jiné naopak zvyšují

imunogenicitu vlastních nádorových struktur a dělají tím nádorové antigeny pro imunitní systém hostitele více „atraktivními“ [227].

Další možností je přímé ovlivnění počtu a funkce efektorových imunitních buněk. Slibně se v tomto ohledu jeví možnost využití GM-CSF jako součást primární protinádorové terapie. GM-CSF je silným stimulantem a promotorem zrání dendritických buněk, vyšší koncentrace zralých DC v nádorovém mikroprostředí eskaluje protinádorový účinek přirozené hostitelské protinádorové imunity, opakem je hromadění MDSC (prekursorů zralých DC) v mikroprostředí, které působí imunosupresivně a spíše podporuje nádorový růst a umožňuje tumoru uniknout imunologickému dohledu [102]. Studie třetí fáze, italského kolektivu autorů, zkoumající efekt kombinace GM-CSF, interleukinu a chemoterapie naznačila možný efekt kombinované léčby GOLFIG (GM-CSF, aldesleukin, gemcitabine, oxaliplatina, leukovorin, 5-fluorouracil) oproti standardně aplikované chemoterapii FOLFOX (Oxaliplatina, leukovorin, 5-fluorouracil) u pacientů s metastatickým CRC. Zásadní problém studie však byl, že byla předčasně ukončena pro nedostatečný nábor pacientů, probíhala totiž v období, kdy do klinické praxe léčby CRC vtrhly moderní cílené anti-VEGF a anti-EGFR preparáty. I přesto tato studie ukázala cestu, kudy by se mohla imunochemoterapie ubírat [232].

Obdobně lze uvažovat o kombinaci GM-CSF s radioterapií, s cílem o navození vyšší účinnosti radioterapie. Golden a jeho pracovní skupina publikovali v roce 2015 práci, kde popsali, že aplikace GM-CSF v průběhu radioterapie, zvyšuje šance navození abskopálního efektu. Prozatím se však nejedná o silný vědecký důkaz, studie je v první fázi vědeckého zkoumání a její výsledky musí být potvrzeny dalším výzkumem [233]. Pokud tuto myšlenku však rozvineme, je otázkou, zda by aplikace GM-CSF nenašla uplatnění v rámci předoperační chemoradioterapie CRC. I když je při této léčbě aplikována systémová chemoterapie, stále se jedná o terapii lokální, relativně malá dávka cytostatika nedosahuje výraznějšího systémového účinku a její úkol je potencovat lokální efekt radioterapie. Obzvláště potentní by podání GM-CSF mohlo být u vysoce rizikových pacientů (lokálně pokročilý tumor, cN+, vysoký grading, makroskopická angioinvasze dle MRI, lymfangioinvasze), u těchto pacientů je z podstaty choroby vysoké riziko mikroskopické diseminace mimo oblast pánve. Abskopální efekt by poté mohl zajistit likvidaci choroby i mimo ozařovanou oblast a zabránit generalizaci choroby, kterou někdy

u těchto pacientů nalézáme v rámci restagingu před plánovanou operací nebo časně po ukončení radikální komplexní onkologické léčby.

Princip imunogenické buněčné smrti lze ve své podstatě nazvat jakousi endogenní vakcinací, kdy látky (antigenní struktury) modulující průběh imunitní reakce nedodáváme z vnějšího prostředí, ale jsou produkovány z rozpadlých nádorových buněk. Aplikace GM-CSF tedy představuje stimulaci nespecifické nádorové imunity. S vysokou pravděpodobností lze ve velmi blízké budoucnosti očekávat masivnější uplatnění i moderních preparátů nespecificky modulujících imunitní pochody, jedná se převážně o tzv. „Checkpoint inhibitory“, konkrétně ipilimumab a tremelimumab (monoklonální protilátky k cytotoxickému s T-lymfocyty asociovanému antigenu 4), dále nivolumab a pembrolizumab (monoklonální protilátky k proteinu programované smrti 1 a jeho ligandu). Tyto látky také posilují efekt cytotoxických T-lymfocytů a mohli by najít slibné uplatnění v kombinaci s radioterapií. Nadějnou podskupinou se zdají být pacienti s poruchou funkce „mismatch repair“ genů (MMR), jedná se asi o 15% sporadických CRC a téměř všechny hereditární nepolypózní CRC [234]. Vedlejším efektem této genetické poruchy je masivní nadprodukce atypických proteinů, které mohou plnit funkci antigenních nádorových struktur a stimulovat protinádorovou imunitní odpověď.

Velmi nadějně výsledky v tomto směru ukázala studie druhé fáze s aplikací pembrolizumabu, kde právě MMR podskupina dosahovala výrazně lepších výsledků v četnosti objektivních odpovědí i kontroly onemocnění [235]. Ostatní zkoumané imunologické postupy, jako vakcinace autologními nádorovými buňkami, vakcinace dendritickými buňkami nebo vakcinace aktivovanými T-Lymfocyty, nedosáhly prozatím širšího klinického uplatnění hlavně pro sporný efekt, vysokou cenu procedury a složitost technologického postupu přípravy vakcíny [78].

Moderní onkologie se charakterizuje jako personalizovaná. To znamená, že se snažíme v populaci onkologických pacientů vyselektovat podskupinu s charakteristickými znaky, které predikují její benefit z konkrétního terapeutického postupu. A právě kombinace imunoterapie a radioterapie se do budoucna jeví jako postup optimální. Imunoterapie coby významný modulátor fyziologických protinádorových mechanismů a radioterapie jako masivní zevní impuls vedoucí k endogenní produkci antigenních struktur.

Další zajímavou skupinou léků z hlediska synergického efektu k neoadjuvantní chemoradioterapii jsou klasická nesteroidní antiflogistika. Klasifikujeme je jako inhibitory COX. Vyšší efektivita u nádorových onemocnění je připisována čistě selektivním COX-2 (coxibům) nebo preferenčním COX-2 inhibitorům (nonaspirin), nicméně i neselektivní COX inhibitory typu aspirinu představují výrazný činitel nejen v chemoprevenci kolorektálního karcinomu ale i v průběhu protinádorové terapie [236]. Je tedy trochu překvapivé, že tyto léky prozatím nejsou při terapii CRC v širším měřítku užívány. NSAID obecně oslabují akutní fázi SIR u pacientů s pokročilým CRC, v krevním séru se jejich aplikace projevuje poklesem koncentrací CRP, IL-6, TNF- α a dalších markerů akutní fáze zánětu. Klinickým projevem je zlepšení funkčního stavu pacienta, případně zastavení kachektizace [191]. Za jednou z klíčových molekul podporující nádorový růst je označována COX-2. Produkty tohoto enzymu jsou součástí signálních cest vedoucích k progresi tumoru. Zvýšená míra overexprese COX-2 byla pozorována v nádorových buňkách převážně distální části trávicí trubice (sestupný tračník, esovitá klička, konečník) a její přítomnost je znakem přítomnosti agresivnějších tumorů a prediktorem horší prognózy [237, 238]. Klíčovým produktem činnosti COX-2 je PGE₂, tomu je přisuzován velký podíl na podpoře buněčné proliferace, invaze a migrace. Zdá se, že radioterapií (produkcí reaktivních kyslíkových radikálů) indukovaná zánětlivá odpověď je regulována skrze expresi COX-2. Produkty činnosti COX-2 následně slouží jako koaktivátory dalších signálních drah (STAT3, NF- κ B) vedoucích transkripční signál do buněčného jádra. Obdobným způsobem může být na druhou stranu indukováno i poškození a smrt buněk, které nebyly přímo zasaženy ionizujícím zářením. Tento „bystander efekt“ se projevuje u maligních buněk stejně jako u buněk zdravých tkání [239]. Overexprese COX-2 tak může teoreticky zvyšovat na straně jedné radiorezistenci nádoru, na straně druhé radiační poškození zdravých tkání. Celecoxib byl identifikován jako potenciální látka zvyšující radiosenzitivitu různých typů maligních nádorů a snižující výskyt postiradiačních nežádoucích účinků [240]. Velkým nedostatkem této teorie je využití COX inhibitorů při neoadjuvantní chemoradioterapii karcinomu rekta, což je podpořeno malým množstvím klinických dat s protichůdnými výsledky [240-244].

9. Závěr

V této vědecké práci bylo dosaženo primárně zvoleného cíle, tedy prokázat signifikantní závislost mezi předléčebnými parametry krevního obrazu, nádorovou odpovědí na aplikovanou neoadjuvantní chemoradioterapii a celkovou dlouhodobou prognózou. Prognostickým faktorem pro OS i DFS byla koncentrace červených krvinek, hladina hemoglobinu, absolutní počet neutrofilních granulocytů, absolutní počet bílých krvinek, NLR, PLR. Naopak negativní prognostický faktorem byla trombocytóza a elevace hladin neutrofilních granulocytů. Jako prediktor nádorové odpovědi byla identifikována koncentrace červených krvinek a hladina hemoglobinu.

V práci jsem vycházel ze znalostí předešlých publikací na obdobné téma, většina předchozích publikovaných prací se však zabývala problematikou u zcela jiných nádorových onemocnění než u karcinomu konečníku nebo byl zkoumán pouze jeden konkrétní krevní parametr, případně léčení pacienti podstupovali primárně jiný druh terapie než chemoradioterapii. Při sběru vědeckých dat jsem čerpal čistě ze své klinické praxe, kdy naprostá většina pacientů zde prezentovaného souboru prošla osobně mou ambulancí a jako jejich ošetřující lékař jsem zajišťoval správný průběh neoadjuvantní chemoradioterapie, dále i aplikaci pooperační chemoterapie a následnou poléčebnou dispenzární péči.

Vzhledem k těmto faktům je možno v mé disertační práci prezentovat jeden z největších a nejhomogennějších souborů pacientů s karcinomem konečníku, na nichž je problematika zkoumána. Z mého pohledu je důležitá hlavně komplexnost výsledků, kdy jsou současně analyzovány všechny dostupné parametry krevního obrazu jako celek a výtečně nám tak poskytují možnost jednoduše nahlédnout do imunologických, tumorem evokovaných dějů uvnitř těla. S ohledem na zde uváděné výsledky jednoznačně doporučuji posuzování hodnot krevního obrazu s ohledem na predikci nádorové odpovědi a prognózu zařadit do standardního diagnostického schématu před zahájením neoadjuvantní chemoradioterapie karcinomu konečníku.

10. Seznam použité literatury

1. Ferlay J, S.I., Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. *Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11* GLOBOCAN 2012 v1.1 2015.
2. DUŠEK Ladislav, M.J., KUBÁSEK Miroslav, KOPTÍKOVÁ Jana, ŽALOUĐÍK Jan, VYZULA Rostislav. *Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online].* . 2015 [cit. 2016-2-01]].
3. Schottenfeld D, F.J., *Cancer Epidemiology and Prevention*. 2006, New York: Oxford University Press.
4. Bosman, F.T., World Health Organization., and International Agency for Research on Cancer., *WHO classification of tumours of the digestive system*. 4th ed. World Health Organization classification of tumours. 2010, Lyon: International Agency for Research on Cancer. 417 p.
5. DeVita, V.T., T.S. Lawrence, and S.A. Rosenberg, *Devita, Hellman, and Rosenberg's cancer : principles & practice of oncology*. 10th edition. ed. 2015, Philadelphia: Wolters Kluwer. xlv, 2234 pages.
6. Sobin, L.H., et al., *TNM classification of malignant tumours*. 7th ed. 2010, Chichester, West Sussex, UK ; Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell. xx, 309 p.
7. Enker, W.E., et al., *Total mesorectal excision in the operative treatment of carcinoma of the rectum*. J Am Coll Surg, 1995. 181(4): p. 335-46.
8. MacFarlane, J.K., R.D. Ryall, and R.J. Heald, *Mesorectal excision for rectal cancer*. Lancet, 1993. 341(8843): p. 457-60.
9. Heald, R.J., E.M. Husband, and R.D. Ryall, *The mesorectum in rectal cancer surgery--the clue to pelvic recurrence?* Br J Surg, 1982. 69(10): p. 613-6.
10. Colorectal Cancer Collaborative, G., *Adjuvant radiotherapy for rectal cancer: a systematic overview of 8,507 patients from 22 randomised trials*. Lancet, 2001. 358(9290): p. 1291-304.
11. Martling, A., et al., *The Stockholm II trial on preoperative radiotherapy in rectal carcinoma: long-term follow-up of a population-based study*. Cancer, 2001. 92(4): p. 896-902.
12. Kapiteijn, E., et al., *Preoperative radiotherapy combined with total mesorectal excision for resectable rectal cancer*. N Engl J Med, 2001. 345(9): p. 638-46.
13. den Dulk, M., et al., *Improved overall survival for patients with rectal cancer since 1990: the effects of TME surgery and pre-operative radiotherapy*. Eur J Cancer, 2008. 44(12): p. 1710-6.

14. Fisher, B., et al., *Postoperative adjuvant chemotherapy or radiation therapy for rectal cancer: results from NSABP protocol R-01*. J Natl Cancer Inst, 1988. 80(1): p. 21-9.
15. Smalley, S.R., et al., *Phase III trial of fluorouracil-based chemotherapy regimens plus radiotherapy in postoperative adjuvant rectal cancer: GI INT 0144*. J Clin Oncol, 2006. 24(22): p. 3542-7.
16. Thomas, P.R. and A.S. Lindblad, *Adjuvant postoperative radiotherapy and chemotherapy in rectal carcinoma: a review of the Gastrointestinal Tumor Study Group experience*. Radiother Oncol, 1988. 13(4): p. 245-52.
17. O'Connell, M.J., et al., *Improving adjuvant therapy for rectal cancer by combining protracted-infusion fluorouracil with radiation therapy after curative surgery*. N Engl J Med, 1994. 331(8): p. 502-7.
18. Krook, J.E., et al., *Effective surgical adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma*. N Engl J Med, 1991. 324(11): p. 709-15.
19. Sauer, R., et al., *Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years*. J Clin Oncol, 2012. 30(16): p. 1926-33.
20. Roh, M.S., et al., *Preoperative multimodality therapy improves disease-free survival in patients with carcinoma of the rectum: NSABP R-03*. J Clin Oncol, 2009. 27(31): p. 5124-30.
21. Mohiuddin, M., et al., *Preoperative chemoradiation in fixed distal rectal cancer: dose time factors for pathological complete response*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2000. 46(4): p. 883-8.
22. Bosset, J.F., et al., *Preoperative radiochemotherapy in rectal cancer: long-term results of a phase II trial*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2000. 46(2): p. 323-7.
23. Bosset, J.F., *[Rectal cancer: preoperative chemoradiation, a new standard]*. Cancer Radiother, 2005. 9(3): p. 137-9.
24. Habr-Gama, A., et al., *Low rectal cancer: impact of radiation and chemotherapy on surgical treatment*. Dis Colon Rectum, 1998. 41(9): p. 1087-96.
25. Hyams, D.M., et al., *A clinical trial to evaluate the worth of preoperative multimodality therapy in patients with operable carcinoma of the rectum: a progress report of National Surgical Breast and Bowel Project Protocol R-03*. Dis Colon Rectum, 1997. 40(2): p. 131-9.
26. Janjan, N.A., et al., *Tumor downstaging and sphincter preservation with preoperative chemoradiation in locally advanced rectal cancer: the M. D. Anderson Cancer Center experience*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1999. 44(5): p. 1027-38.

27. Marsh, R.D., et al., *Preoperative treatment of patients with locally advanced unresectable rectal adenocarcinoma utilizing continuous chronobiologically shaped 5-fluorouracil infusion and radiation therapy*. *Cancer*, 1996. 78(2): p. 217-25.
28. Minsky, B.D., et al., *Preoperative 5-FU, low-dose leucovorin, and radiation therapy for locally advanced and unresectable rectal cancer*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1997. 37(2): p. 289-95.
29. Videtic, G.M., et al., *Preoperative radiation with concurrent 5-fluorouracil continuous infusion for locally advanced unresectable rectal cancer*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1998. 42(2): p. 319-24.
30. Nathanson, D.R., et al., *Evaluation of preoperative and postoperative radiotherapy on long-term functional results of straight coloanal anastomosis*. *Dis Colon Rectum*, 2003. 46(7): p. 888-94.
31. Bujko, K., et al., *Does rectal cancer shrinkage induced by preoperative radio(chemo)therapy increase the likelihood of anterior resection? A systematic review of randomised trials*. *Radiother Oncol*, 2006. 80(1): p. 4-12.
32. Myerson, R.J., et al., *Five fractions of preoperative radiotherapy for selected cases of rectal carcinoma: long-term tumor control and tolerance to treatment*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1999. 43(3): p. 537-43.
33. Pucciarelli, S., et al., *Preoperative combined radiotherapy and chemotherapy for rectal cancer does not affect early postoperative morbidity and mortality in low anterior resection*. *Dis Colon Rectum*, 1999. 42(10): p. 1276-83; discussion 1283-4.
34. Dahlberg, M., et al., *Preoperative irradiation affects functional results after surgery for rectal cancer: results from a randomized study*. *Dis Colon Rectum*, 1998. 41(5): p. 543-9; discussion 549-51.
35. Fortier, G.A., et al., *Preoperative radiation therapy for rectal cancer. An effective therapy in need of a clinical trial*. *Arch Surg*, 1986. 121(12): p. 1380-5.
36. Ahmad, N.R., G. Marks, and M. Mohiuddin, *High-dose preoperative radiation for cancer of the rectum: impact of radiation dose on patterns of failure and survival*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1993. 27(4): p. 773-8.
37. Sauer, R., et al., *Adjuvant vs. neoadjuvant radiochemotherapy for locally advanced rectal cancer: the German trial CAO/ARO/AIO-94*. *Colorectal Dis*, 2003. 5(5): p. 406-15.
38. Smith, J.A., et al., *Clinicopathologic Comparison of High-Dose-Rate Endorectal Brachytherapy versus Conventional Chemoradiotherapy in the Neoadjuvant Setting for Resectable Stages II and III Low Rectal Cancer*. *Int J Surg Oncol*, 2012. 2012: p. 406568.

39. Sun Myint, A., et al., *High dose rate brachytherapy as a boost after preoperative chemoradiotherapy for more advanced rectal tumours: the Clatterbridge experience*. Clin Oncol (R Coll Radiol), 2007. 19(9): p. 711-9.
40. Breugom, A.J., et al., *Adjuvant chemotherapy after preoperative (chemo)radiotherapy and surgery for patients with rectal cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data*. Lancet Oncol, 2015. 16(2): p. 200-7.
41. Willett, C.G., et al., *Selection factors for local excision or abdominoperineal resection of early stage rectal cancer*. Cancer, 1994. 73(11): p. 2716-20.
42. Network, N.C.C. *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology - Rectal Cancer (Version 2.2016)*. 2016 [cited 2016 June]; Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/rectal.pdf.
43. Glimelius, B., et al., *Rectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2013. 24 Suppl 6: p. vi81-8.
44. Landmann, R.G., et al., *Limitations of early rectal cancer nodal staging may explain failure after local excision*. Dis Colon Rectum, 2007. 50(10): p. 1520-5.
45. Yamamoto, S., et al., *The risk of lymph node metastasis in T1 colorectal carcinoma*. Hepatogastroenterology, 2004. 51(58): p. 998-1000.
46. Nascimbeni, R., et al., *Risk of lymph node metastasis in T1 carcinoma of the colon and rectum*. Dis Colon Rectum, 2002. 45(2): p. 200-6.
47. Marr, R., et al., *The modern abdominoperineal excision: the next challenge after total mesorectal excision*. Ann Surg, 2005. 242(1): p. 74-82.
48. van der Pas, M.H., et al., *Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer (COLOR II): short-term outcomes of a randomised, phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2013. 14(3): p. 210-8.
49. Jeong, S.Y., et al., *Open versus laparoscopic surgery for mid-rectal or low-rectal cancer after neoadjuvant chemoradiotherapy (COREAN trial): survival outcomes of an open-label, non-inferiority, randomised controlled trial*. Lancet Oncol, 2014. 15(7): p. 767-74.
50. Jayne, D.G., et al., *Randomized trial of laparoscopic-assisted resection of colorectal carcinoma: 3-year results of the UK MRC CLASICC Trial Group*. J Clin Oncol, 2007. 25(21): p. 3061-8.
51. Sauer, R., et al., *Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer*. N Engl J Med, 2004. 351(17): p. 1731-40.
52. Wong, R.K., et al., *Pre-operative radiotherapy and curative surgery for the management of localized rectal carcinoma*. Cochrane Database Syst Rev, 2007(2): p. CD002102.

53. Wagman, R., et al., *Sphincter preservation in rectal cancer with preoperative radiation therapy and coloanal anastomosis: long term follow-up*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1998. 42(1): p. 51-7.
54. *Prescribing, Recording, and Reporting Photon-Beam Intensity-Modulated Radiation Therapy (IMRT): Contents*. J ICRU, 2010. 10(1): p. NP.
55. *Prescribing, recording, and reporting proton-beam therapy: contents*. J ICRU, 2007. 7(2): p. NP.
56. Myerson, R.J., et al., *Elective clinical target volumes for conformal therapy in anorectal cancer: a radiation therapy oncology group consensus panel contouring atlas*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2009. 74(3): p. 824-30.
57. Roels, S., et al., *Definition and delineation of the clinical target volume for rectal cancer*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2006. 65(4): p. 1129-42.
58. Ceelen, W.P., Y. Van Nieuwenhove, and K. Fierens, *Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer*. Cochrane Database Syst Rev, 2009(1): p. CD006041.
59. McCarthy, K., et al., *Pre-operative chemoradiation for non-metastatic locally advanced rectal cancer*. Cochrane Database Syst Rev, 2012. 12: p. CD008368.
60. De Caluwe, L., Y. Van Nieuwenhove, and W.P. Ceelen, *Preoperative chemoradiation versus radiation alone for stage II and III resectable rectal cancer*. Cochrane Database Syst Rev, 2013. 2: p. CD006041.
61. Hofheinz, R.D., et al., *Chemoradiotherapy with capecitabine versus fluorouracil for locally advanced rectal cancer: a randomised, multicentre, non-inferiority, phase 3 trial*. Lancet Oncol, 2012. 13(6): p. 579-88.
62. Aschele, C., et al., *Primary tumor response to preoperative chemoradiation with or without oxaliplatin in locally advanced rectal cancer: pathologic results of the STAR-01 randomized phase III trial*. J Clin Oncol, 2011. 29(20): p. 2773-80.
63. Dewdney, A., et al., *Multicenter randomized phase II clinical trial comparing neoadjuvant oxaliplatin, capecitabine, and preoperative radiotherapy with or without cetuximab followed by total mesorectal excision in patients with high-risk rectal cancer (EXPERT-C)*. J Clin Oncol, 2012. 30(14): p. 1620-7.
64. Balkwill, F. and A. Mantovani, *Inflammation and cancer: back to Virchow?* Lancet, 2001. 357(9255): p. 539-45.
65. Mantovani, A., et al., *Cancer-related inflammation*. Nature, 2008. 454(7203): p. 436-44.
66. McMillan, D.C., *Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2009. 12(3): p. 223-6.

67. *American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis.* Crit Care Med, 1992. 20(6): p. 864-74.
68. Roxburgh, C.S. and D.C. McMillan, *Role of systemic inflammatory response in predicting survival in patients with primary operable cancer.* Future Oncol, 2010. 6(1): p. 149-63.
69. McMillan, D.C., *The systemic inflammation-based Glasgow Prognostic Score: a decade of experience in patients with cancer.* Cancer Treat Rev, 2013. 39(5): p. 534-40.
70. Choi, K.W., et al., *Inflammation-based score (Glasgow prognostic score) as an independent prognostic factor in colorectal cancer patients.* Ann Surg Treat Res, 2014. 86(6): p. 309-13.
71. Lee, S.D., et al., *Influence of anemia on tumor response to preoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer.* Int J Colorectal Dis, 2009. 24(12): p. 1451-8.
72. Carruthers, R., et al., *Systemic inflammatory response is a predictor of outcome in patients undergoing preoperative chemoradiation for locally advanced rectal cancer.* Colorectal Dis, 2012. 14(10): p. e701-7.
73. Proctor, M.J., et al., *A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival in patients with cancer.* Br J Cancer, 2012. 107(4): p. 695-9.
74. Templeton, A.J., et al., *Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis.* J Natl Cancer Inst, 2014. 106(6): p. dju124.
75. Guthrie, G.J., et al., *The systemic inflammation-based neutrophil-lymphocyte ratio: experience in patients with cancer.* Crit Rev Oncol Hematol, 2013. 88(1): p. 218-30.
76. Coussens, L.M. and Z. Werb, *Inflammation and cancer.* Nature, 2002. 420(6917): p. 860-7.
77. Terzic, J., et al., *Inflammation and colon cancer.* Gastroenterology, 2010. 138(6): p. 2101-2114 e5.
78. Pernot, S., et al., *Colorectal cancer and immunity: what we know and perspectives.* World J Gastroenterol, 2014. 20(14): p. 3738-50.
79. Balkwill, F., K.A. Charles, and A. Mantovani, *Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease.* Cancer Cell, 2005. 7(3): p. 211-7.
80. Aggarwal, B.B., R.V. Vijayalekshmi, and B. Sung, *Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe.* Clin Cancer Res, 2009. 15(2): p. 425-30.

81. Punturieri, A., et al., *Lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease: needs and opportunities for integrated research*. J Natl Cancer Inst, 2009. 101(8): p. 554-9.
82. Dostert, C., et al., *Innate immune activation through Nalp3 inflammasome sensing of asbestos and silica*. Science, 2008. 320(5876): p. 674-7.
83. Wolf, M.J., et al., *Metabolic activation of intrahepatic CD8+ T cells and NKT cells causes nonalcoholic steatohepatitis and liver cancer via cross-talk with hepatocytes*. Cancer Cell, 2014. 26(4): p. 549-64.
84. Moustakas, A., et al., *Mechanisms of TGF-beta signaling in regulation of cell growth and differentiation*. Immunol Lett, 2002. 82(1-2): p. 85-91.
85. de Visser, K.E., A. Eichten, and L.M. Coussens, *Paradoxical roles of the immune system during cancer development*. Nat Rev Cancer, 2006. 6(1): p. 24-37.
86. Dunn, G.P., et al., *Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape*. Nat Immunol, 2002. 3(11): p. 991-8.
87. Murdoch, C., et al., *The role of myeloid cells in the promotion of tumour angiogenesis*. Nat Rev Cancer, 2008. 8(8): p. 618-31.
88. Sica, A., P. Allavena, and A. Mantovani, *Cancer related inflammation: the macrophage connection*. Cancer Lett, 2008. 267(2): p. 204-15.
89. Biswas, S.K. and A. Mantovani, *Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm*. Nat Immunol, 2010. 11(10): p. 889-96.
90. Schoppmann, S.F., et al., *Tumor-associated macrophages express lymphatic endothelial growth factors and are related to peritumoral lymphangiogenesis*. Am J Pathol, 2002. 161(3): p. 947-56.
91. Malmberg, K.J., et al., *NK cell-mediated targeting of human cancer and possibilities for new means of immunotherapy*. Cancer Immunol Immunother, 2008. 57(10): p. 1541-52.
92. Terme, M., W.H. Fridman, and E. Tartour, *NK cells from pleural effusions are potent antitumor effector cells*. Eur J Immunol, 2013. 43(2): p. 331-4.
93. Coca, S., et al., *The prognostic significance of intratumoral natural killer cells in patients with colorectal carcinoma*. Cancer, 1997. 79(12): p. 2320-8.
94. Tachibana, T., et al., *Increased intratumor Valpha24-positive natural killer T cells: a prognostic factor for primary colorectal carcinomas*. Clin Cancer Res, 2005. 11(20): p. 7322-7.
95. Pages, F., et al., *Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer*. N Engl J Med, 2005. 353(25): p. 2654-66.
96. Galon, J., et al., *Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome*. Science, 2006. 313(5795): p. 1960-4.

97. Grivennikov, S.I., F.R. Greten, and M. Karin, *Immunity, inflammation, and cancer*. Cell, 2010. 140(6): p. 883-99.
98. Yuan, Z.L., et al., *Central role of the threonine residue within the p+1 loop of receptor tyrosine kinase in STAT3 constitutive phosphorylation in metastatic cancer cells*. Mol Cell Biol, 2004. 24(21): p. 9390-400.
99. Yu, H., et al., *Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions*. Nat Rev Cancer, 2014. 14(11): p. 736-46.
100. Grivennikov, S.I. and M. Karin, *Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer*. Cytokine Growth Factor Rev, 2010. 21(1): p. 11-9.
101. Hellweg, C.E., et al., *Transcription Factors in the Cellular Response to Charged Particle Exposure*. Front Oncol, 2016. 6: p. 61.
102. Diakos, C.I., et al., *Cancer-related inflammation and treatment effectiveness*. Lancet Oncol, 2014. 15(11): p. e493-503.
103. Richards, C.H., et al., *The relationships between cellular components of the peritumoural inflammatory response, clinicopathological characteristics and survival in patients with primary operable colorectal cancer*. Br J Cancer, 2012. 106(12): p. 2010-5.
104. Guthrie, G.J., et al., *Circulating IL-6 concentrations link tumour necrosis and systemic and local inflammatory responses in patients undergoing resection for colorectal cancer*. Br J Cancer, 2013. 109(1): p. 131-7.
105. Lumachi, F., et al., *Preoperative serum C-reactive protein and its prognostic significance in patients with stage III-IV colorectal cancer*. Anticancer Res, 2014. 34(12): p. 7263-6.
106. Zhang, X.Y., et al., *The prognostic value of serum C-reactive protein-bound serum amyloid A in early-stage lung cancer*. Chin J Cancer, 2015. 34(8): p. 335-49.
107. Nimptsch, K., et al., *Association of CRP genetic variants with blood concentrations of C-reactive protein and colorectal cancer risk*. Int J Cancer, 2015. 136(5): p. 1181-92.
108. Proctor, M.J., et al., *A comparison of inflammation-based prognostic scores in patients with cancer. A Glasgow Inflammation Outcome Study*. Eur J Cancer, 2011. 47(17): p. 2633-41.
109. Matsuda, S., et al., *Cumulative prognostic scores based on plasma fibrinogen and serum albumin levels in esophageal cancer patients treated with transthoracic esophagectomy: comparison with the Glasgow prognostic score*. Ann Surg Oncol, 2015. 22(1): p. 302-10.
110. Kinoshita, A., et al., *The C-reactive protein/albumin ratio, a novel inflammation-based prognostic score, predicts outcomes in patients with hepatocellular carcinoma*. Ann Surg Oncol, 2015. 22(3): p. 803-10.

111. Rades, D., et al., *Prognostic factors affecting locally recurrent rectal cancer and clinical significance of hemoglobin*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2008. 70(4): p. 1087-93.
112. Harrison, L.B., D. Shasha, and P. Homel, *Prevalence of anemia in cancer patients undergoing radiotherapy: prognostic significance and treatment*. Oncology, 2002. 63 Suppl 2: p. 11-8.
113. Chen, M.H., et al., *Prognostic significance of a pretreatment hematologic profile in patients with head and neck cancer*. J Cancer Res Clin Oncol, 2009. 135(12): p. 1783-90.
114. Bishop, A.J., et al., *Relationship between low hemoglobin levels and outcomes after treatment with radiation or chemoradiation in patients with cervical cancer: has the impact of anemia been overstated?* Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2015. 91(1): p. 196-205.
115. Dunst, J., et al., *Anemia and elevated systemic levels of vascular endothelial growth factor (VEGF)*. Strahlenther Onkol, 2002. 178(8): p. 436-41.
116. Gray, L.H., et al., *The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of irradiation as a factor in radiotherapy*. Br J Radiol, 1953. 26(312): p. 638-48.
117. Harrison, L.B., et al., *Impact of tumor hypoxia and anemia on radiation therapy outcomes*. Oncologist, 2002. 7(6): p. 492-508.
118. Dunne, J.R., et al., *Preoperative anemia in colon cancer: assessment of risk factors*. Am Surg, 2002. 68(6): p. 582-7.
119. Yoon, S.M., et al., *Clinical parameters predicting pathologic tumor response after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer*. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2007. 69(4): p. 1167-72.
120. Khan, A.A., et al., *Association between pretreatment haemoglobin levels and morphometric characteristics of the tumour, response to neoadjuvant treatment and long-term outcomes in patients with locally advanced rectal cancers*. Colorectal Dis, 2013. 15(10): p. 1232-7.
121. Berardi, R., et al., *Anemia may influence the outcome of patients undergoing neoadjuvant treatment of rectal cancer*. Ann Oncol, 2006. 17(11): p. 1661-4.
122. Box, B., et al., *Neoadjuvant therapy for rectal cancer: improved tumor response, local recurrence, and overall survival in nonanemic patients*. Dis Colon Rectum, 2005. 48(6): p. 1153-60.
123. van Halteren, H.K., et al., *Anaemia prior to operation is related with poorer long-term survival in patients with operable rectal cancer*. Eur J Surg Oncol, 2004. 30(6): p. 628-32.
124. Yasuda, K., et al., *Laboratory blood data have a significant impact on tumor response and outcome in preoperative chemoradiotherapy for advanced rectal cancer*. J Gastrointest Cancer, 2012. 43(2): p. 236-43.

125. Walter, C.J., et al., *Prevalence and significance of anaemia in patients receiving long-course neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal carcinoma*. *Colorectal Dis*, 2013. 15(1): p. 52-6.
126. Lee, H., et al., *Negative impact of pretreatment anemia on local control after neoadjuvant chemoradiotherapy and surgery for rectal cancer*. *Radiat Oncol J*, 2012. 30(3): p. 117-23.
127. Armstrong, D., et al., *Predictors of Pathologic Complete Response After Neoadjuvant Treatment for Rectal Cancer: A Multicenter Study*. *Clin Colorectal Cancer*, 2015. 14(4): p. 291-5.
128. Sierko, E. and M.Z. Wojtukiewicz, *Platelets and angiogenesis in malignancy*. *Semin Thromb Hemost*, 2004. 30(1): p. 95-108.
129. Bambace, N.M. and C.E. Holmes, *The platelet contribution to cancer progression*. *J Thromb Haemost*, 2011. 9(2): p. 237-49.
130. Hoffman, R., *Hematology : basic principles and practice*. 6th ed. 2013, Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier. xxxi, 2343 p.
131. Zaidel-Bar, R., et al., *Functional atlas of the integrin adhesome*. *Nat Cell Biol*, 2007. 9(8): p. 858-67.
132. Grignani, G., et al., *Mechanisms of platelet activation by cultured human cancer cells and cells freshly isolated from tumor tissues*. *Invasion Metastasis*, 1989. 9(5): p. 298-309.
133. Menashi, S., et al., *Modulation of endothelial cells fibrinolytic activity by platelets*. *Thromb Haemost*, 1991. 65(1): p. 77-81.
134. Kopp, H.G., T. Placke, and H.R. Salih, *Platelet-derived transforming growth factor-beta down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity*. *Cancer Res*, 2009. 69(19): p. 7775-83.
135. Folkman, J., *Tumor angiogenesis: therapeutic implications*. *N Engl J Med*, 1971. 285(21): p. 1182-6.
136. Peterson, J.E., et al., *Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets*. *Am J Hematol*, 2010. 85(7): p. 487-93.
137. Pietramaggiore, G., et al., *Tumors stimulate platelet delivery of angiogenic factors in vivo: an unexpected benefit*. *Am J Pathol*, 2008. 173(6): p. 1609-16.
138. Shimada, H., et al., *Thrombocytosis associated with poor prognosis in patients with esophageal carcinoma*. *J Am Coll Surg*, 2004. 198(5): p. 737-41.
139. Ikeda, M., et al., *Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with gastric cancer*. *Ann Surg Oncol*, 2002. 9(3): p. 287-91.

140. Gorelick, C., et al., *Prognostic significance of preoperative thrombocytosis in patients with endometrial carcinoma in an inner-city population*. Int J Gynecol Cancer, 2009. 19(8): p. 1384-9.
141. Stone, R.L., et al., *Paraneoplastic thrombocytosis in ovarian cancer*. N Engl J Med, 2012. 366(7): p. 610-8.
142. Hernandez, E., et al., *The significance of thrombocytosis in patients with locally advanced cervical carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study*. Gynecol Oncol, 2000. 78(2): p. 137-42.
143. Tomita, M., et al., *Prognostic impact of thrombocytosis in resectable non-small cell lung cancer*. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2008. 7(4): p. 613-5.
144. Symbas, N.P., et al., *Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with renal cell carcinoma*. BJU Int, 2000. 86(3): p. 203-7.
145. Taucher, S., et al., *Impact of pretreatment thrombocytosis on survival in primary breast cancer*. Thromb Haemost, 2003. 89(6): p. 1098-106.
146. Cravioto-Villanueva, A., et al., *Thrombocytosis as a predictor of distant recurrence in patients with rectal cancer*. Arch Med Res, 2012. 43(4): p. 305-11.
147. Kawai, K., et al., *Thrombocytosis before pre-operative chemoradiotherapy predicts poor response and shorter local recurrence-free survival in rectal cancer*. Int J Colorectal Dis, 2013. 28(4): p. 527-35.
148. Kim, H.J., et al., *Clinical significance of thrombocytosis before preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer: predicting pathologic tumor response and oncologic outcome*. Ann Surg Oncol, 2015. 22(2): p. 513-9.
149. Azab, B., et al., *Neutrophil-lymphocyte ratio as a predictor of adverse outcomes of acute pancreatitis*. Pancreatology, 2011. 11(4): p. 445-52.
150. Park, J.J., et al., *Prognostic value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients presenting with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention*. Am J Cardiol, 2013. 111(5): p. 636-42.
151. Liu, X., et al., *Prognostic Significance of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Sepsis: A Prospective Observational Study*. Mediators Inflamm, 2016. 2016: p. 8191254.
152. Zahorec, R., *Ratio of neutrophil to lymphocyte counts--rapid and simple parameter of systemic inflammation and stress in critically ill*. Bratisl Lek Listy, 2001. 102(1): p. 5-14.
153. Saliccioli, J.D., et al., *The association between the neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in critical illness: an observational cohort study*. Crit Care, 2015. 19: p. 13.

154. Templeton, A.J., et al., *Prognostic role of platelet to lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014. 23(7): p. 1204-12.
155. Li, M.X., et al., *Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis*. *Int J Cancer*, 2014. 134(10): p. 2403-13.
156. Malietzis, G., et al., *The emerging role of neutrophil to lymphocyte ratio in determining colorectal cancer treatment outcomes: a systematic review and meta-analysis*. *Ann Surg Oncol*, 2014. 21(12): p. 3938-46.
157. el-Hag, A. and R.A. Clark, *Immunosuppression by activated human neutrophils. Dependence on the myeloperoxidase system*. *J Immunol*, 1987. 139(7): p. 2406-13.
158. Gooden, M.J., et al., *The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis*. *Br J Cancer*, 2011. 105(1): p. 93-103.
159. Chua, W., et al., *Neutrophil/lymphocyte ratio predicts chemotherapy outcomes in patients with advanced colorectal cancer*. *Br J Cancer*, 2011. 104(8): p. 1288-95.
160. Halazun, K.J., et al., *Elevated preoperative neutrophil to lymphocyte ratio predicts survival following hepatic resection for colorectal liver metastases*. *Eur J Surg Oncol*, 2008. 34(1): p. 55-60.
161. Walsh, S.R., et al., *Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer*. *J Surg Oncol*, 2005. 91(3): p. 181-4.
162. Liu, H., et al., *The baseline ratio of neutrophils to lymphocytes is associated with patient prognosis in rectal carcinoma*. *J Gastrointest Cancer*, 2010. 41(2): p. 116-20.
163. Chiang, S.F., et al., *Can neutrophil-to-lymphocyte ratio predict the survival of colorectal cancer patients who have received curative surgery electively?* *Int J Colorectal Dis*, 2012. 27(10): p. 1347-57.
164. Mallappa, S., et al., *Preoperative neutrophil to lymphocyte ratio >5 is a prognostic factor for recurrent colorectal cancer*. *Colorectal Dis*, 2013. 15(3): p. 323-8.
165. Kwon, H.C., et al., *Clinical significance of preoperative neutrophil-lymphocyte versus platelet-lymphocyte ratio in patients with operable colorectal cancer*. *Biomarkers*, 2012. 17(3): p. 216-22.
166. Jankova, L., et al., *Preoperative neutrophil/lymphocyte ratio predicts overall survival but does not predict recurrence or cancer-specific survival after curative resection of node-positive colorectal cancer*. *BMC Cancer*, 2013. 13: p. 442.
167. Absenger, G., et al., *A derived neutrophil to lymphocyte ratio predicts clinical outcome in stage II and III colon cancer patients*. *Br J Cancer*, 2013. 109(2): p. 395-400.

168. Ozdemir, Y., et al., *Pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio as a prognostic aid in colorectal cancer*. Asian Pac J Cancer Prev, 2014. 15(6): p. 2647-50.
169. Kitayama, J., et al., *Circulating lymphocyte is an important determinant of the effectiveness of preoperative radiotherapy in advanced rectal cancer*. BMC Cancer, 2011. 11: p. 64.
170. Krauthamer, M., et al., *A study of inflammation-based predictors of tumor response to neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer*. Oncology, 2013. 85(1): p. 27-32.
171. Shen, L., et al., *Baseline neutrophil-lymphocyte ratio (≥ 2.8) as a prognostic factor for patients with locally advanced rectal cancer undergoing neoadjuvant chemoradiation*. Radiat Oncol, 2014. 9: p. 295.
172. Kim, I.Y., S.H. You, and Y.W. Kim, *Neutrophil-lymphocyte ratio predicts pathologic tumor response and survival after preoperative chemoradiation for rectal cancer*. BMC Surg, 2014. 14: p. 94.
173. Polli, L.V. and M. Pinho, *Analysis of neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic element in the response to neoadjuvant therapy in rectal cancer*. Journal of Coloproctology, 2015. 35(1): p. 3-7.
174. Zhou, X., et al., *Prognostic value of PLR in various cancers: a meta-analysis*. PLoS One, 2014. 9(6): p. e101119.
175. Xin-Ji, Z., et al., *The prognostic role of neutrophils to lymphocytes ratio and platelet count in gastric cancer: A meta-analysis*. Int J Surg, 2015. 21: p. 84-91.
176. Gu, X., et al., *Prognostic value of platelet to lymphocyte ratio in non-small cell lung cancer: evidence from 3,430 patients*. Sci Rep, 2016. 6: p. 23893.
177. Qiang, G., et al., *Prognostic significance of platelet-to-lymphocyte ratio in non-small-cell lung cancer: a meta-analysis*. Onco Targets Ther, 2016. 9: p. 869-76.
178. Zhang, H., et al., *Prognostic value of platelet to lymphocyte ratio in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis*. Sci Rep, 2016. 6: p. 22618.
179. Zhao, Q.T., et al., *Prognostic role of platelet to lymphocyte ratio in non-small cell lung cancers: A meta-analysis including 3,720 patients*. Int J Cancer, 2016. 139(1): p. 164-70.
180. He, W., et al., *Initial neutrophil lymphocyte ratio is superior to platelet lymphocyte ratio as an adverse prognostic and predictive factor in metastatic colorectal cancer*. Med Oncol, 2013. 30(1): p. 439.
181. Toiyama, Y., et al., *Elevated platelet count as predictor of recurrence in rectal cancer patients undergoing preoperative chemoradiotherapy followed by surgery*. Int Surg, 2015. 100(2): p. 199-207.
182. Hall, J.E., *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. 13th edition. ed. 2016, Philadelphia, PA: Elsevier. xix, 1145 pages.

183. Burn, J., et al., *Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis from the CAPP2 randomised controlled trial*. Lancet, 2011. 378(9809): p. 2081-7.
184. Friis, S., et al., *Low-Dose Aspirin or Nonsteroidal Anti-inflammatory Drug Use and Colorectal Cancer Risk: A Population-Based, Case-Control Study*. Ann Intern Med, 2015. 163(5): p. 347-55.
185. Cha, Y.I. and R.N. DuBois, *NSAIDs and cancer prevention: targets downstream of COX-2*. Annu Rev Med, 2007. 58: p. 239-52.
186. Auman, J.T., et al., *Celecoxib pre-treatment in human colorectal adenocarcinoma patients is associated with gene expression alterations suggestive of diminished cellular proliferation*. Eur J Cancer, 2008. 44(12): p. 1754-60.
187. Thun, M.J., E.J. Jacobs, and C. Patrono, *The role of aspirin in cancer prevention*. Nat Rev Clin Oncol, 2012. 9(5): p. 259-67.
188. Huang, H.S. and H.H. Chang, *Platelets in inflammation and immune modulations: functions beyond hemostasis*. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2012. 60(6): p. 443-51.
189. Liao, X., et al., *Aspirin use, tumor PIK3CA mutation, and colorectal-cancer survival*. N Engl J Med, 2012. 367(17): p. 1596-606.
190. Lonnröth, C., et al., *Preoperative treatment with a non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) increases tumor tissue infiltration of seemingly activated immune cells in colorectal cancer*. Cancer Immun, 2008. 8: p. 5.
191. Solheim, T.S., et al., *Non-steroidal anti-inflammatory treatment in cancer cachexia: a systematic literature review*. Acta Oncol, 2013. 52(1): p. 6-17.
192. Howard-Alpe, G., P. Foex, and B. Biccari, *Cardiovascular protection by anti-inflammatory statin therapy*. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2008. 22(1): p. 111-33.
193. Bonovas, S., et al., *Statins and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of 18 studies involving more than 1.5 million patients*. J Clin Oncol, 2007. 25(23): p. 3462-8.
194. Wachtershauser, A., B. Akoglu, and J. Stein, *HMG-CoA reductase inhibitor mevastatin enhances the growth inhibitory effect of butyrate in the colorectal carcinoma cell line Caco-2*. Carcinogenesis, 2001. 22(7): p. 1061-7.
195. Skaletz-Rorowski, A. and K. Walsh, *Statin therapy and angiogenesis*. Curr Opin Lipidol, 2003. 14(6): p. 599-603.
196. Kwak, B., et al., *Statins as a newly recognized type of immunomodulator*. Nat Med, 2000. 6(12): p. 1399-402.
197. Tonnesen, H., et al., *Effect of cimetidine on survival after gastric cancer*. Lancet, 1988. 2(8618): p. 990-2.

198. Boer, K., et al., *Decreased expression of histamine H1 and H4 receptors suggests disturbance of local regulation in human colorectal tumours by histamine*. Eur J Cell Biol, 2008. 87(4): p. 227-36.
199. Harvey, V.J., et al., *The influence of cimetidine on the pharmacokinetics of 5-fluorouracil*. Br J Clin Pharmacol, 1984. 18(3): p. 421-30.
200. Cianchi, F., et al., *The role of cyclooxygenase-2 in mediating the effects of histamine on cell proliferation and vascular endothelial growth factor production in colorectal cancer*. Clin Cancer Res, 2005. 11(19 Pt 1): p. 6807-15.
201. Kelly, M.D., et al., *Randomized trial of preoperative cimetidine in patients with colorectal carcinoma with quantitative assessment of tumor-associated lymphocytes*. Cancer, 1999. 85(8): p. 1658-63.
202. Nielsen, H.J., F. Moesgaard, and J.H. Hammer, *Effect of ranitidine and low-dose interleukin-2 in vitro on NK-cell activity in peripheral blood from patients with liver metastases from colorectal cancer*. Eur J Surg Oncol, 1995. 21(5): p. 526-30.
203. Hurwitz, H., et al., *Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer*. N Engl J Med, 2004. 350(23): p. 2335-42.
204. Saltz, L.B., et al., *Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study*. J Clin Oncol, 2008. 26(12): p. 2013-9.
205. Van Cutsem, E., et al., *Addition of aflibercept to fluorouracil, leucovorin, and irinotecan improves survival in a phase III randomized trial in patients with metastatic colorectal cancer previously treated with an oxaliplatin-based regimen*. J Clin Oncol, 2012. 30(28): p. 3499-506.
206. Ohm, J.E., et al., *VEGF inhibits T-cell development and may contribute to tumor-induced immune suppression*. Blood, 2003. 101(12): p. 4878-86.
207. Gabrilovich, D.I., et al., *Antibodies to vascular endothelial growth factor enhance the efficacy of cancer immunotherapy by improving endogenous dendritic cell function*. Clin Cancer Res, 1999. 5(10): p. 2963-70.
208. Mimura, K., et al., *Vascular endothelial growth factor inhibits the function of human mature dendritic cells mediated by VEGF receptor-2*. Cancer Immunol Immunother, 2007. 56(6): p. 761-70.
209. Fricke, I., et al., *Vascular endothelial growth factor-trap overcomes defects in dendritic cell differentiation but does not improve antigen-specific immune responses*. Clin Cancer Res, 2007. 13(16): p. 4840-8.
210. Van Cutsem, E., et al., *Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. Ann Oncol, 2014. 25 Suppl 3: p. iii1-9.
211. Bibeau, F., et al., *Impact of Fc{gamma}RIIa-Fc{gamma}RIIIa polymorphisms and KRAS mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal*

- cancer treated with cetuximab plus irinotecan.* J Clin Oncol, 2009. 27(7): p. 1122-9.
212. Trivedi, S., et al., *Immune biomarkers of anti-EGFR monoclonal antibody therapy.* Ann Oncol, 2015. 26(1): p. 40-7.
 213. Dechant, M., et al., *Complement-dependent tumor cell lysis triggered by combinations of epidermal growth factor receptor antibodies.* Cancer Res, 2008. 68(13): p. 4998-5003.
 214. Srivastava, R.M., et al., *Cetuximab-activated natural killer and dendritic cells collaborate to trigger tumor antigen-specific T-cell immunity in head and neck cancer patients.* Clin Cancer Res, 2013. 19(7): p. 1858-72.
 215. Kumar, P., *Impact of Anemia in Patients With Head and Neck Cancer.* Oncologist, 2000. 5 Suppl 2: p. 13-18.
 216. Grogan, M., et al., *The importance of hemoglobin levels during radiotherapy for carcinoma of the cervix.* Cancer, 1999. 86(8): p. 1528-36.
 217. Zhang, F., et al., *A retrospective study: the prevalence and prognostic value of anemia in patients undergoing radiotherapy for esophageal squamous cell carcinoma.* World J Surg Oncol, 2014. 12: p. 244.
 218. Park, S.H., et al., *Anemia is the strongest prognostic factor for outcomes of 5-fluorouracil-based first-line chemotherapy in patients with advanced gastric cancer.* Cancer Chemother Pharmacol, 2006. 57(1): p. 91-6.
 219. DeVita, V.T.J.a., T.S.a. Lawrence, and S.A.a. Rosenberg, *DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology.* 10th ed.
 220. Hoff, C.M., et al., *The importance of haemoglobin level and effect of transfusion in HNSCC patients treated with radiotherapy--results from the randomized DAHANCA 5 study.* Radiother Oncol, 2011. 98(1): p. 28-33.
 221. Leo, C., et al., *Expression of erythropoietin and erythropoietin receptor in cervical cancer and relationship to survival, hypoxia, and apoptosis.* Clin Cancer Res, 2006. 12(23): p. 6894-900.
 222. Dagnon, K., et al., *Expression of erythropoietin and erythropoietin receptor in non-small cell lung carcinomas.* Clin Cancer Res, 2005. 11(3): p. 993-9.
 223. Bohlius, J., et al., *Erythropoietin or Darbepoetin for patients with cancer--meta-analysis based on individual patient data.* Cochrane Database Syst Rev, 2009(3): p. CD007303.
 224. Bohlius, J., et al., *Recombinant human erythropoiesis-stimulating agents and mortality in patients with cancer: a meta-analysis of randomised trials.* Lancet, 2009. 373(9674): p. 1532-42.
 225. Schumacher, T.N. and R.D. Schreiber, *Neoantigens in cancer immunotherapy.* Science, 2015. 348(6230): p. 69-74.

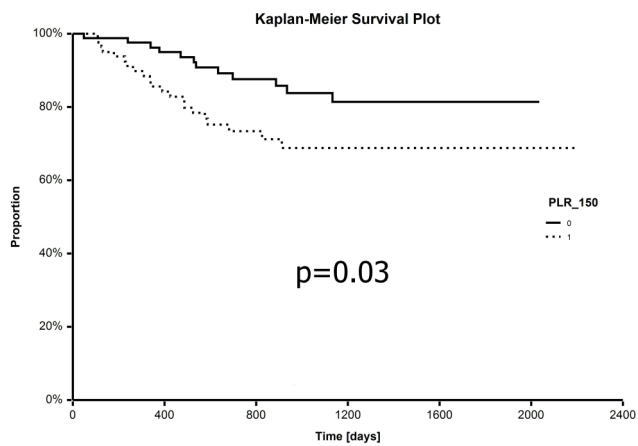
226. Golden, E.B. and L. Apetoh, *Radiotherapy and immunogenic cell death*. *Semin Radiat Oncol*, 2015. 25(1): p. 11-7.
227. Pozzi, C., et al., *The EGFR-specific antibody cetuximab combined with chemotherapy triggers immunogenic cell death*. *Nat Med*, 2016.
228. Hodge, J.W., et al., *Chemotherapy-induced immunogenic modulation of tumor cells enhances killing by cytotoxic T lymphocytes and is distinct from immunogenic cell death*. *Int J Cancer*, 2013. 133(3): p. 624-36.
229. Golden, E.B., et al., *An abscopal response to radiation and ipilimumab in a patient with metastatic non-small cell lung cancer*. *Cancer Immunol Res*, 2013. 1(6): p. 365-72.
230. Stamell, E.F., et al., *The abscopal effect associated with a systemic anti-melanoma immune response*. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2013. 85(2): p. 293-5.
231. Michielsen, A.J., E.J. Ryan, and J.N. O'Sullivan, *Dendritic cell inhibition correlates with survival of colorectal cancer patients on bevacizumab treatment*. *Oncoimmunology*, 2012. 1(8): p. 1445-1447.
232. Correale, P., et al., *Gemcitabine, oxaliplatin, levofolinate, 5-fluorouracil, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interleukin-2 (GOLFIG) versus FOLFOX chemotherapy in metastatic colorectal cancer patients: the GOLFIG-2 multicentric open-label randomized phase III trial*. *J Immunother*, 2014. 37(1): p. 26-35.
233. Golden, E.B., et al., *Local radiotherapy and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to generate abscopal responses in patients with metastatic solid tumours: a proof-of-principle trial*. *Lancet Oncol*, 2015. 16(7): p. 795-803.
234. Kim, H., et al., *Clinical and pathological characteristics of sporadic colorectal carcinomas with DNA replication errors in microsatellite sequences*. *Am J Pathol*, 1994. 145(1): p. 148-56.
235. Le, D.T., et al., *PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency*. *N Engl J Med*, 2015. 372(26): p. 2509-20.
236. Paleari, L., et al., *PIK3CA Mutation, Aspirin Use after Diagnosis and Survival of Colorectal Cancer. A Systematic Review and Meta-analysis of Epidemiological Studies*. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2016. 28(5): p. 317-26.
237. Gustafsson, A., et al., *EPI-4 subtype, COX and PPAR gamma receptor expression in colorectal cancer in prediction of disease-specific mortality*. *Int J Cancer*, 2007. 121(2): p. 232-40.
238. Nasir, A., et al., *Cyclooxygenase-2 expression in right- and left-sided colon cancer: a rationale for optimization of cyclooxygenase-2 inhibitor therapy*. *Clin Colorectal Cancer*, 2004. 3(4): p. 243-7.
239. Hei, T.K., et al., *Radiation induced non-targeted response: mechanism and potential clinical implications*. *Curr Mol Pharmacol*, 2011. 4(2): p. 96-105.

240. Wang, L.W., et al., *Celecoxib plus chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: a phase II TCOG study*. J Surg Oncol, 2014. 109(6): p. 580-5.
241. Malik, I., et al., *A phase I study of capecitabine, irinotecan, celecoxib, and radiation as neoadjuvant therapy of patients with locally advanced rectal cancer*. Am J Clin Oncol, 2010. 33(3): p. 242-5.
242. Jakobsen, A., et al., *A COX-2 inhibitor combined with chemoradiation of locally advanced rectal cancer: a phase II trial*. Int J Colorectal Dis, 2008. 23(3): p. 251-5.
243. Debucquoy, A., et al., *Double blind randomized phase II study with radiation+5-fluorouracil+/-celecoxib for resectable rectal cancer*. Radiother Oncol, 2009. 93(2): p. 273-8.
244. Bouzourene, H., et al., *The role of COX-2 in rectal cancer treated with preoperative radiotherapy*. Virchows Arch, 2008. 452(5): p. 499-505.

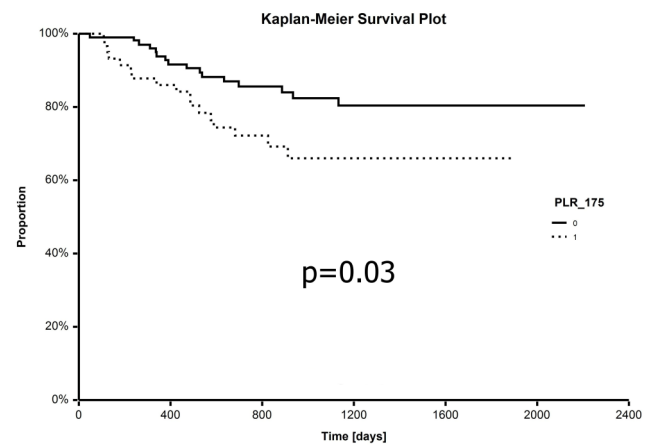
11. Přílohy

V kapitole příloh jsou zařazeny jednotlivé grafy intervalů přežití (DSF a OS) pro různé zkoumané charakteristiky tumoru, nádorové odpovědi na léčbu a vstupní hematologické hodnoty. Zařazeny jsou pouze charakteristiky jejichž vliv na OS a DSF byl statisticky signifikantní.

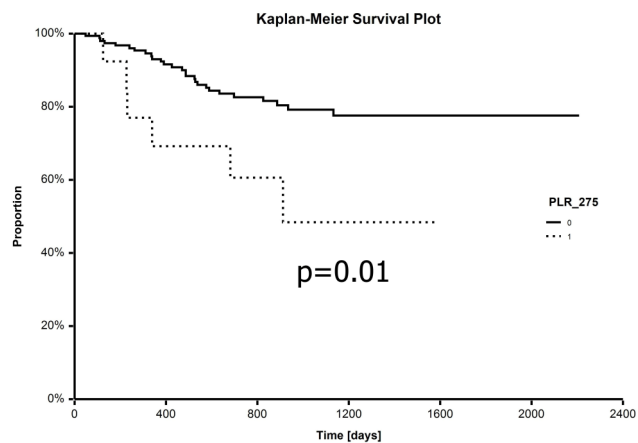
Příloha 1: Vliv konkrétních signifikantních hodnot parametru PLR na DFS .



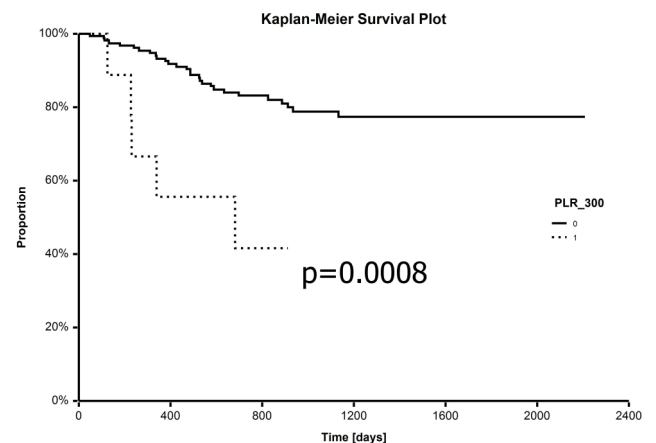
Vliv hodnoty PLR 150 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



Vliv hodnoty PLR 175 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

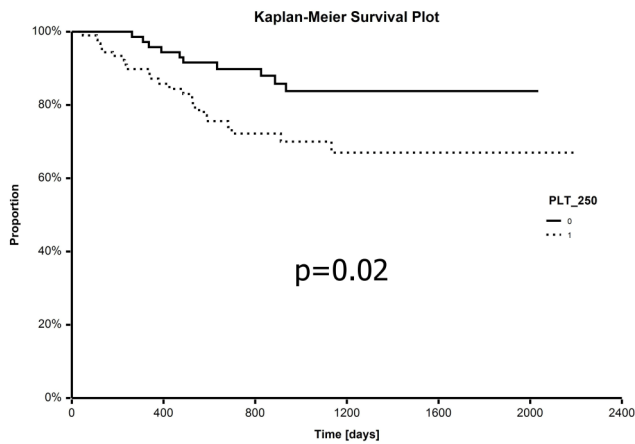


Vliv hodnoty PLR 275 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

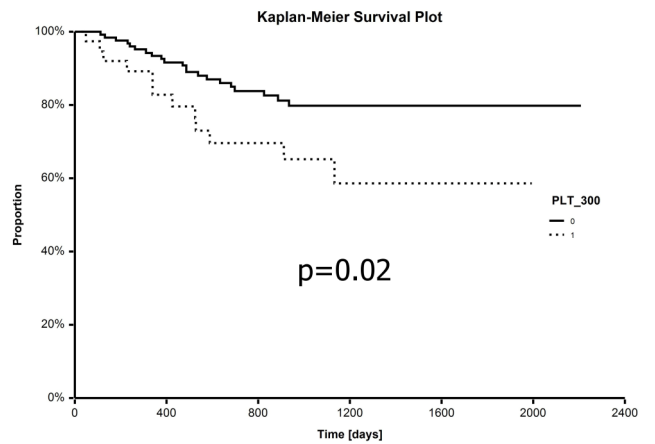


Vliv hodnoty PLR 300 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

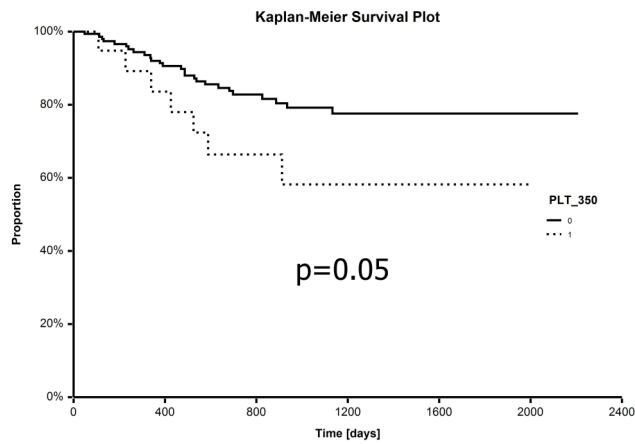
Příloha 2: Vliv konkrétních signifikantních hodnot parametru PLT na DFS.



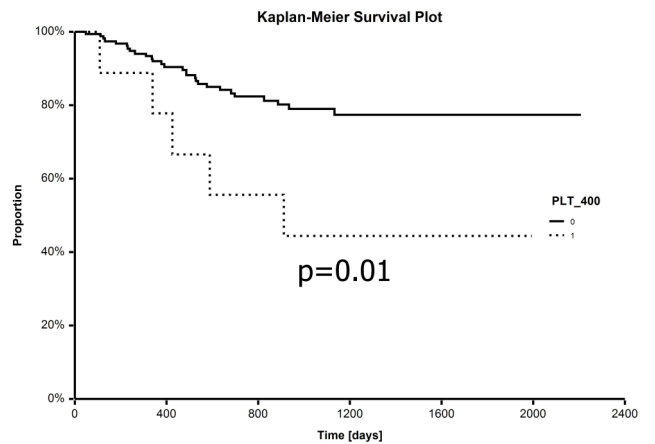
Vliv hodnoty PLT 250 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



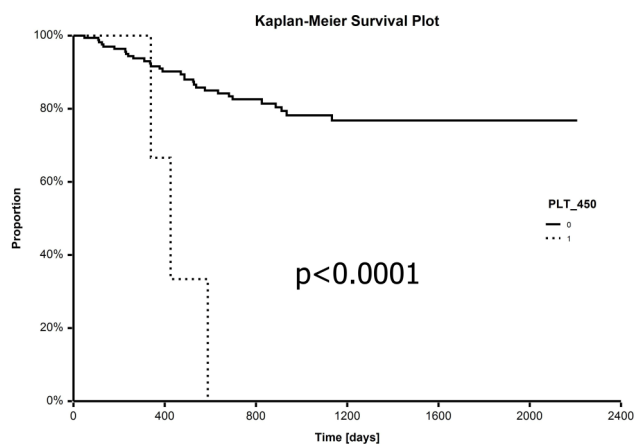
Vliv hodnoty PLT 300 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



Vliv hodnoty PLT 350 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

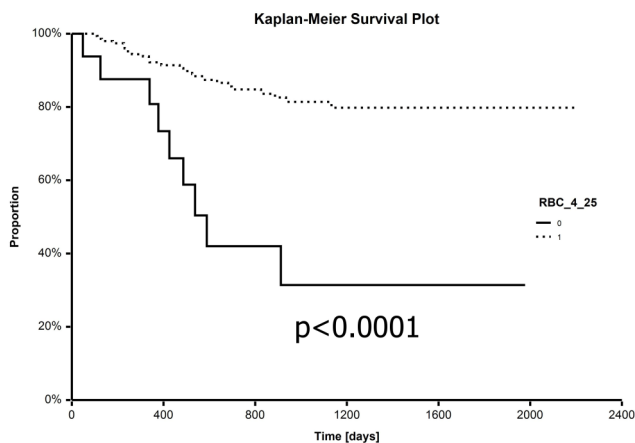


Vliv hodnoty PLT 400 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

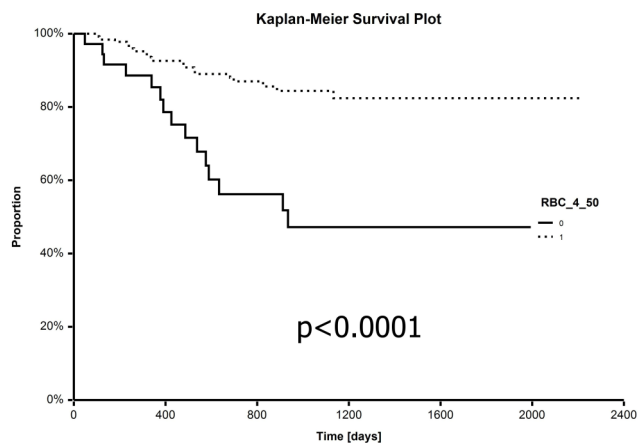


Vliv hodnoty PLT 450 na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

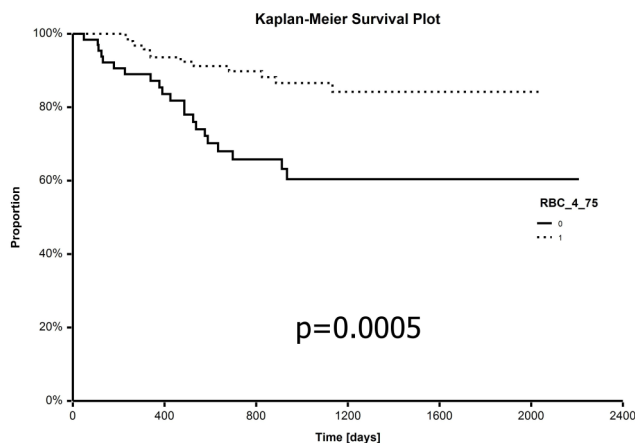
Příloha 3: Vliv konkrétních signifikantních hodnot parametru RCB na DFS.



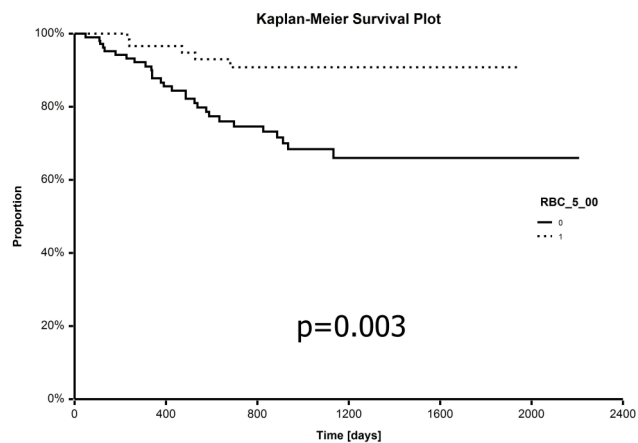
Vliv hodnoty RCB 4.25 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



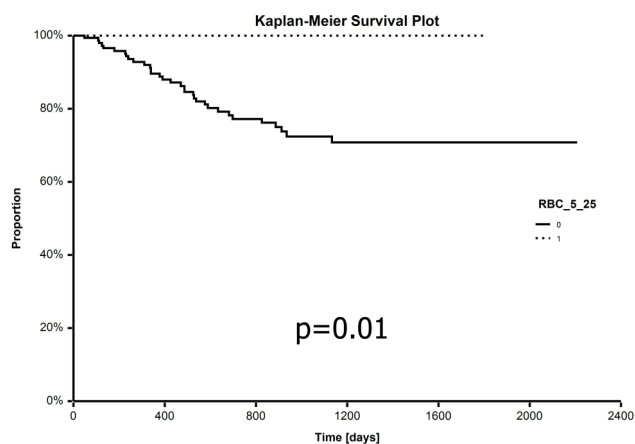
Vliv hodnoty RCB 4.50 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



Vliv hodnoty RCB 4.75 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

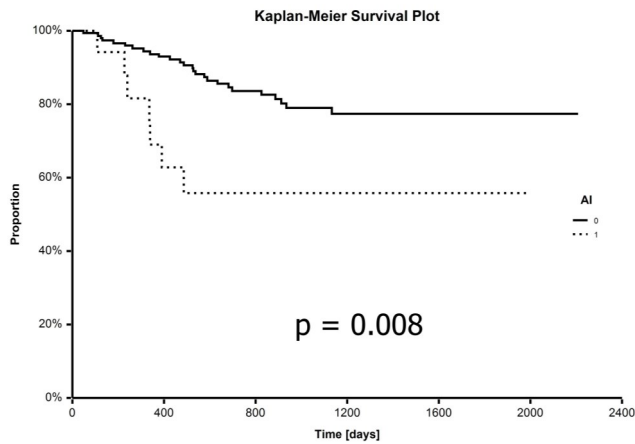


Vliv hodnoty RCB 5.00 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

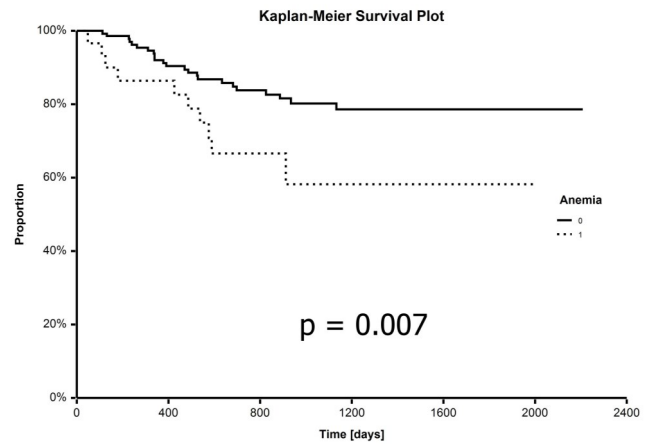


Vliv hodnoty RCB 5.25 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

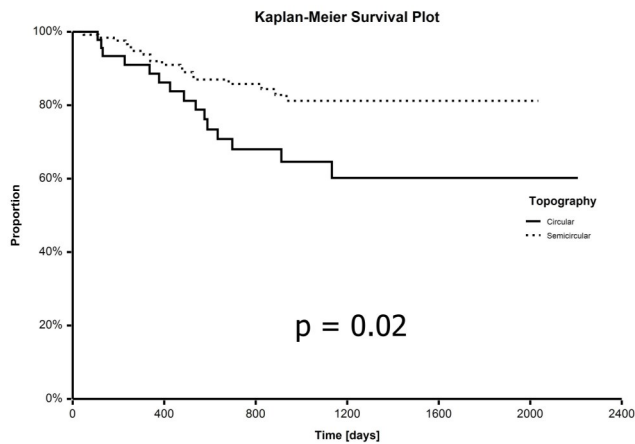
Příloha 4: Vliv variabilních signifikantních parametrů nádoru a nádorové odpovědi na DFS. (část 1/3)



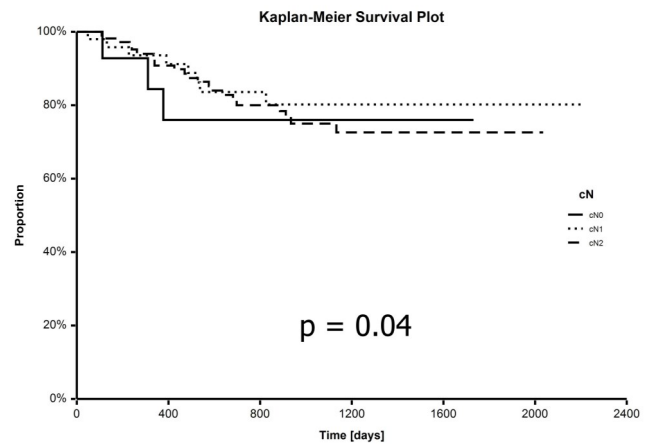
Vliv přítomnosti angioinvyze na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza , zdrojová tabulka v kapitole 6).



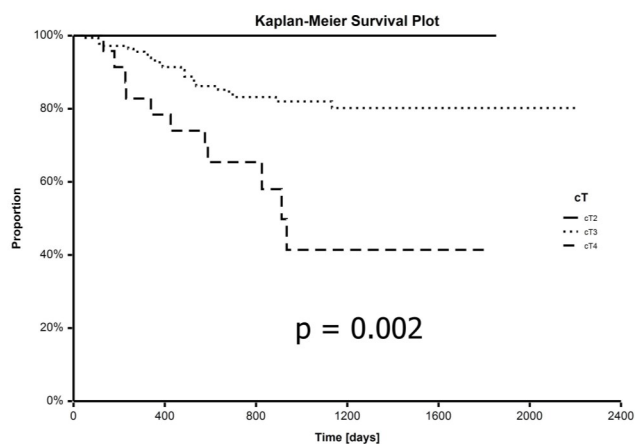
Vliv přítomnosti anemie na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza , zdrojová tabulka v kapitole 6).



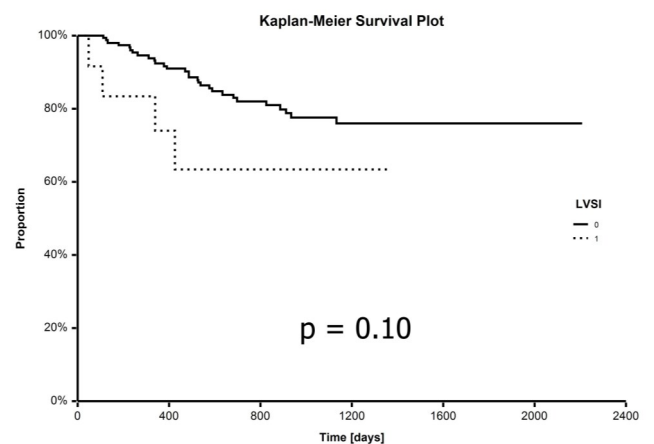
Vliv cirkulárního rozsahu tumoru na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza , zdrojová tabulka v kapitole 6).



Vliv cN stádia na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza , zdrojová tabulka v kapitole 6).

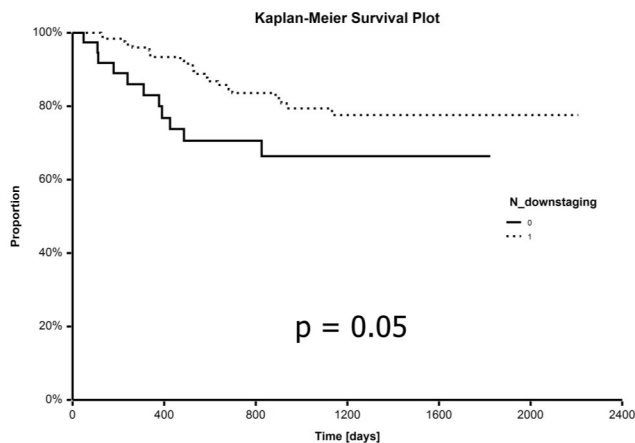


Vliv cT stádia na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza , zdrojová tabulka v kapitole 6).

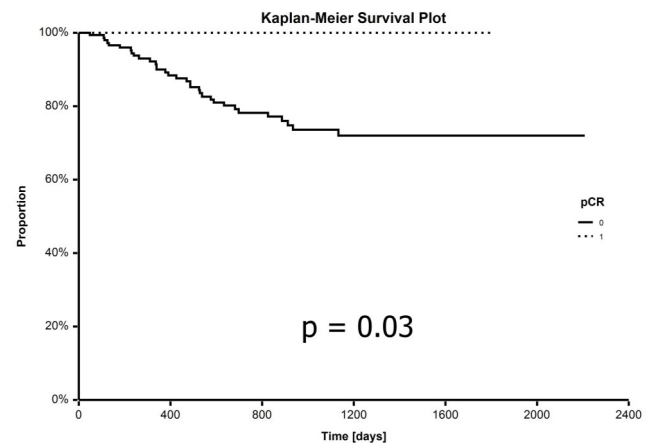


Vliv přítomnosti lymfangioinvyze na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza , zdrojová tabulka v kapitole 6).

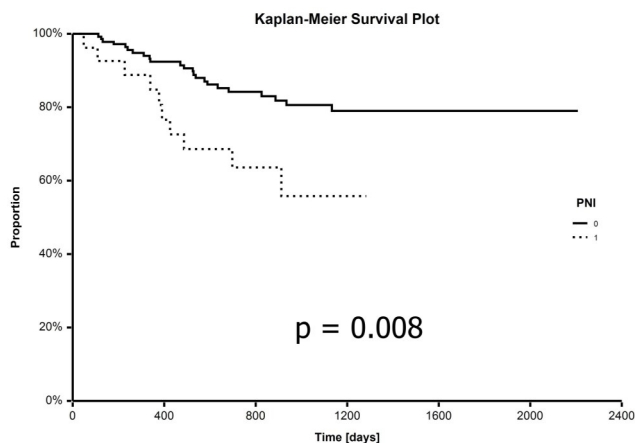
Příloha 4: Vliv variabilních signifikantních parametrů nádoru a nádorové odpovědi na DFS. (část 2/3)



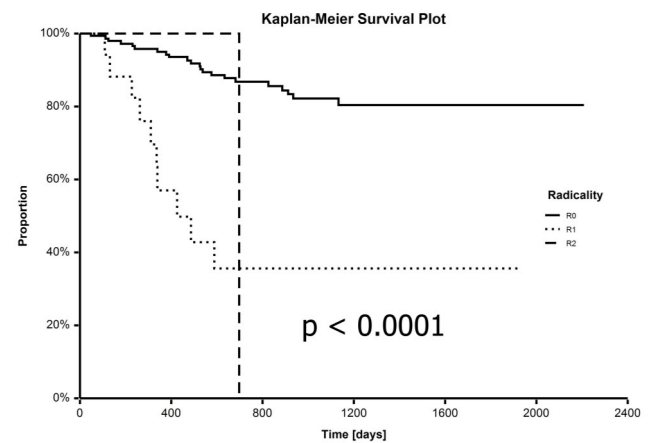
Vliv N-downstagingu na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



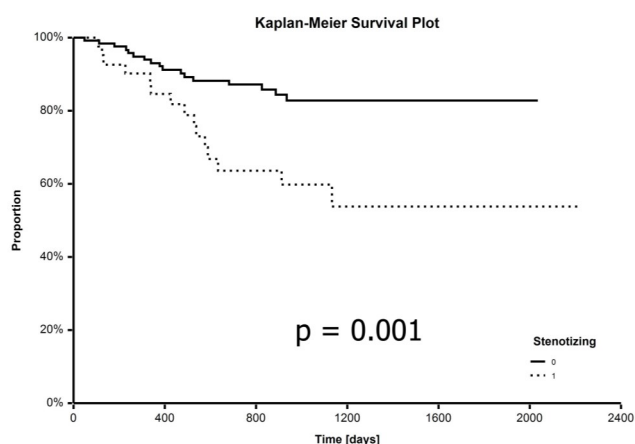
Vliv indukce pCR na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



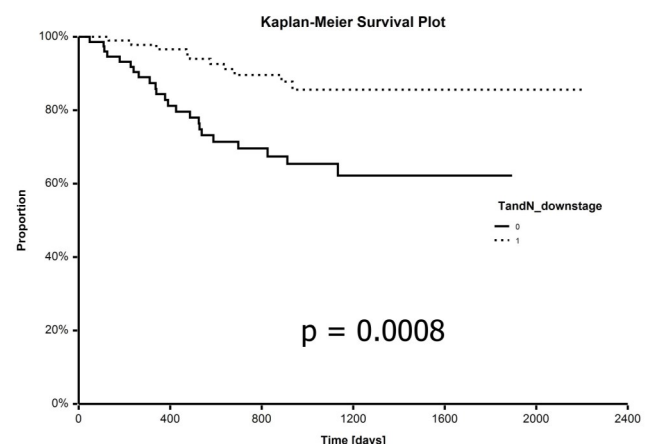
Vliv přítomnosti perineurální invaze na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



Vliv radikality resekce na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

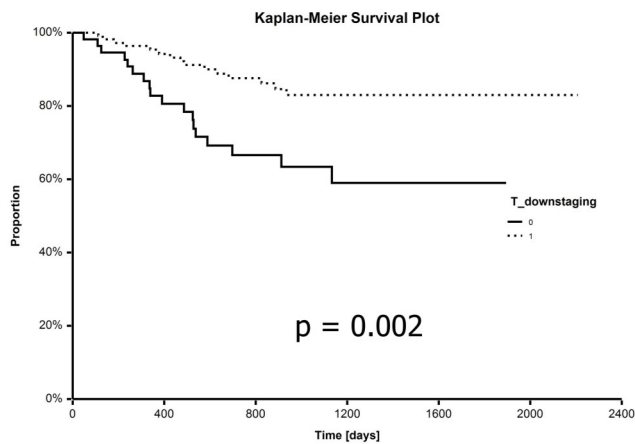


Vliv přítomnosti stenozujícího tumoru na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

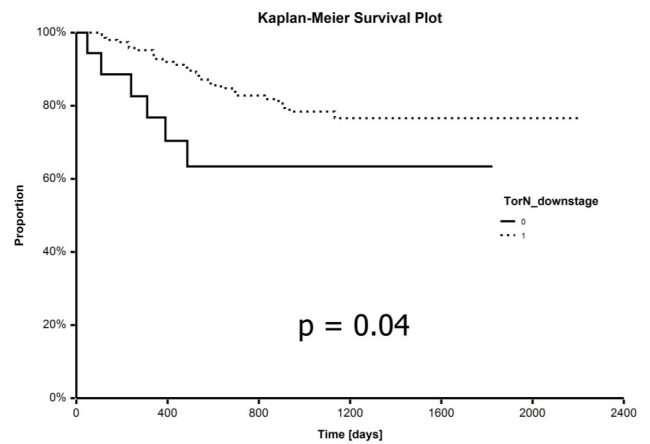


Vliv přítomnosti současného T a N downstagingu na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

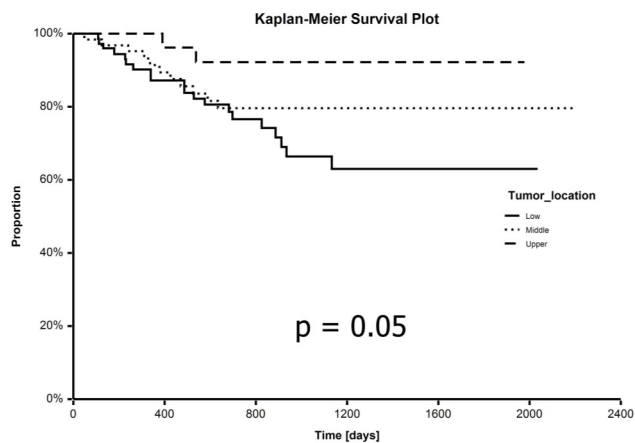
Příloha 4: Vliv variabilních signifikantních parametrů nádoru a nádorové odpovědi na DFS. (část 3/3)



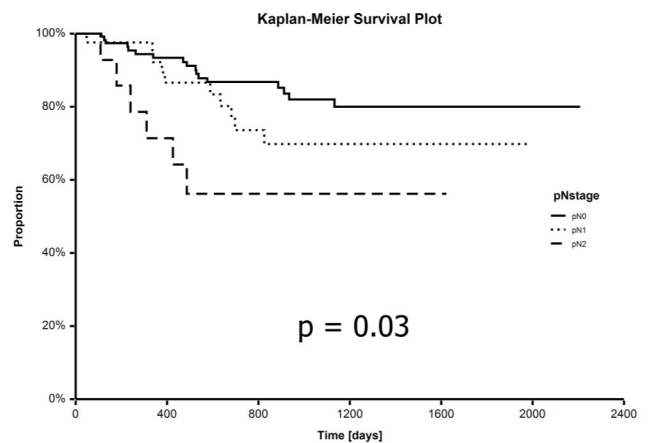
Vliv přítomnosti T-downstagingu na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



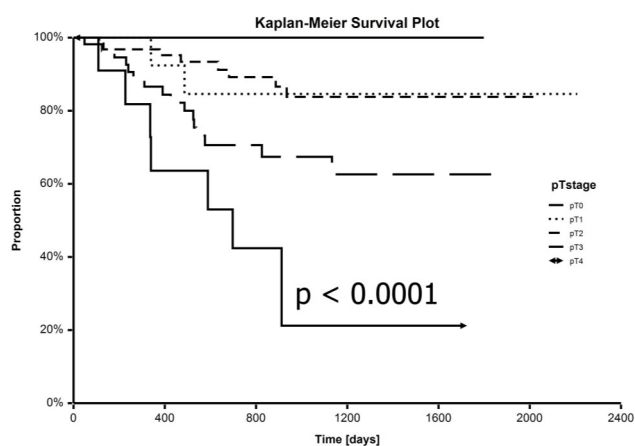
Vliv přítomnosti T nebo N downstagingu na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



Vliv lokalizace tumoru na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

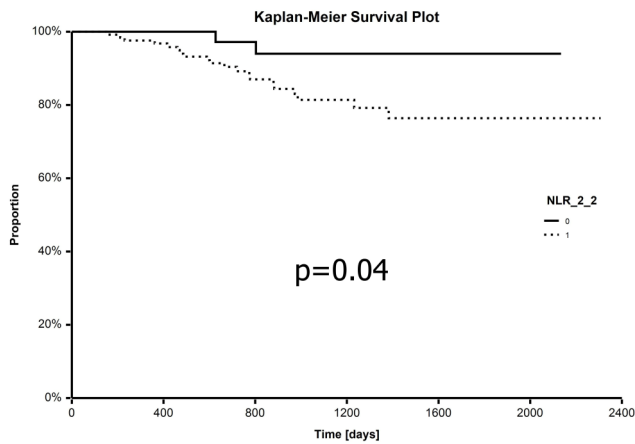


Vliv přítomnosti ypN stadia na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

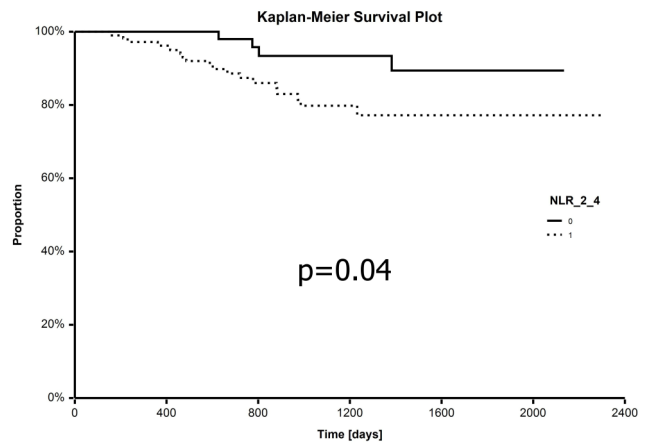


Vliv přítomnost ypT stádia na interval DSF (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

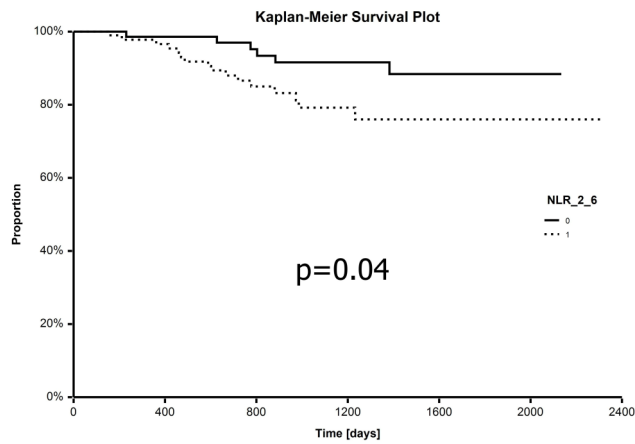
Příloha 5: Vliv konkrétních signifikantních hodnot parametru NLR na OS.



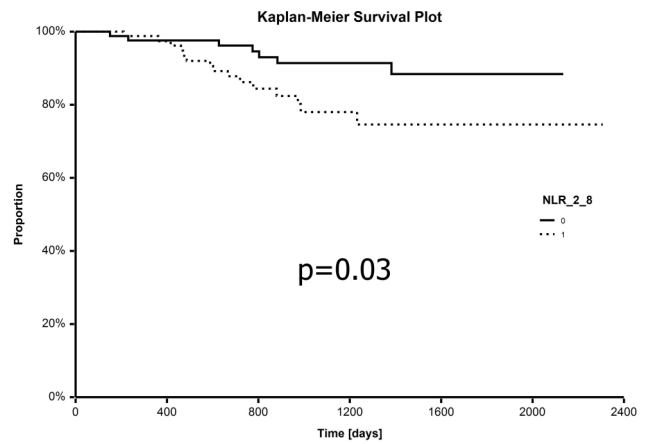
Vliv hodnoty NLR 2.2 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



Vliv hodnoty NLR 2.4 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

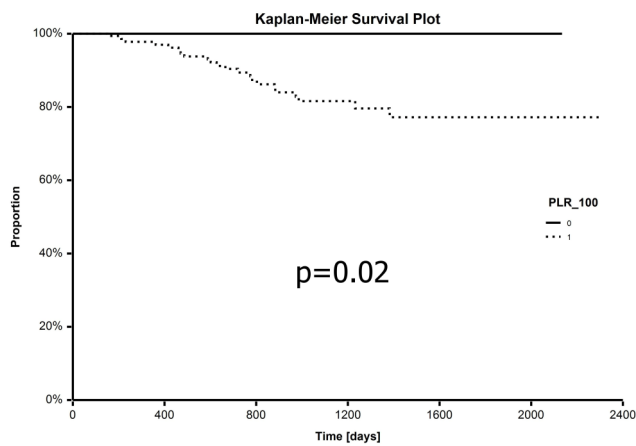


Vliv hodnoty NLR 2.6 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

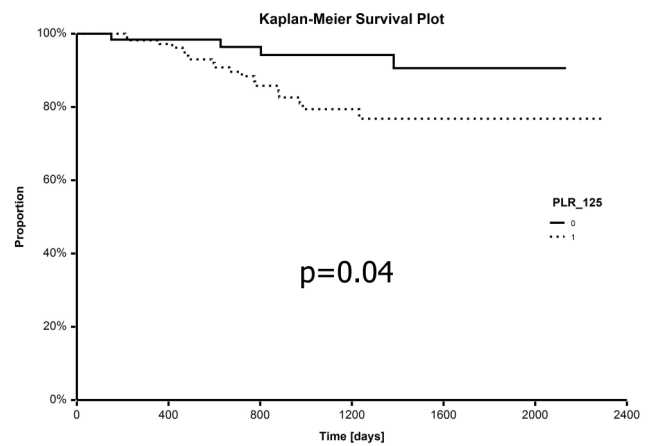


Vliv hodnoty NLR 2.7 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

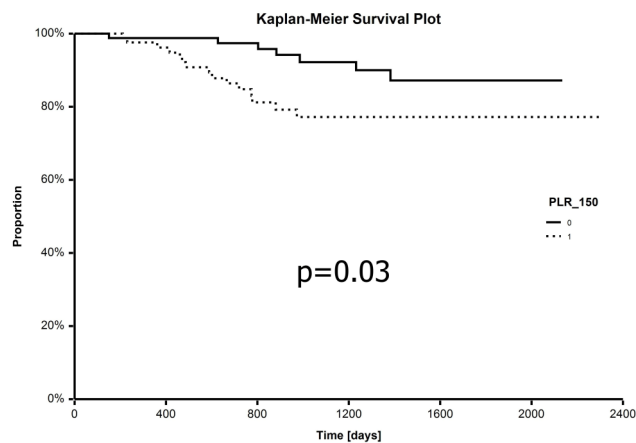
Příloha 6: Vliv konkrétních signifikantních hodnot parametru PLT na OS.



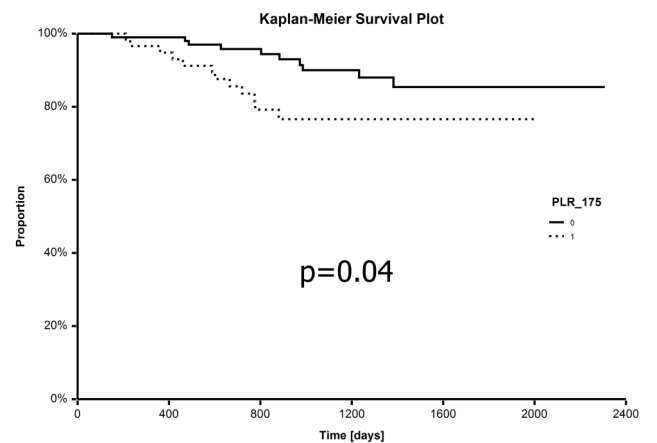
Vliv hodnoty PLR 100 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



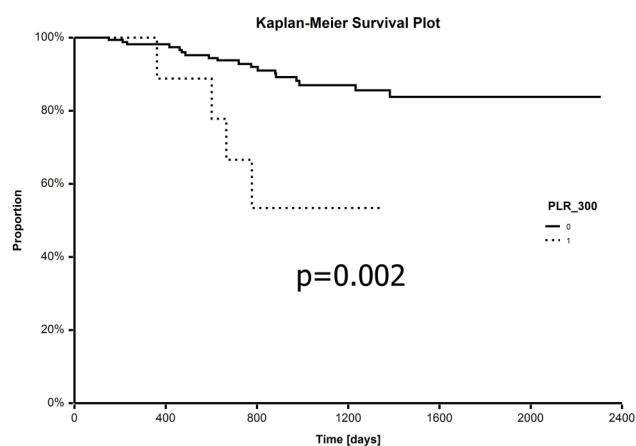
Vliv hodnoty PLR 125 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



Vliv hodnoty PLR 150 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

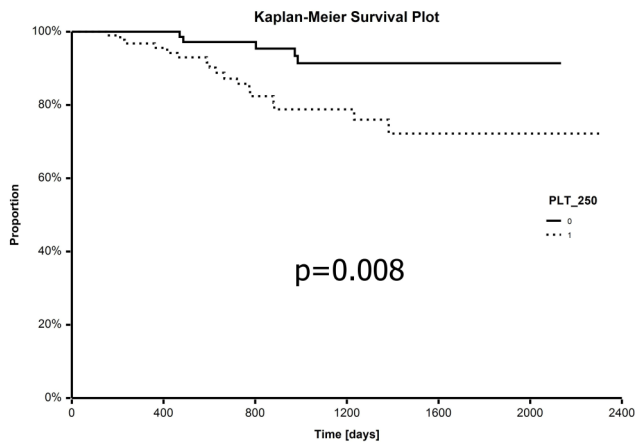


Vliv hodnoty PLR 175 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

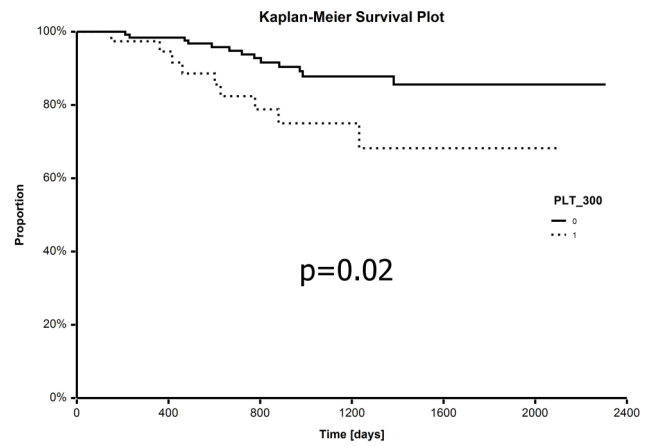


Vliv hodnoty PLR 300 na interval OS (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

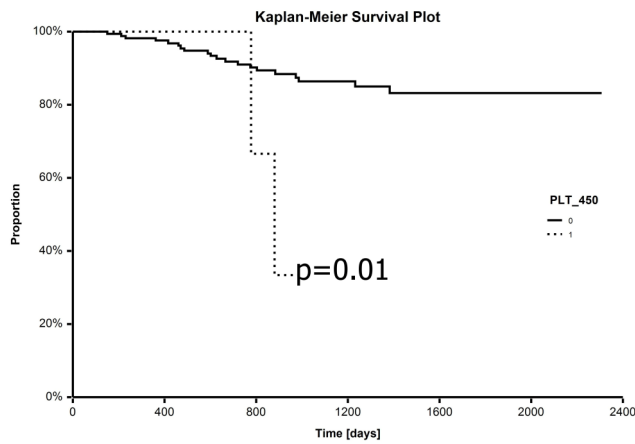
Příloha 7: Vliv konkrétních signifikantních hodnot parametru PLR na OS.



Vliv hodnoty PLT 250 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

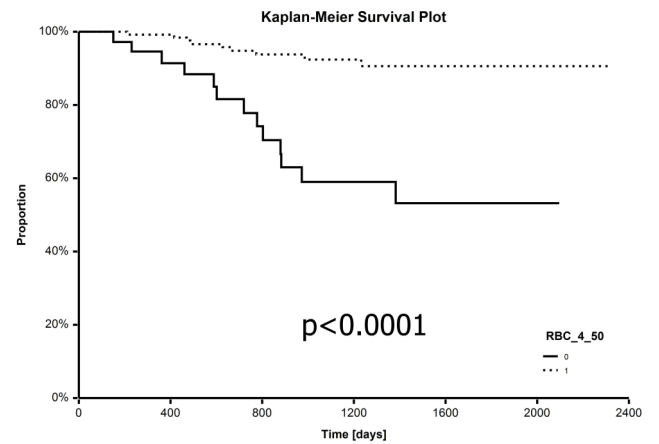
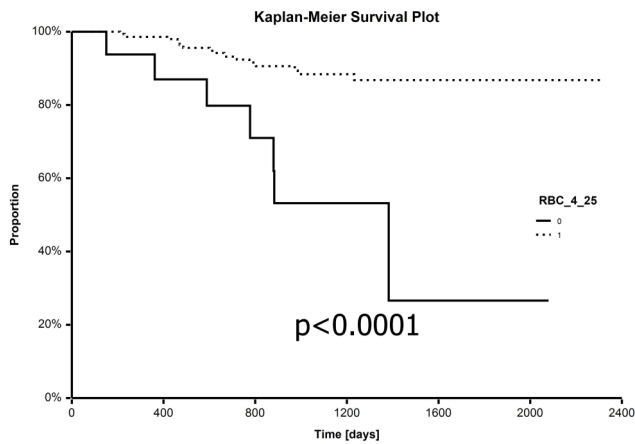


Vliv hodnoty PLT 300 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



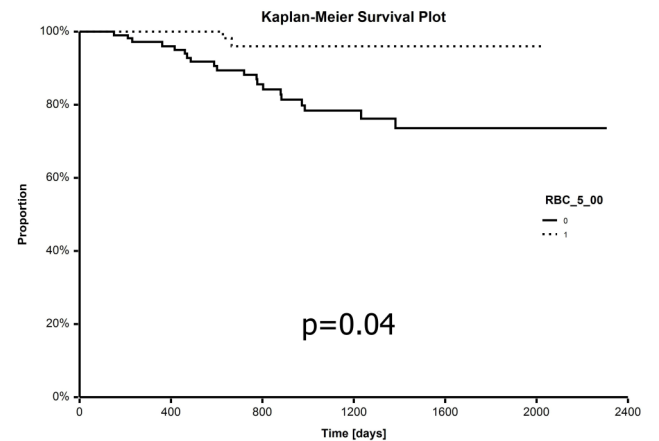
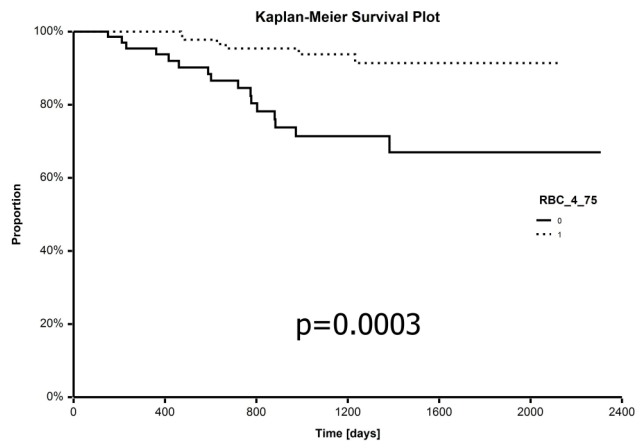
Vliv hodnoty PLT 450 $10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

Příloha 8: Vliv konkrétních signifikantních hodnot parametru RBC na OS.



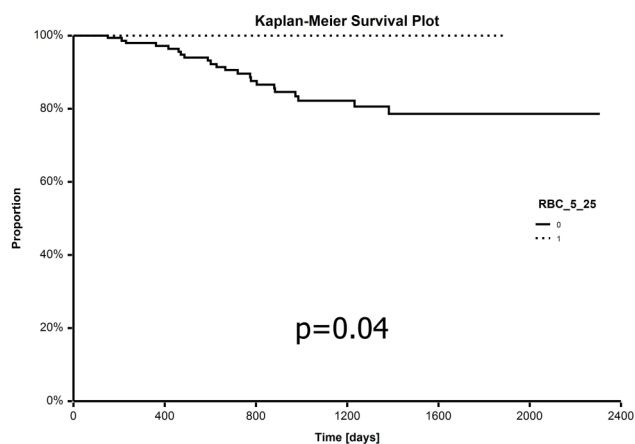
Vliv hodnoty PLT $4.25 \cdot 10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

Vliv hodnoty PLT $4.50 \cdot 10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).



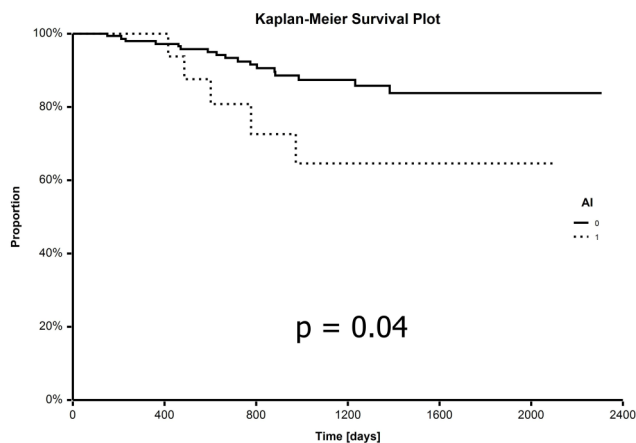
Vliv hodnoty PLT $4.75 \cdot 10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

Vliv hodnoty PLT $5.00 \cdot 10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

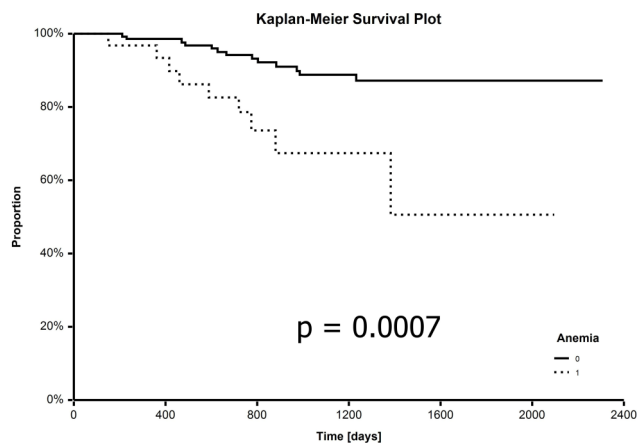


Vliv hodnoty PLT $5.25 \cdot 10^9/l$ na interval DSF (χ^2 test; Logrank test, zdrojová tabulka v kapitole 7).

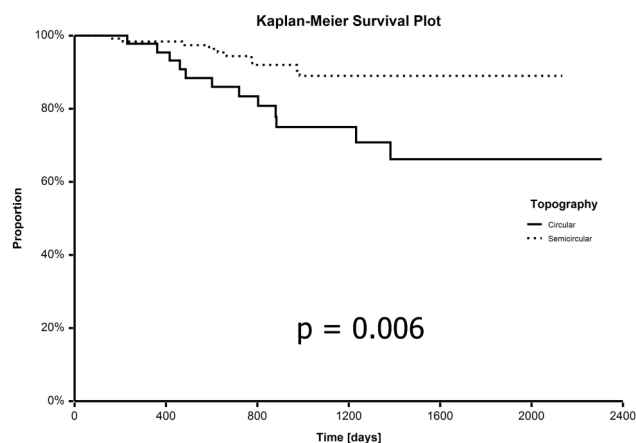
Příloha 9: Vliv variabilních signifikantních parametrů nádoru a nádorové odpovědi na OS. (část 1/3)



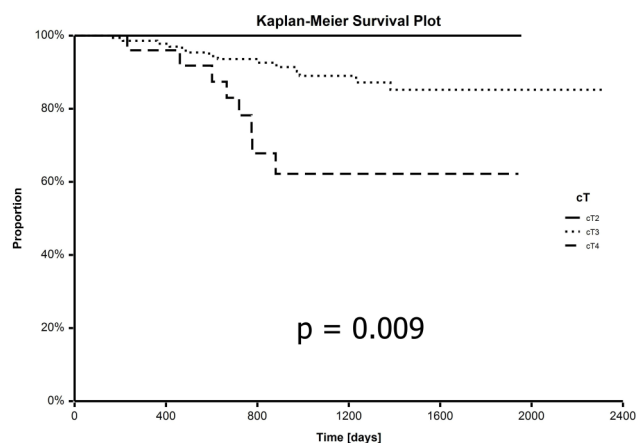
Vliv přítomnosti angioinvasze na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



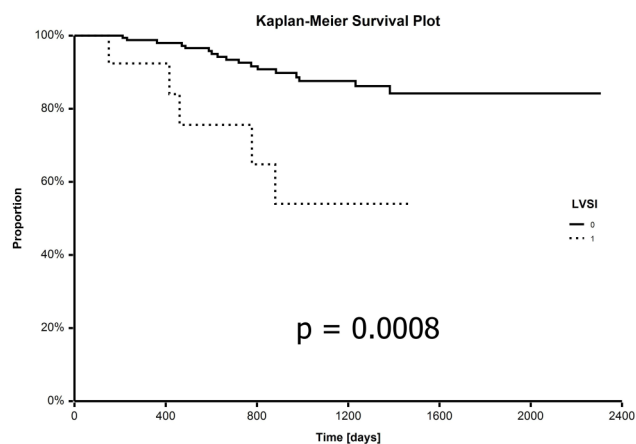
Vliv přítomnosti anemie na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



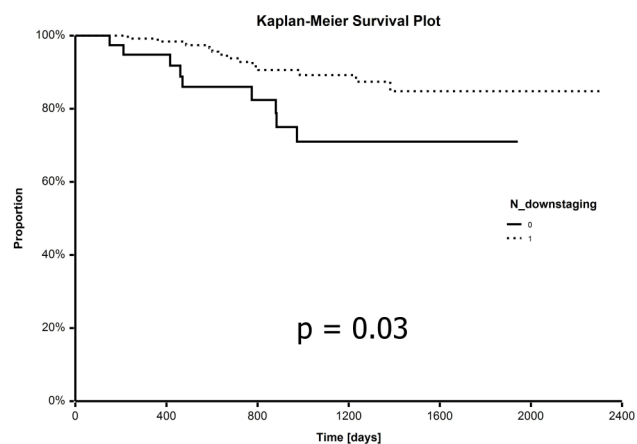
Vliv přítomnosti cirkulárního tumoru na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



Vliv cT stadia na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

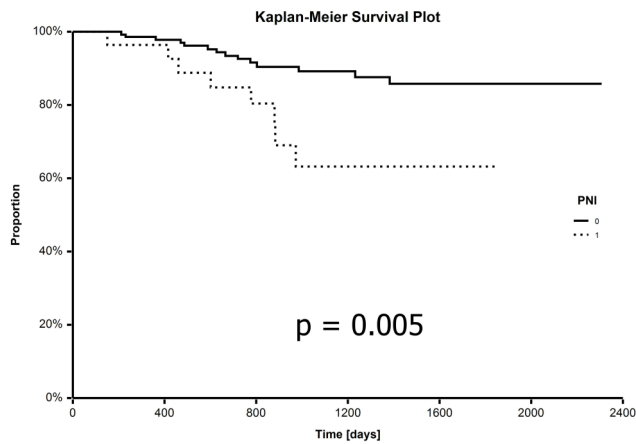


Vliv přítomnosti lymfangioinvasze na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

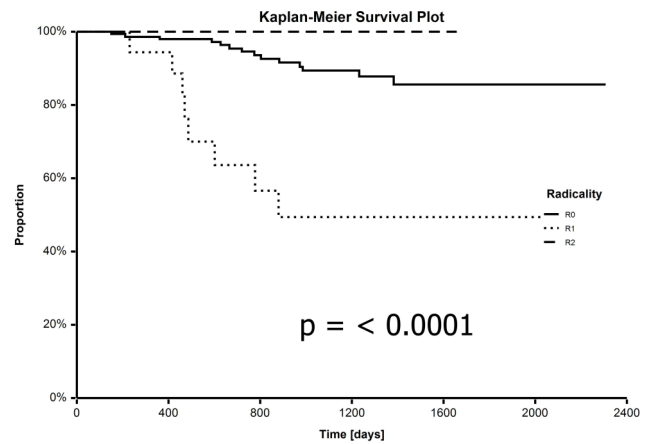


Vliv N-downstagingu na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

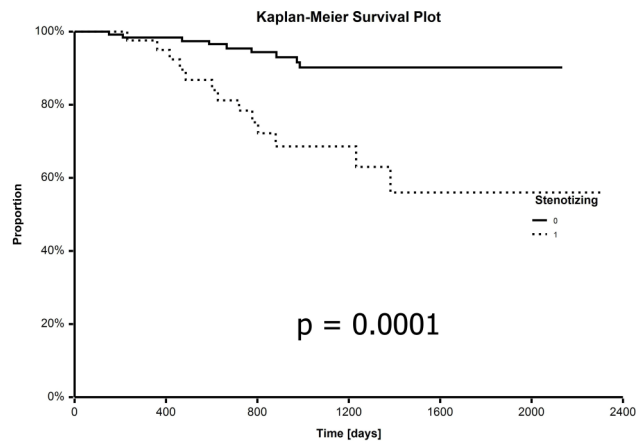
Příloha 9: Vliv variabilních signifikantních parametrů nádoru a nádorové odpovědi na OS. (část 2/3)



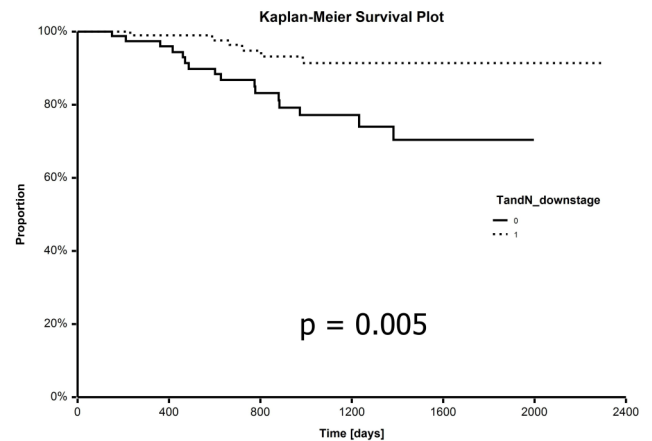
Vliv přítomnosti perineurální invaze na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



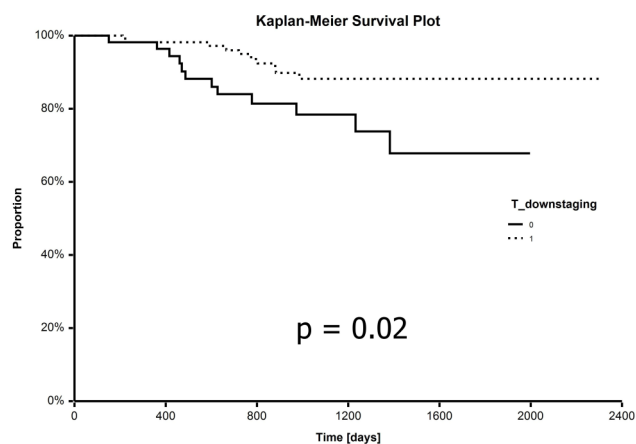
Vliv operační radikality na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



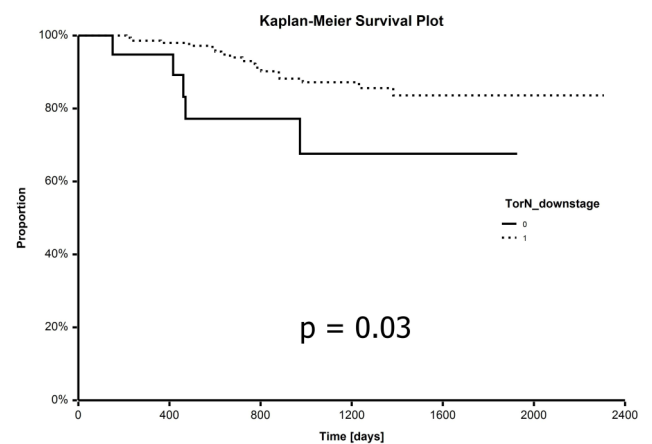
Vliv přítomnosti nádorové stenózy na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



Vliv přítomnosti T a N downstagingu na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

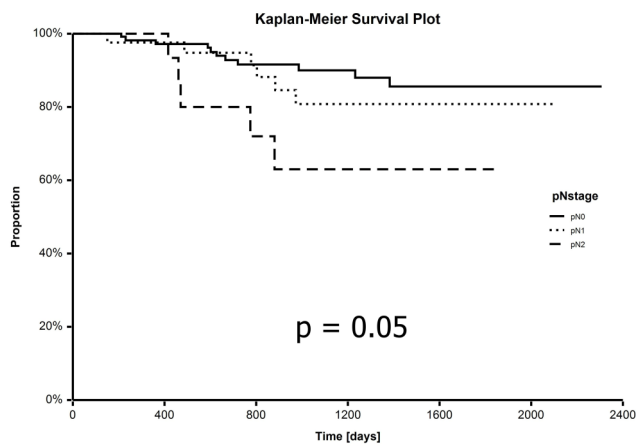


Vliv přítomnosti T downstagingu na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

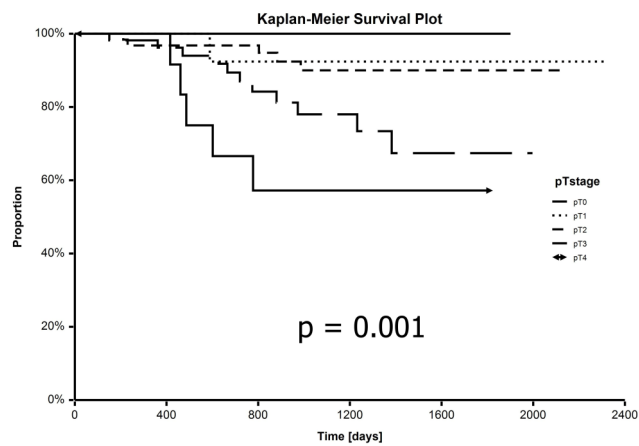


Vliv přítomnosti T nebo N downstagingu na interval OS (Logrank test/Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).

Příloha 9: Vliv variabilních signifikantních parametrů nádoru a nádorové odpovědi na OS. (část 3/3)



Vliv přítomnosti ypN stádia na interval OS (Logrank test/ Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).



Vliv přítomnosti ypN stádia na interval OS (Logrank test/ Coxova univariační regresní analýza, zdrojová tabulka v kapitole 6).