

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

Stomatologická klinika



Doktorská disertační práce

Lukáš Hauer

2016

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

Stomatologická klinika



Doktorská disertační práce

**Molekulárně genetické znaky nádorů slinných
žláz v diferenciatní diagnostice a predikci
prognózy**

Lukáš Hauer

Plzeň 2016

Obor: Patologie

Školitelka: Prof. MUDr. Alena Skálová, CSc.

Abstrakt:

Autor v předkládané práci shrnuje současné poznatky týkající se molekulárně genetických znaků salivárních karcinomů se zaměřením na nádorově specifické fúzní onkogeny a jejich využití jako diagnostických, prognostických a terapeutických biomarkerů. Dále se podrobněji zabývá adenoidně cystickým karcinomem (AdCC), druhým nejčastějším maligním sialomem, u něhož byly v posledních několika letech zjištěny nejen nové skutečnosti ohledně jeho biologického chování, ale byly objeveny i nové genetické znaky, které jsou pravděpodobně zodpovědné za jeho kancerogenezi.

V prezentované práci je vyhodnocen vlastní soubor 27 pacientů s AdCC, kteří byli léčeni ve FN v Plzni v posledních 30 letech (1986 - 2016). Byly sledovány tyto ukazatele: věk, pohlaví, lokalizace nádoru, klinické stadium v době diagnózy, přítomnost regionálních a vzdálených metastáz, grading, průměrná doba dispenzarizace, léčba a její výsledky. Soubor nádorů byl vyšetřen pomocí fluorescenční in situ hybridizace na průkaz *MYB-NFIB* fúzního onkogenu vznikajícího chromozomální translokací t(6;9)(q22-23;p23-24) a na delecii 1p36.

AdCC vznikl ve 41 % v malých slinných žlázách, v 26 % ve žláze podčelistní, v 22 % v žláze příušní a v 11 % v žláze podjazykové. První stadium bylo zaznamenáno v 26 % případů, 2. stadium v 18 %, 3. stadium v 26 % a 4. stadium v 30 % případů. Metastázy v regionálních lymfatických uzlinách byly diagnostikovány u 26 %, vzdálené metastázy pak u 30 % pacientů (dle lokalizace - plíce 55 %, játra 27 %, kosti 9 %, peritoneum 9 %). Průměrný follow-up byl $76,4 \pm 67,0$ měsíců (v rozmezí 7 – 287 měsíců). Za dobu dispenzarizace bylo 59 % pacientů bez jakýchkoliv příznaků choroby, 22 % zemřelo v důsledku AdCC a 19 % žilo s tímto onemocněním, ať již v podobě recidivy či metastáz. Fúzní onkogen *MYB-NFIB* byl prokázán v 79 % případů (19/24) a 1p36 delece pak ve 13 % případů (3/23).

V souladu s recentní literaturou byla v souboru pacientů s AdCC potvrzena vysoká incidence regionálních uzlinových metastáz i vysoká incidence nádorově specifického fúzního onkogenu *MYB-NFIB*, který v současné době lze potenciálně využít pouze jako diagnostický biomarker v histopatologicky sporných případech, především u pozdních vzdálených metastáz.

Klíčová slova:

Salivární karcinomy, fúzní onkogen, biomarker, cílená léčba, adenoidně cystický karcinom, *MYB-NFIB*.

Abstract:

In the presented manuscript the author summarizes the current knowledge on molecular biomarkers of salivary gland cancer, focusing on tumor-type specific fusion oncogenes and their use as diagnostic, prognostic and therapeutic biomarkers. In detail, the author deals with adenoid cystic carcinoma (AdCC), the second most common salivary gland cancer. New facts of its biological behavior as well as new fusion oncogenes probably responsible for its carcinogenesis were described in the last few years.

A retrospective case series evaluating 27 patients suffering from AdCC, who were treated at the University Hospital in Pilsen in the last 30 years (1986-2016), is presented in this study. The following characteristics were observed: age, gender, tumor location, clinical stage at diagnosis, presence of regional and distant metastases, tumor grade, duration of follow-up, treatment and outcomes. Detection of the 1p36 deletion and the t(6;9)(q22-23;p23-24) chromosomal translocation resulting in the *MYB-NFIB* gene fusion were performed.

The incidence of AdCC in minor salivary glands, submandibular gland, parotid gland and sublingual gland was 41 %, 26 %, 22 % and 11% respectively. The following staging was observed: the 1st stage in 26 %, the 2nd stage in 18 %, the 3rd stage in 26 % and the 4th stage in 30 % of cases. Metastases to regional lymph nodes were diagnosed in 26 % and distant metastases in 30 % of patients (55 % to lung, 27 % to liver, 9 % to bones and 9 % of peritoneal metastases). The average follow-up was 76.4 ± 67.0 months (range 7-287 months). An outcome of the treatment during follow-up was as follows: 59 % of patients were with no evidence of the disease, 22 % of patients died because of the disease and 19 % of patients were alive with a recurrence or metastases of AdCC. The *MYB-NFIB* fusion transcript was detected in 79% of cases (19/24) and the 1p36 deletion in 13% of cases (3/23).

In line with a recent literature the high incidence of regional lymph node metastases as well as the *MYB-NFIB* fusion oncogene was confirmed in our retrospective case series of 27 patients with AdCC. The *MYB-NFIB* gene fusion could currently only be used as a potential diagnostic tool in difficult histopathological cases of AdCC, especially in late distant metastases.

Keywords:

Salivary gland cancer, fusion oncogene, biomarker, targeted therapy, adenoid cystic carcinoma, *MYB-NFIB*

Poděkování:

Rád bych na tomto místě poděkoval své školitelce prof. MUDr. Aleně Skálové, CSc. za odborné vedení a cenné připomínky při vypracování této práce a dále Mgr. Petru Šteinerovi za genetické vyšetření souboru pacientů s adenoidně cystickým karcinomem.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto dizertační práci vypracoval samostatně, uvedl jsem všechny použité prameny a literaturu a že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Plzni 7. 3. 2016

MUDr. et MUDr. Lukáš Hauer

Obsah

1 Úvod

2 Cíl práce

3 Popis současného stavu řešeného tématu

3. 1 Molekulárně genetické znaky salivárních karcinomů a jejich praktické využití

3. 1. 1 Přehled

3. 1. 2 Prognostický význam detekce nádorově specifických fúzních onkogenů u salivárních karcinomů

3. 1. 3 Účinnost cílené léčby u salivárních karcinomů

3. 1. 4 Molekulární cytogenetické metody v diagnostice nádorů slinných žláz

3. 2 Adenoidně cystický karcinom slinných žláz (AdCC)

3. 2. 1 Definice

3. 2. 2 Historie

3. 2. 3 Epidemiologie

3. 2. 4 Klinické příznaky

3. 2. 5 Biologické chování

3. 2. 5. 1 Nádorový růst, recidivy

3. 2. 5. 2 Metastazování

3. 2. 6 Diagnostika

3. 2. 7 Intraoseální AdCC

3. 2. 8 Histopatologický obraz AdCC

3. 2. 9 High - grade transformace AdCC

3. 2. 10 Molekulárně genetické znaky AdCC

3. 2. 11 Diferenciální diagnostika

3. 2. 12 Pravidla pro klasifikaci AdCC – kódování, typing, grading, staging

3. 2. 13 Léčba

3. 2. 13. 1 Chirurgická terapie

3. 2. 13. 2 Radioterapie

3. 2. 13. 3 Systémová protinádorová léčba

3. 2. 14 Prognostické a rizikové faktory AdCC

4 Popis řešení a výsledky výzkumu

5 Hodnocení a závěr

6 Soupis bibliografických citací (seznam použité literatury)

7 Přílohy

Seznam používaných symbolů a zkratk:

- AciCC** – (acinic cell carcinoma), acinický (acinocelulární) karcinom
AdCC - (adenoid cystic carcinoma), adenoidně cystický karcinom
AFIP – (Armed Forces Institute of Pathology), Patologický ústav ozbrojených sil (Washington DC, USA)
aj. – a jiné
apod. – a podobně
AWD – (alive with disease), žije s onemocněním
Ca-ex-Pa - (carcinoma ex pleomorphic adenoma), karcinom v pleomorfním adenomu
CAP – cyklofosfamid, doxorubicin, cisplatina
CAMSG – (cribriform adenocarcinoma of minor salivary glands), kribriformní adenokarcinom malých slinných žláz
CB CT – (cone-beam computed tomography), cone-beam výpočetní tomografie
CGH - (comparative genomic hybridization), srovnávací genomová hybridizace
CNB, CCB – (core needle/cut biopsy), tzv. core - cut biopsie
CT – (computed tomography), výpočetní tomografie
CR – (complete response), kompletní remise
DBD – (DNA binding domain), DNA vazebná doména
DNA – (deoxyribonucleic acid), kyselina deoxyribonukleová
DOD – (dead of disease), smrt v důsledku onemocnění
DSRCT – (desmoplastic small round cell tumour), desmoplastický tumor z malých kulatých buněk
EBV - Epstein-Barrové virus
EMC - (epithelial-myoepithelial carcinoma), epiteliálně-myoepiteliální karcinom
¹⁸F-FDG - fluorodeoxyglukosa značená radioaktivním fluorem ¹⁸F
¹⁸F-FLT – fluorothymidin značený radioaktivním fluorem ¹⁸F
FFPE – (formalin-fixed, paraffin-embedded), formalínem fixovaná, v parafínu zalitá tkáň
FISH - fluorescenční in situ hybridizace
FN – fakultní nemocnice
FNAB, FNAC – (fine-needle aspiration biopsy/ cytology), tenkojehlová punkční biopsie/cytologie
G - Gauge
HCCC - (hyalinizing clear cell carcinoma), hyalinizující světlobuněčný karcinom
CHRT – chemoradioterapie
CHT – chemoterapie

IMRT – (intensity modulated radiotherapy), radioterapie s modulovanou intenzitou záření

LF UK – lékařská fakulta Univerzity Karlovy

MASC – (mammary analogue secretory carcinoma), sekretorický karcinom slinných žláz

mBAND - mnohobarevné pruhování s vysokou rozlišovací schopností

MEC – (mucoepidermoid carcinoma), mukoepidermoidní karcinom

mFISH - mnohobarevné karyotypování lidských chromozomů

MKN-O - Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii

MKN-10 - Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů, 10. revize

MR – magnetická rezonance

MYBba - MYB break-apart sonda

N/A – nelze analyzovat

např. - například

N/C poměr – jádro - cytoplazmatický poměr

NED – (no evidence of disease), bez příznaků onemocnění

Neg. – negativní

NFIBba- NFIB break-apart sonda

NH - nerovnoměrná hybridizace

NOS – (not otherwise specified), blíže neurčený

NRD – negativní regulační doména

NSŽ – nádory slinných žláz

NUT karcinom - nuclear protein in testis rearrangement karcinom

N. XI - nervus accessorius

PCR - (polymerase chain reaction), polymerázová řetězová reakce

PD – (progressive disease), progres onemocnění

PET – pozitronová emisní tomografie

PR – (partial response), parciální remise

RECIST – (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors), hodnocení odpovědi solidních nádorů na léčbu

RNA – (ribonucleic acid), kyselina ribonukleová

(R)ND – ((radical) neck dissection), (radikální) krční disekce

RT – radioterapie

RTG – rentgen, skiografie

RT-PCR - (reverse transcription polymerase chain reaction), reverzní polymerázová řetězová reakce

SCM - musculus sternocleidomastoideus

SD – (stable disease), stabilizace onemocnění

SDC – (salivary duct carcinoma), salivární duktální karcinom

SUVmax - maximální hodnota standardizovaného vychytávání radiofarmaka v nádoru

TAD - transaktivační doména

Th – terapie

tzn. – to znamená

tzv. - takzvaný

USG - ultrasonografie

VJI - vena jugularis interna

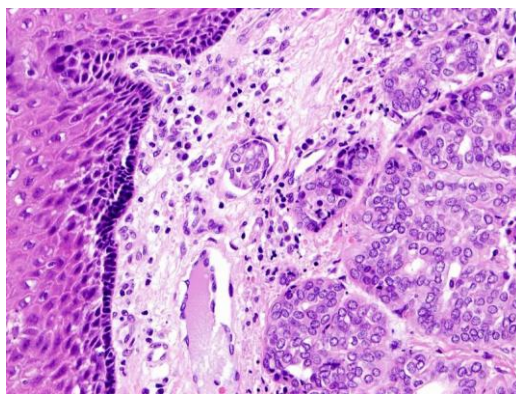
WHO – (World Health Organization), Světová zdravotnická organizace

1 Úvod

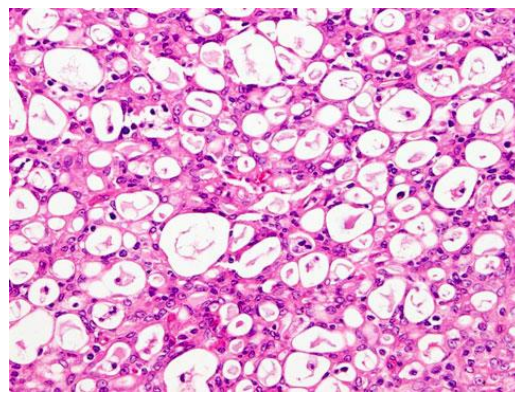
Nádory slinných žláz (NSŽ, sialomy) jsou relativně vzácné tumory postihující velké párové slinné žlázy (příušní, podčelistní, podjazykové) i malé slinné žlázy dutiny ústní a jim podobné žlázy v horním aerodigestivním traktu a paranazálních dutinách.

Jejich incidence se odhaduje celosvětově na 1 - 6,5 případů na 100 000 obyvatel/rok, u maligních sialomů pak na 0,4 - 2,6 případů na 100 000 obyvatel/rok [1, 2]. V USA tvoří zhoubné NSŽ 3 - 7 % všech zhoubných novotvarů hlavy a krku a 0,3 - 0,5 % všech malignit [1, 2].

V současné době je platná WHO klasifikace NSŽ z roku 2005 **tabulka 1** [1, 3]. Od jejího vydání byly však již popsány a odbornou veřejností uznány jako nové samostatné klinicko-patologické jednotky dva další typy sialomů, a to sekreторický karcinom slinných žláz (mammary analogue secretory carcinoma - MASC) a kribiformní adenokarcinom malých slinných žláz (cribriform adenocarcinoma of minor salivary glands - CAMSG) **obrázek 1, 2** [4, 5]. Desmoplastický tumor z malých kulatých buněk (desmoplastic small round cell tumour - DSRCT) a NUT karcinom (nuclear protein in testis rearrangement carcinoma) jsou pak nádory, které se častěji vyskytují v jiných lokalizacích, ale byly též nově popsány jako tumory vzácně vznikající ve slinných žlázách [6].



Obrázek 1 - Lymfangioinvaze u CAMSG



Obrázek 2 - MASC

Tabulka 1 - WHO histologická klasifikace nádorů slinných žláz [1, 3]

Karcinomy		Adenomy	
Acinický karcinom	8550/3	Pleomorfní adenom	8940/0
Mukoepidermoidní karcinom	8430/3	Myoepiteliom	8982/0
Adenoidně cystický karcinom	8200/3	Bazocelulární adenom	8147/0
Polyformní nížce maligní adenokarcinom	8525/3	Warthinův tumor	8561/0
Kribriformní adenokarcinom jazyka		Onkocytom	8290/0
Epiteliálně-myoepiteliální karcinom	8562/3	Kanalikulární adenom	8149/0
Světlobuněčný karcinom (NOS)	8310/3	Sebaceózní adenom	8410/0
Bazocelulární adenokarcinom	8147/3	Lymfadenom	8410/0
Maligní sebaceózní tumory	8410/3	Sebaceózní lymfadenom	
Sebaceózní karcinom		Nesebaceózní lymfadenom	
Sebaceózní lymfadenokarcinom		Duktální papilomy	
Cystadenokarcinom	8440/3	Invertovaný duktální papilom	8503/0
Nížce maligní kribriformní cystadenokarcinom		Intraduktální papilom	8503/0
Mucinózní adenokarcinom	8480/3	Sialadenoma papilliferum	8406/0
Onkocytární karcinom	8290/3	Cystadenomy	8440/0
Salivární duktální karcinom	8500/3	Papilární cystadenom	8450/0
Adenokarcinom (NOS)	8140/3	Mucinózní cystadenom	8470/0
Myoepiteliální karcinom	8982/3	Ne-epitelové nádory	
Karcinom ex pleomorfní adenom	8941/3	Hemangiom	9120/0
Neinvazivní (in situ)		Hematolymfoidní nádory	
Minimálně invazivní		Hodgkinův lymfom	
Invazivní		Nehodgkinský lymfom	
Karcinosarkom	8980/3	Extranodální B-lymfom marginální zóny	9699/3
Metastazující benigní pleomorfní adenom	8940/1	Extramedulární plazmocytom	9734/3
Dlaždicobuněčný karcinom	8070/3	Difúzní velkobuněčný B lymfom	9680/3
Malobuněčný nediferencovaný karcinom	8041/3	Sekundární nádory metastatické	
Velkobuněčný nediferencovaný karcinom	8012/3		
Lymfoepiteliální karcinom	8082/3		
Sialoblastom	8974/1		

NSŽ jsou charakteristické především svojí morfoloickou diverzitou. Ta se může projevovat v konkrétním nádoru, kdy se různá místa novotvaru navzájem odlišují svojí strukturou, histomorfologická variabilita však může být přítomna i mezi nádory v rámci jednoho histologického typu. Na druhé straně různé typy sialomů s odlišnou biologickou povahou mohou obsahovat struktury ložiskově shodné. U sialomů může navíc po prodělané, byť probatorní tenkojehlové biopsii docházet k sekundárním regresivním změnám, což dále znesnadňuje správné určení typu nádoru a může vést i k chybné diagnóze. Příkladem těchto změn je dlaždicová metaplazie s přítomností nebo bez přítomnosti mucinózní diferenciace squamózního epitelu ve Warthinově tumoru, která může napodobovat spinocelulární nebo mukoepidermoidní karcinom [7, 8]. V této souvislosti byla publikována i podobnost benigního onkocytomu s acinickým karcinomem [9]. Biopstické metody především v oblasti velkých slinných žláz jsou navíc rizikové z rozesevu nádorových buněk, a to i u benigních sialomů (např. pleomorfní adenom). Nejen tyto faktory znesnadňují diagnostiku NSŽ a kladou tak vysoké nároky na erudici patologa i klinického lékaře.

Z hlediska lokalizace je nejčastěji postižena příušní žláza (především povrchový list, v 80 - 90 % případů), kde vzniká 64 – 80 % všech primárních epiteliálních NSŽ, 15 – 32 % těchto tumorů je maligních [2]. I přesto, že je příušní žláza oproti ostatním postižena malignitami nejméně často, vzhledem k četnosti výskytu všech NSŽ v této lokalizaci se setkáváme se salivárními karcinomy nejčastěji právě v parotidě. Nejčastějším benigním nádorem je pleomorfní adenom (75 % všech nádorů příušní žlázy), následován Warthinovým tumorem na druhém místě **obrázek 3, 4** [2, 10]. Nejčastějším maligním nádorem je pak mukoepidermoidní karcinom.



Obrázek 3 -
Cystadenom
příušní žlázy



Obrázek 4 - Pleomorfní
adenom příušní žlázy

V malých slinných žlázách vzniká 9 – 23 % všech primárních epiteliálních NSŽ, přičemž až 50 % z nich je maligních [2]. Nejčastějším benigním nádorem je pleomorfní adenom (40–45 % všech orálních nádorů malých slinných žláz), následován kanalikulárním a bazocelulárním adenomem **obrázek 5, 6** [2, 10]. Nejčastější malignitou bývá adenoidně cystický nebo mukoepidermoidní karcinom a dále polymorfní low-grade adenokarcinom **obrázek 7, 8, 9**. Tyto sialomy se ponejvíce vyskytují na patře, většinou dorsolaterálně, často na rozhraní tvrdého a měkkého patra (42 - 54 % případů), dále na rtu (21 – 25 % případů, z toho 77 – 89 % tvoří horní ret) a ve tváři (11 – 15 % případů) [2]. Výskyt v lokalizacích jako je dolní ret, jazyk, ústní spodina a retromolární oblast je podstatně vzácnější, ale klinicky závažnější, protože zde vznikají převážně salivární karcinomy (v 50 až 100 % případů) [2].



Obrázek 5 - Pleomorfní adenom patra



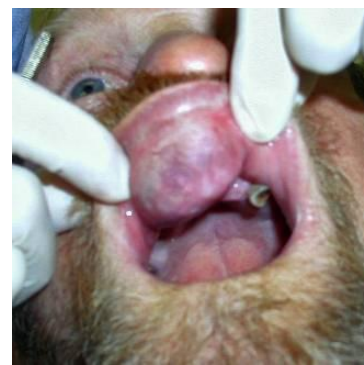
Obrázek 6 - Myoepiteliom horního rtu



Obrázek 7 - Mukoepidermoidní karcinom měkkého patra



Obrázek 8 - Mukoepidermoidní karcinom retromolární oblasti



Obrázek 9 - Polyformní nízcce maligní adenokarcinom horního rtu

Podčelistní žlázu postihuje 7 – 11 % všech primárních epiteliálních NSŽ, malignity tvoří 37 – 45 % [2]. Nejčastějším benigním nádorem je pleomorfní adenom, Warthinův tumor je v této lokalizaci vzácný **obrázek 10**. Z maligních nádorů převažuje adenoidně cystický karcinom.



Obrázek 10 - Rozsáhlý pleomorfní adenom podčelistní žlázy bez maligního zvratu, zasahující do parafaryngeálního prostoru, MR T2 vážený obraz, koronární řez, zdroj: Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN Plzeň, přednosta: Prof. MUDr. Boris Kreuzberg, CSc.

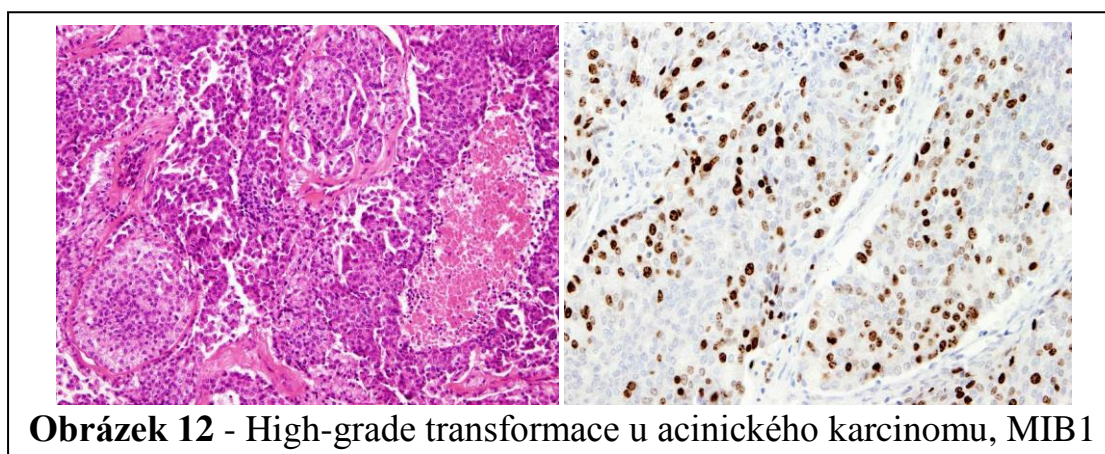
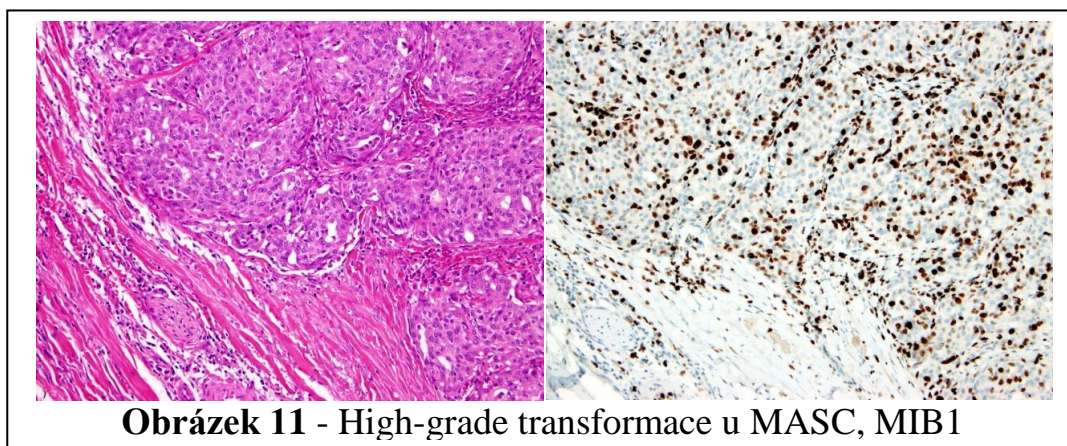
V podjazykové žláze je diagnostikováno méně než 1% primárních epiteliálních NSŽ, ale 70 – 90 % z nich je maligních [2].

Obecně lze tedy říci, že vyjma vzácných nádorů podjazykové žlázy, platí pravidlo: Čím menší je slinná žláza, tím větší je pravděpodobnost výskytu maligního novotvaru.

Etiologie NSŽ je víceméně neobjasněna, je pravděpodobně multifaktoriální a liší se od etiologie ostatních zhoubných nádorů hlavy a krku, především od nejčastějších dlaždicobuněčných karcinomů. Jsou známy jen některé rizikové faktory, např. kouření cigaret u Warthinova tumoru (8x vyšší incidence oproti nekuřákům), ionizující záření u benigních i maligních NSŽ, herpetický virus Epstein- Barr (EBV) u lymfoepiteliálního karcinomu nebo hormonální vlivy u salivárního duktálního karcinomu [1].

Některé salivární karcinomy (např. adenoidně cystický nebo acinický karcinom) oproti spinaliomům hlavy a krku méně ochotně metastazují lymfatickou cestou do regionálních lymfatických uzlin, ale mají větší tendenci k zakládání vzdálených metastáz. Pravděpodobně u většiny nízce maligních salivárních karcinomů může navíc vzácně docházet k tzv. high - grade transformaci (dediferenciaci) s výrazným zhoršením prognózy onemocnění (akcelerovaný růst primárního nádoru nebo recidivy s regionálními uzlinovými metastázami, generalizací a často i fatálním průběhem) **obrázek 11, 12** [11]. High - grade transformace je definována jako histologická progrese nízce maligního tumoru do vysoce maligního, přičemž nádor ztrácí rysy původní linie diferenciaci (může se týkat i pouhých 5 % tkáně novotvaru). Tento jev byl zatím popsán u acinického, adenoidně cystického, mukoepidermoidního, hyalinizujícího světlobuněčného, myoepiteliálního a

epiteliálně-myoepiteliálního karcinomu, polymorfního low-grade adenokarcinomu a sekreторického karcinomu slinných žláz [11, 12]. Ve většině případů se benigní i maligní NSŽ minimálně v počátku onemocnění projevují stejnými příznaky, takže nelze usuzovat na biologickou povahu sialomu podle klinických symptomů. Některé benigní NSŽ (např. pleomorfní adenom) mají navíc potenciál k malignímu zvratu s rizikem zvětšujícím se s velikostí a délkou perzistence tumoru (1,5 % nádorů do 5 let trvání, >10 % při anamnéze delší než 15 let) **obrázek 13** [13]. Maligní zvat v pleomorfním adenomu nastává v 6,2 % případů [1]. Někteří autoři dokonce odhadují, že až u 25 % neléčených pleomorfních adenomů dojde k maligní transformaci [10]. Tyto karcinomy představují asi 10 - 12 % všech salivárních malignit, přičemž ve více než 80 % vznikají ve velkých slinných žlázách, především v parotidě, v malých slinných žlázách se pak vyskytují nejčastěji na patře [1, 10, 14].





Obrázek 13 - Maligní zvrát pleomorfního adenomu příušní žlázy v myoepiteliální karcinom po 30 letech perzistence tumoru

Prognóza zhoubných NSŽ závisí především na histomorfologii, na klinickém rozsahu onemocnění, celkovém zdravotním stavu pacienta a komorbiditách a samozřejmě na radikalitě léčby. Z hlediska prognózy může mít význam i lokalizace nádoru. Obecně horší prognóza je např. u maligních sialomů podčelistní žlázy oproti stejným nádorům v jiných lokalizacích. Pětileté přežití u low-grade a intermediate- grade salivárních karcinomů se udává 85 – 90 %, zatímco u high-grade tumorů okolo 40 % [15]. Prognostický význam dle histomorfologie má:

- 1) stanovení vlastního typu nádoru - rozdělení na nízcce a vysoce rizikové salivární karcinomy, kdy některé typy těchto malignit jsou zastoupeny v obou skupinách v závislosti na gradingu nebo přítomnosti high - grade transformace **tabulka 2** [15],
- 2) grading adenoidně cystického a mukoepidermoidního karcinomu,
- 3) stanovení míry invazivity maligní komponenty karcinomu v pleomorfním adenomu. Z tohoto hlediska rozlišujeme neinvazivní karcinom (intrakapsulární, in situ), minimálně invazivní ($\leq 1,5$ mm přes pouzdro) a invazivní karcinom (více než 1,5 mm přes pouzdro) [1].

Tabulka 2 - Rozdělení salivárních karcinomů dle prognózy [15]

Low risk	High risk
Acinický karcinom	Sebaceózní karcinom a lymfadenokarcinom
Mukoepidermoidní karcinom low – grade	Mukoepidermoidní karcinom high - grade
Epiteliálně-myoepiteliální karcinom	Mucinózní adenokarcinom
Polymorfní low- grade adenokarcinom	Dlaždicobuněčný karcinom
Světlobuněčný karcinom	Malobuněčný karcinom
Bazocelulární karcinom	Velkobuněčný karcinom
Low - grade kribriformní cystadenokarcinom	Metastazující pleomorfní adenom
Myoepiteliální karcinom	Karcinosarkom
Onkocytický karcinom	Adenoidně cystický karcinom
Sialoblastom	Salivární duktální karcinom
Karcinom v pleomorfním adenomu (intrakapsulární/minimálně invazivní nebo low- grade histologie)	Karcinom v pleomorfním adenomu (invazivní nebo high - grade histologie)
Adenokarcinom (blíže nespecifikovaný, NOS), cystadenokarcinom - low – grade	Adenokarcinom NOS, cystadenokarcinom – high - grade
	Lymfoepiteliální karcinom

Pozn.

- 1) High - grade transformace posouvá salivární karcinom do high risk kategorie.
- 2) Zařazení intermediate- grade mukoepidermoidního karcinomu závisí na použitém systému gradingu, podle WHO/AFIP spíše high risk skupina, podle systému Brandweinové [16] spíše low risk skupina. Intermediate-grade u adenokarcinomu NOS je spíše řazen do high risk skupiny (zatím nedostatek údajů).
- 3) Všechny adenoidně cystické karcinomy jsou považovány za vysoce rizikové z hlediska recidiv, pouze grade 3 je považován za vysoce rizikový z hlediska uzlinových metastáz.

Vzhledem k výše zmíněným vlastnostem NSŽ se v posledních letech k usnadnění diagnostiky a v některých případech i ke stanovení prognózy používají také imunohistochemické metody. Jako příklad může posloužit stanovení indexu proliferační aktivity, tzv. MIB1 indexu, pomocí protilátky MIB1 proti antigenu *Ki67* v jádrech buněk v buněčném cyklu, který má např. prognostický význam u acinického i mukoepidermoidního karcinomu [17, 18].

V poslední době jsou ze stejného důvodu stále více aktuální také metody molekulární genetiky jako např. polymerázová řetězová reakce (PCR), reverzní polymerázová řetězová reakce (RT-PCR) a fluorescenční in situ hybridizace (FISH). Chromozomální aberace jsou obecně charakteristickým znakem novotvarů a relativně často vedou k tvorbě fúzních onkogenů, které indukují tumorogenezi. V současnosti je u lidských nádorů identifikováno více než 800 fúzních genů. I u NSŽ byly zjištěny vysoce specifické chromozomální translokace vedoucí k tvorbě patognomických fúzních onkogenů. Jedná se především o t(11;19) (q21; p13) generující fúzní onkogen *CRTC1-MAML2* u mukoepidermoidního karcinomu, t(6;9)(q22-23;p23-24) generující fúzní onkogen *MYB-NFIB* u adenoidně cystického karcinomu, t(12;15) (p13;q25) generující fúzní onkogen *ETV6-NTRK3* u sekretorického karcinomu slinných žláz a t(12;22)(q13;q12) generující fúzní onkogen *EWSR1- ATF1* u hyalinizujícího světlobuněčného karcinomu [6, 19]. Tyto translokace postihují transkripční ko-aktivátory, tyrosinkinásové receptory a

transkripční faktory zapojené do regulace buněčného cyklu a do signalizace pomocí růstových faktorů [19]. Identifikované fúzní onkogeny se dají do určité míry využít jako diagnostické a prognostické biomarkery a jejich znalost u jednotlivých nádorů pak může eventuálně sloužit i pro účely terapeutické.

Identifikace molekulárně genetických znaků NSŽ a především těch zodpovědných za kancerogenezi je tak důležitá nejen v rámci zlepšení diagnostiky těchto nádorů a lepšího pochopení jejich biologického chování, ale do budoucna také pro nastavení specifických léčebných režimů cílené terapie s cílem zlepšit prognózu těchto novotvarů.

2 Cíle práce

Definovat současné možnosti využití molekulárně genetických znaků salivárních karcinomů jako diagnostických, prognostických a terapeutických biomarkerů.

Na základě literární rešerše shrnout současný pohled na biologické chování, diagnostiku, léčbu a prognózu adenoidně cystického karcinomu slinných žláz včetně využití molekulárně genetických znaků u tohoto nádoru.

Vyhodnotit biologické chování a výsledky léčby adenoidně cystického karcinomu slinných žláz ve vlastním souboru 27 pacientů s tímto nádorem, kteří byli léčeni ve FN v Plzni v letech 1986 - 2016. Pomocí fluorescenční in situ hybridizace vyšetřit tyto karcinomy na nádorově specifický *MYB-NFIB* fúzní onkogen vznikající chromozomální translokací t(6;9)(q22-23;p23-24) a na delecii 1p36.

3 Popis současného stavu řešeného tématu včetně literaturní rešerše

3. 1 Molekulárně genetické znaky salivárních karcinomů a jejich praktické využití

3. 1. 1 Přehled

Salivární karcinomy tvoří heterogenní skupinu maligních nádorů lišících se histologií, molekulárně genetickými znaky i biologickým chováním. Jejich diagnostika je náročná především z důvodu histologické diverzity a překrývání některých morfologických struktur, které mohou být přítomné i u více typů karcinomů. Pacienti s lokalizovaným lokoregionálním onemocněním jsou léčeni chirurgicky a/nebo radioterapií. Pokročilé, rozsáhlé a inoperabilní či recidivující nádory s/bez vzdáleného metastatického postižení jsou léčeny systémovou onkologickou terapií (chemoterapie, cílená léčba), která má v současnosti jen omezené indikace i účinnost. Proto je význam systémové terapie stále předmětem výzkumu.

Z onkogenetického hlediska se salivární karcinomy řadí mezi nádory sporadické, které jsou nejčastějším typem malignit a obecně tvoří cca 70 % všech novotvarů (familiární nádory pak přibližně 20 % a hereditární asi 10 %) [20].

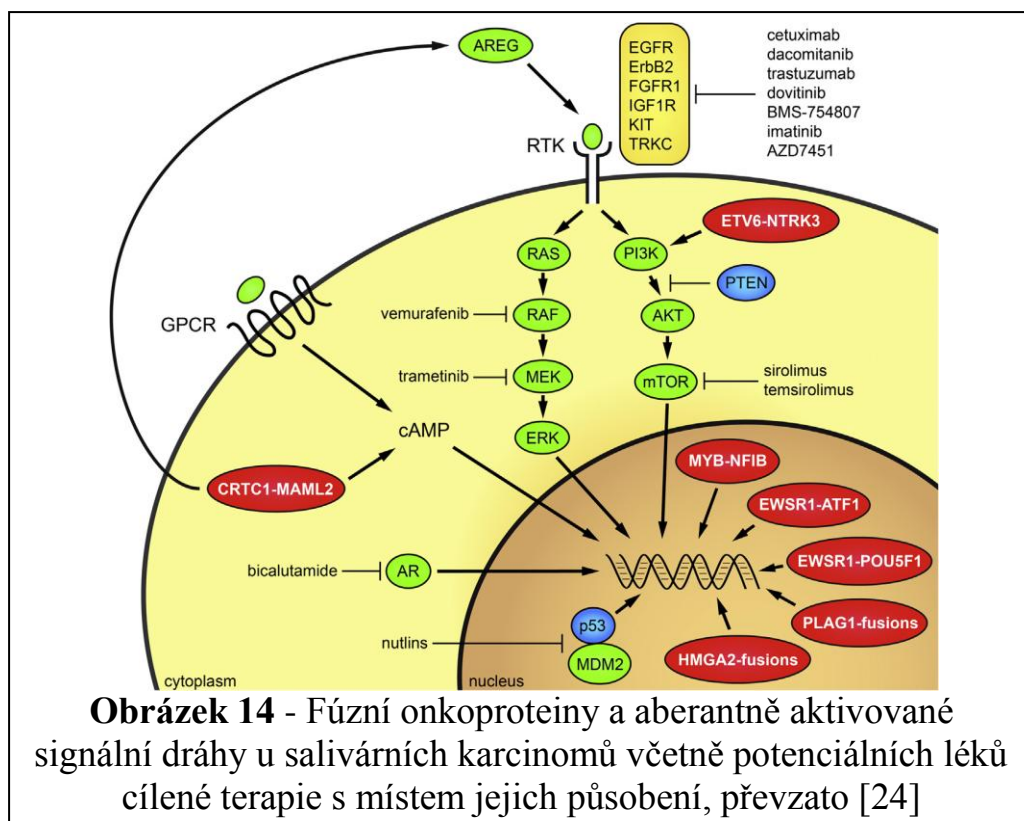
Typickým rysem všech nádorových buněk jsou četné chromozomální aberace. Chromozomální změny v buňkách nádorů jsou získané a jsou i klonální a je třeba je odlišovat od chromozomových odchylek vrozených (konstitučních), které bývají přítomny ve všech buňkách těla. Za klonální změnu lze považovat nálezy dvou mitóz se stejnou odchylkou ve smyslu chromozomové přestavby (translokace, inverze, inzerce, amplifikace) nebo stejným nadpočetným chromozomem, nebo tří mitóz, ve kterých stejný chromozom chybí [21]. Některé chromozomální aberace jsou sekundární, vznikající v tumorózních buňkách následkem genomové nestability, jiné, měnící např. pozici protoonkogenů s jejich aktivací nebo vyřazující z funkce tumor supresorové geny, lze považovat za primární, a tedy za vlastní příčinu tumorogeneze/kancerogeneze. V nádorech se často vyskytují jak numerické, tak i strukturní chromozomální abnormality. Recidivující a nenáhodné translokace se řadí mezi změny strukturní a vedou k tvorbě nových chimerických fúzních onkogenů, často nádorově specifických. Fúzní onkogeny kódují a jsou zodpovědné za vznik nových fúzních onkoproteinů nebo za ektopickou expresi normálních či zkrácených proteinů [19]. Můžeme se s nimi setkat u benigních i maligních nádorů, solidních i hematopoetických. Uvádí se, že fúzní onkogeny jsou zodpovědné za lidskou maligní morbiditu nejméně z 20 % [19]. Nejčastěji jsou prokazovány u

leukémií a sarkomů, u karcinomů byl zatím jejich výskyt detekován v podstatně menší míře. V dnešní době je popsáno více než 800 fúzních genů u různých typů lidských nádorů a je předpoklad, že s rozvojem a zdokonalováním metod molekulárně genetické diagnostiky toto číslo významně vzroste. NSŽ nejsou v tomto ohledu výjimkou. Často vysoce specifické chromozomální translokace u salivárních karcinomů postihují především transkripční ko-aktivátory, tyrosinkinázové receptory a transkripční faktory zapojené do signalizace pomocí růstových faktorů a do regulace buněčného cyklu.

Hlubší poznání molekulárně genetických mechanismů u NSŽ může být prakticky využitelné nejen pro zlepšení a zpřesnění diagnostiky či klasifikace, ale, jak se v některých případech ukazuje, i pro predikci prognózy těchto nádorů (kapitola 3. 1. 2). Například na základě vyšetření molekulárními cytogenetickými metodami se zjistilo, že většina sialomů dříve diagnostikovaných jako neparotické acinické karcinomy jsou ve skutečnosti sekretorické karcinomy slinných žláz [22]. Výsledky cytogenetických vyšetření také vedly k domněnce, zda světlobuněčný odontogenní karcinom není ve skutečnosti intraoseální hyalinizující světlobuněčný karcinom slinných žláz [23]. Nejvyšším cílem poznání molekulárně genetických mechanismů u NSŽ, především aktivovaných onkogenů a signálních drah podílejících se na kancerogenezi, je pak vytvoření účinných protilátek proti těmto markerům v rámci cílené terapie. Dosud známé molekulární biomarkery salivárních karcinomů a potenciální cíle pro jejich cílenou terapii včetně léků, které se dají využít, shrnuje **tabulka 3** a **obrázek 14** [6, 24].

Tabulka 3 - Molekulární biomarkery maligních NSŽ a potenciální cíle pro terapii [6, 24]

NSŽ	Translokace	Gen (diagnostický biomarker)	% výskytu	Další biomarkery	Aktivované onkogeny/ signální dráhy	Potenciální cílená léčba
<i>AdCC</i>	t(6;9)(q22-23;p23-24)	<i>MYB-NFIB</i>	80-90 %	del(1p), del(6q)	<i>MYB-NFIB</i> , <i>EGFR</i> , <i>KIT</i> , <i>BRAF</i> , <i>HRAS</i> , <i>TRKC</i> , <i>FGFR1</i>	cetuximab (<i>EGFR</i>), vemurafenib (<i>BRAF</i>), dacomitinib (pan <i>EGFR</i>), imatinib (<i>KIT</i>), AZD7451 (<i>NTRK3/TRKC</i>), dovitinib (<i>FGFR1</i>)
	t(8;9)	<i>MYBL1-NFIB</i>	-			
<i>MEC</i>	t(11;19) (q21; p13)	<i>CRTC1-MAML2</i>	60-80 %	<i>del(9p) CDKN2A</i>	<i>CRTC1-MAML2</i> , <i>AREG</i>	cetuximab (<i>EGFR</i>), erlotinib (<i>EGFR</i>)
	t(11;15)(q21;q26)	<i>CRTC3-MAML2</i>	≥6 %			
<i>MEC (high - grade)</i>	t(6;22)(p21;q12)	<i>EWSR1-POU5F1</i>	-	-	<i>EWSR1-POU5F1</i>	-
<i>MASC</i>	t(12;15) (p13;q25)	<i>ETV6-NTRK3</i>	translokace 80% <i>ETV6</i> zlom 99%	-	<i>ETV6-NTRK3</i> , <i>IGF1R</i>	AZD7451(<i>NTRK3/TRKC</i>), BMS-754807 (<i>IGF1R</i> , <i>IR</i>), entrectinib (<i>NTRK3/TRKC</i>)
	t(12;?) (p13;?)	<i>ETV6-X</i>				
<i>HCCC</i>	t(12;22)(q13;q12)	<i>EWSR1-ATF1</i>	80%	-	<i>EWSR1-ATF1</i>	-
<i>CAMSG</i>	t(1;14)(p36.11;q12)	<i>ARID1A-PRKD1</i>	asi 80 %	-	-	-
	t(X;14)(p11.4;q12)	<i>DDX3X-PRKD1</i>				
	-	další abnormality <i>PRKD2</i> , <i>PRKD3</i>				
<i>EMC</i>	-	<i>HRAS</i> exon 3, kodon 61	27 % (malá série pacientů)	-	<i>MEK</i>	trametinib (<i>MEK</i>)
<i>Ca-ex-Pa</i>	-	<i>PLAG1-fúze</i> <i>HMGA2-fúze</i> <i>HER2 amplifikace</i>	-	t(8q12), t(12q14-15) <i>MDM2/HMGA2</i> amplif. <i>TP53</i> mutace	<i>PLAG1</i> , <i>HMGA2</i> , <i>HER2</i> , <i>MDM2</i>	trastuzumab (<i>HER2</i>), nutlin-3 analoga (<i>MDM2-TP53</i>)
<i>SDC</i>	-	<i>HER2 amplifikace</i>	až 1/3 případů	<i>AR+</i>	<i>HER2</i> , <i>BRAF</i> , <i>AR</i> , <i>PI3K</i>	trastuzumab (<i>HER2</i>), bicalutamid (<i>AR</i>), vemurafenib (<i>BRAF</i>), temsirolimus (<i>mTOR</i>)
<i>AciCC</i>	-	-	-	inaktivace <i>PTEN</i> a <i>APC</i>	<i>mTOR</i>	rapamycin, sirolimus (<i>mTOR</i>)
<i>DSRCT</i>	t(11;22)(p13;q12)	<i>EWS-WT1</i>	až 97 %	-	-	-
<i>NUT karcinom</i>	t(15;19)(q14, p13.1)	<i>BRD4-NUT</i>	přibližně 67 %	-	-	-
	t(9;15)(q34.2;q14)	<i>BRD3-NUT</i>	1/3 případů			
	(15;?)(q14;?)	<i>NUT-variant</i>				



3. 1. 2 Prognostický význam detekce nádorově specifických fúzních onkogenů u salivárních karcinomů

Dosud byl u maligních sialomů prokázán pouze jeden nádorově specifický fúzní onkogen, který se dá využít i jako prognostický marker, a to u mukoepidermoidního karcinomu (MEC).

Pacienti s MEC s prokázanou translokací t(11;19) (q21; p13) *CRTC1-MAML2* mají lepší prognózu než nemocní se stejným typem karcinomu, který je negativní na tuto translokaci. Pacienti s MEC pozitivním na *CRTC1-MAML2* vykazovali průměrné přežití 10 let oproti 1,6 let u pacientů s MEC negativním na tento fúzní onkogen, navíc s nižším rizikem vzniku recidiv a vzdálených metastáz [25]. Nejvyšší incidence fúzního onkogenu je u low -grade a intermediate - grade MEC. Delece v *CDKN2A/p16* genu u MEC pozitivních na fúzní onkogen je spojena se špatnou prognózou (většinou high - grade MEC) [25]. Tato delece je často prokazována i u MEC negativních na fúzní onkogen, taktéž se nepříznivou prognózou.

Na základě těchto znalostí může být MEC subklasifikován takto:

- 1) MEC t(11;19) (q21; p13) *CRTC1-MAML2* pozitivní, low - grade a intermediate - grade, žádné nebo minimální genomické abnormality, příznivá prognóza.
- 2) MEC t(11;19) (q21; p13) *CRTC1-MAML2* pozitivní, high - grade s/bez delece *CDKN2A*, četné genomické abnormality, nepříznivá prognóza.
- 3) MEC t(11;19) (q21; p13) *CRTC1-MAML2* negativní, high - grade adenokarcinom jinak nespecifikovaný podobný MEC, četné genomické abnormality, nepříznivá prognóza [24, 26].

Podle nejrecentnějších studií se ukazuje, že i světlobuněčný myoepiteliální karcinom slinných žláz s rearanží *EWSR1* genu a sekretorický karcinom slinných žláz s dosud blíže nedefinovaným fúzním onkogenem *ETV6-X* pravděpodobně představují agresivnější varianty těchto salivárních karcinomů a mohou být spojeny s horší prognózou [27, 28]. Tyto údaje je však třeba ještě potvrdit v dalších studiích.

3. 1. 3 Účinnost cílené léčby u salivárních karcinomů

Cílená terapie salivárních karcinomů je v dnešní době možná pouze v rámci klinických studií, a to většinou u pacientů s progresivními inoperabilními či recidivujícími nádory s/bez vzdáleného metastatického postižení. Hlavním problémem jsou většinou malé soubory pacientů a často také retrospektivní design studií z důvodu vzácného výskytu těchto malignit. Jako jediný výraznější terapeutický úspěch se dosud jeví pouze léčba trastuzumabem u pacientů se salivárním duktálním karcinomem s *HER2/neu* overexpresí nebo amplifikací [29, 30]. Vychází se zde ze zkušeností s léčbou invazivního duktálního karcinomu prsu, který má se salivárním duktálním karcinomem řadu nejen histomorfologických podobností. Trastuzumab byl použit v léčbě *HER2/neu* pozitivního salivárního duktálního karcinomu jak v monoterapii, tak i v kombinované léčbě s chemoterapií nebo jinou cílenou léčbou (např. lapatinib, bevacizumab), a to v indikaci paliativní i adjuvantní terapie [29, 30]. Dosud byly publikovány četné kazuistiky nebo retrospektivní case series. Prospektivní randomizované studie v podstatě není možné realizovat vzhledem k raritnosti tohoto nádoru. I tak bylo dosaženo překvapivě dobrých výsledků s řadou parciálních nebo i kompletních odpovědí na léčbu a zlepšení jak bezpříznakového, tak i celkového přežití pacientů [29, 30].

Trastuzumab je rekombinantní humanizovaná IgG1-kappa monoklonální protilátka, která se váže na specifickou doménu receptoru 2 lidského epidermálního růstového faktoru (*HER2*). Znemožňuje tak odštěpení mimobuněčné domény *HER2*, a tím blokuje aktivaci signalizačních kaskád *MAPK* (mitogen-activated protein kinase) a *PI3K-AKT* (phosphatidylinositol-3-kinase), které stimulují nádorovou proliferaci a invazivitu [31]. Trastuzumab také navíc inhibuje angiogenezi a vykazuje imunomodulační účinky (aktivuje buněčnou cytotoxicitu závislou na protilátkách).

3. 1. 4 Molekulární cytogenetické metody v diagnostice nádorů slinných žláz

Cytogenetika je obor zabývající se studiem struktury, funkce a evoluce chromozomů, včetně jejich chování v průběhu dělení zárodečných i somatických buněk [21]. Výrazným milníkem cytogenetického výzkumu v onkologii se v roce 1962 stalo objevení filadelfského chromozomu (Nowell, Hungerford), jakožto relativně specifického markeru pro chronickou myeloidní leukemii. Po této události došlo k postupnému rozvoji cytogenetických metod s cílem zjistit další specifické molekulárně genetické znaky i u ostatních malignit.

Cytogenetické metody je možno rozdělit na:

- klasické (pruhování chromozomů, mikroskopické hodnocení a počítačová analýza obrazu aj.)
- molekulární (např. srovnávací genomová hybridizace - CGH, fluorescenční in situ hybridizace - FISH, mnohobarevné karyotypování lidských chromozomů - mFISH, mnohobarevné pruhování s vysokou rozlišovací schopností - mBAND aj.) [21].

Kombinací těchto klasických a molekulárních metod se zvyšuje citlivost cytogenetických vyšetření o několik řádů [20].

Pro detekci nádorově specifických fúzních onkogenů u salivárních karcinomů se využívají především hybridizační techniky. Hybridizace (v roztocích, na nosičích, in situ) je metoda rekombinantní DNA analýzy, která je založena na specifickém spojení komplementárních nukleotidových sekvencí pocházejících z vyšetřované jednořetězcové DNA a uměle připravené jednořetězcové DNA nebo oligo/poly- nukleotidového řetězce, tzv. sondy (próby). Z důvodu vizualizace hybridizačního signálu je nutné, aby sonda byla značena:

- přímo (např. radioaktivním izotopem – jódu, síry, tricia, v současnosti spíše fluorescenčním barvivem - fluorochromem),
- nepřímo (např. haptinem s následnou detekcí pomocí značené protilátky - biotin detekován avidinem konjugovaným s fluorochromem). Výhodou je možnost zesílení hybridizačního signálu.

Při in situ metodě dochází k hybridizaci přímo ve vyšetřovaném biologickém materiálu, v případě salivárních karcinomů tedy v nádorových buňkách histologických řezů. Tato vyšetřovací metoda umožňuje lokalizovat a určit specifické sekvence nukleotidů, a to nejen v DNA, ale i v RNA. Jejím principem je denaturace vyšetřované DNA i sondy, čímž dojde k rozrušení vodíkových můstků mezi bázemi a oddělení řetězců. Poté se navodí reasociační podmínky, dojde k hybridizaci, tedy spojení značené sondy a cílové DNA podle pravidel komplementarity bází, což se projeví jako hybridizační signál, který je pozorován a vyhodnocen. K vyšetření specifických translokací u salivárních karcinomů se používají lokus specifické sondy. Nejčastěji využívanou metodou při cytogenetickém vyšetřování maligních sialomů je FISH. Detekce sondy je v tomto případě provedena s využitím imunofluorescence ve fluorescenčním mikroskopu s excitačním filtrem odpovídající vlnové délky, vyhodnocení je možné i pomocí počítačové analýzy obrazu. Při cytogenetické diagnostice salivárních karcinomů se jako pomocné využívají i další molekulárně biologické metody, a to především amplifikační techniky jako je polymerázová řetězová reakce (PCR) a reverzní PCR (RT-PCR). PCR je metoda pro enzymatickou syntézu specifických sekvencí DNA, kdy díky mnohonásobné replikaci je vytvořeno dostatek materiálu pro další cytogenetické vyšetření. RT-PCR pak umožňuje amplifikaci cDNA z výchozího RNA templátu, kdy se využívá reverzní transkripce RNA do prvního vlákna cDNA pomocí enzymu reverzní transkriptázy [20]. RT – PCR slouží i jako metoda k prokazování transkriptů fúzních onkogenů.

3.2 Adenoidně cystický karcinom slinných žláz

3. 2. 1 Definice

Adenoidně cystický karcinom (carcinoma adenoides cysticum, AdCC) je bazaloidní nádor stávající se z epiteliálních a myoepiteliálních buněk v různých morfologických konfiguracích, tvořících tubulární, kribriformní a solidní struktury [1]. Jedná se o nejčastější karcinom hlavy a krku infiltrující nervy, s peri- a intraneurálním šířením ve 20 - 80 % případů [32]. Ve srovnání s ostatními salivárními karcinomy je u AdCC popsáno v lidském těle nejvíce možných lokalizací, kde může tento nádor primárně vznikat. Kromě slinných

žláz postihuje i žlázu slznou, zvukovod a žlázy v horním aerodigestivním traktu (hrtan, nos a paranazální dutiny). Může ale vzácně vznikat i ve vzdálenějších orgánech jako je trachea, bronchy, prsní žláza, prostata, kůže, ovaria, děložní hrdlo nebo Bartoliniho žlázy [14, 33]. Biologické chování a prognóza AdCC se v jednotlivých lokalizacích liší [33, 34, 35]. AdCC slinných žláz je charakteristický svým pomalým růstem, a přestože se histologicky jedná o low - grade nádor, typickým jevem je častý prolongovaný klinický průběh trvající zpravidla roky, opakované recidivy, vznik především vzdálených metastáz a vysoká smrtelnost onemocnění.

3. 2. 2 Historie

AdCC byl poprvé popsán francouzskými autory Robinem, Lorainem a Laboulbenem ve dvou článcích publikovaných v roce 1853 a 1854 jako nádor s kribriiformním uspořádáním nádorových buněk a perineurální invazí postihující příušní žlázu i nosní dutinu [36]. V roce 1856 Billroth poprvé označil tento tumor termínem „cylindrom“ a upozornil také na vysokou tendenci k recidivám [37, 38]. V roce 1919 Ewing a v roce 1930 pak i Spies použili současný název „adenoidně cystický karcinom“ [39, 40]. I přes závěry prvního pozorování francouzských autorů popisujících infiltrativní růst, byl nádor dlouho považován za variantu pleomorfního adenomu. Až Dockerty a Mayo v roce 1942 popsali maligní povahu tohoto tumoru [41].

S označením „cylindrom“ jsme se mohli setkávat ještě v relativně nedávné minulosti. V této souvislosti se jedná o nevhodný a zavádějící termín, nevyjadřující biologickou povahu tohoto nádoru, navíc totožný s označením benigního kožní cylindromu, nádoru z potních žláz.

3. 2. 3 Epidemiologie

V souboru 5349 AdCC různých primárních lokalizací bylo 34,6 % nádorů velkých slinných žláz, 38,8 % nádorů malých slinných žláz, 13 % nádorů prsu, 5,4 % kožních tumorů, 3,8 % nádorů plic, 2,5 % nádorů ženského genitálu a 1,9 % nádorů orbity [33]. Incidence salivárního AdCC se uvádí 3 - 4,5 případů/1 milion obyvatel/rok (pro západní Evropu se uvádí rozmezí 0,14 – 0,64/ 100000 obyvatel/rok) [42, 43]. Údaje o incidenci tohoto zhoubného novotvaru mohou být zkresleny i obtížností histopatologické diagnostiky a možným nesprávným stanovením histologického typu tumoru, tedy záměnou za jiné NSŽ. AdCC představuje 1 % všech malignit hlavy a krku (podle některých autorů dokonce až 3 – 5 %) [42, 44]. Z hlediska výskytu NSŽ tvoří 10 % všech sialomů a 20 % všech salivárních karcinomů [14]. Je tak po mukoepidermoidním karcinomu druhou nejčastější salivární

malignitou. AdCC je nejčastějším maligním sialomem žlázy podčelistní. Je také považován za nejčastější karcinom malých slinných žláz, kde představuje asi 30 % ze všech nádorů postihujících tyto žlázy (někdy se uvádí až na druhém místě opět po mukoepidermoidním karcinomu) [14]. Vzniká především na patře, druhou nejčastější lokalizací jsou žlázy sliznice vedlejších nosních dutin. Je také pravděpodobně nejčastějším salivárním karcinomem jazyka [10]. Tvoří 12 - 15 % salivárních karcinomů příušní žlázy, 30 – 60 % žlázy podčelistní a 32 – 71 % karcinomů malých slinných žláz. Přibližně v 25 % případů vzniká ve velkých a v 75 % v malých slinných žlázách [14].

AdCC postihuje všechny věkové skupiny, nejvyšší incidence je ale u pacientů ve věku 40 až 60 let. Z hlediska výskytu u jednotlivých pohlaví není popsána významnější predilekce kromě AdCC podčelistních žláz, který vzniká téměř výhradně u žen [10]. Některé studie ale udávají u ženského pohlaví všeobecně mírně vyšší výskyt. V souboru 3026 AdCC hlavy a krku postihovaly tyto nádory v 81,66 % pacienty europoidní rasy, v 9,45 % afroameričany, v 7,77 % asiaty a v 1,12 % případů rasy ostatní [45].

3. 2. 4 Klinické příznaky

Klinické projevy AdCC slinných žláz závisí na lokalizaci nádoru. V malých slinných žlázách se projevuje jako pomalu rostoucí, většinou asymptomatické zduření, v době diagnózy vzácně přesahující rozměr 4 cm. Sliznice nad tumorem může být intaktní (většinou v jazyku), v nejčastější lokalizaci na patře se udává ulcerace v 50 – 60 % případů [10]. Pohmatově jsou tyto novotvary většinou fixované k okolním strukturám (kost, měkké tkáně), s hmatnou indurací. Bolest, která je dávana do souvislosti s perineurálním šířením, stejně jako parestézie, hypestézie či dysestézie bývají méně častými příznaky. U lézí patra je třeba si uvědomit, že klinicky patrný tumor může být jen pověstnou „špičkou ledovce“ a podstatně větší část nádoru může být přítomna v nosní či čelistní dutině nebo v nasofaryngu (viz kapitola 3. 2. 6). V těchto případech se již většinou nedá určit, zda se jedná o karcinom primárně vzniklý ve slinných žlázách patra prorůstající do nosu či vedlejších nosních dutin nebo je tomu naopak (karcinom propagující se ze slizničních žláz těchto lokalizací do úst) **obrázek 15**.



Obrázek 15 - AdCC vycházející velmi pravděpodobně ze žlázy sliznice spodiny nosní dutiny vlevo, T4N0M1, G1, 4. stadium (mnohočetné plicní metastázy). Nádor se šíří do levé čelistní dutiny, na patro a do vestibula frontálního úseku maxilly, CT axiální řez, Zdroj: Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN Plzeň, přednosta: Prof. MUDr. Boris Kreuzberg, CSc.

AdCC žláz sliznice nosu a paranasálních sinů jsou dlouho skryté klinickému vyšetření. Pokud se projevují, příznaky jsou často nespecifické, příliš se neliší od běžných rinosinuitid (obturacy nosního dýchání, přední nosní sekrece nebo zadní směrem do nosohltanu, obličejová bolest nebo jen tlak nad dutinami, snížení nebo ztráta čichu, epistaxe). Bez endoskopického vyšetření jsou tyto nádory často patrné, až když prorůstají do svého okolí (dutin ústní, kůže tváře apod.).

AdCC velkých slinných žláz se většinou projevuje jako nebolestivé, pomalu rostoucí zduření, zpočátku pouze hmatné, později již s viditelnou obličejovou asymetrií. V příušní žláze je relativně často popisována bolest a periferní paréza lícního nervu, která může být prvním příznakem onemocnění (vzhledem k dominující lokalizaci AdCC v povrchovém listu parotidy se většinou jedná o parézu jen některé z větví lícního nervu). V podčelistní žláze se AdCC relativně často projevuje jako obstruktivní sialadenitida.

Je třeba zdůraznit, že růst AdCC nehledě na lokalizaci vzniku bývá velmi pomalý. Nejsou výjimkou stavy, kdy nádor perzistuje i několik let bez povšimnutí pacienta a bohužel i klinického lékaře. Dlouhá doba perzistence a často i nepříliš „dramatický“ vzhled lézí mohou být někdy dokonce mylně považovány za „důkaz“, že se nejedná o závažné onemocnění a není tak těmto patologickým stavům věnována větší pozornost. Někdy zase mohou být tyto nádory méně zkušenými lékaři zaměněny za jiné, častější léze **obrázek 16**.



Obrázek 16 - AdCC malé slinné žlázy tvrdého patra, který byl mylně považován a léčen jako palatinální absces odontogenní etiologie při kariézně destruovaném chrupu.

U pokročilých a rozsáhlejších nádorů bývají většinou přítomny některé z následujících symptomů či komplikací: bolest, paréza některé z větví lícního nervu, přítomnost nekrotických vředů kůže i sliznice nad tumorem, osteolýza obličejového skeletu až vznik patologických zlomenin dolní čelisti nebo oroantrálních/oronazálních komunikací, dysfagie, odynofagie, omezené otvírání úst při prorůstání nádoru do žvýkacích svalů, fixace jazyka s dysartrií, oftalmoplegie s diplopií a jiná oční symptomatika při prorůstání nádoru do očnice, krvácení a zánětlivé komplikace. Při postižení regionálních lymfatických uzlin metastázami mohou být takto zvětšené uzliny klinicky patrné aspekci nebo jen hmatné. V případě přítomnosti vzdálených metastáz se mohou objevit příznaky z orgánu, kam došlo k diseminaci nádoru (nejčastěji plíce). Stejně tak mohou být při vyšetření patrné obecné celkové příznaky onkologických onemocnění (kachexie, marasmus, anémie apod.).

3. 2. 5 Biologické chování

Klinický průběh onemocnění u pacientů postižených AdCC slinných žláz se často zdánlivě jeví indolentní, ale z dlouhodobého hlediska se jedná o jeden z nejagresivnějších a nejméně předvídatelných nádorů hlavy a krku.

3. 2. 5. 1 Nádorový růst, recidivy

Růst nádoru je typicky pomalý, infiltrativní s postupnou destrukcí všech okolních tkání. I poměrně rozsáhlá invaze do kosti nemusí být zpočátku radiologicky patrná. Typická je peri- a intraneurální invaze a šíření, a to i

diskontinuálním způsobem (skip lesions), což je příčinou zasahování tumoru za klinické a radiologické hranice [10]. To je také jeden z důvodů obtížného radikálního chirurgického odstranění AdCC a tak i vysokého rizika recidiv, které mohou být diagnostikovány i několik let od primární manifestace nádoru **obrázek 17, 18**. Vznik lokálních recidiv se udává v 16 - 85 % případů a je považován za závažnou známku nevyлéčitelnosti AdCC [1].



3. 2. 5. 2 Metastazování

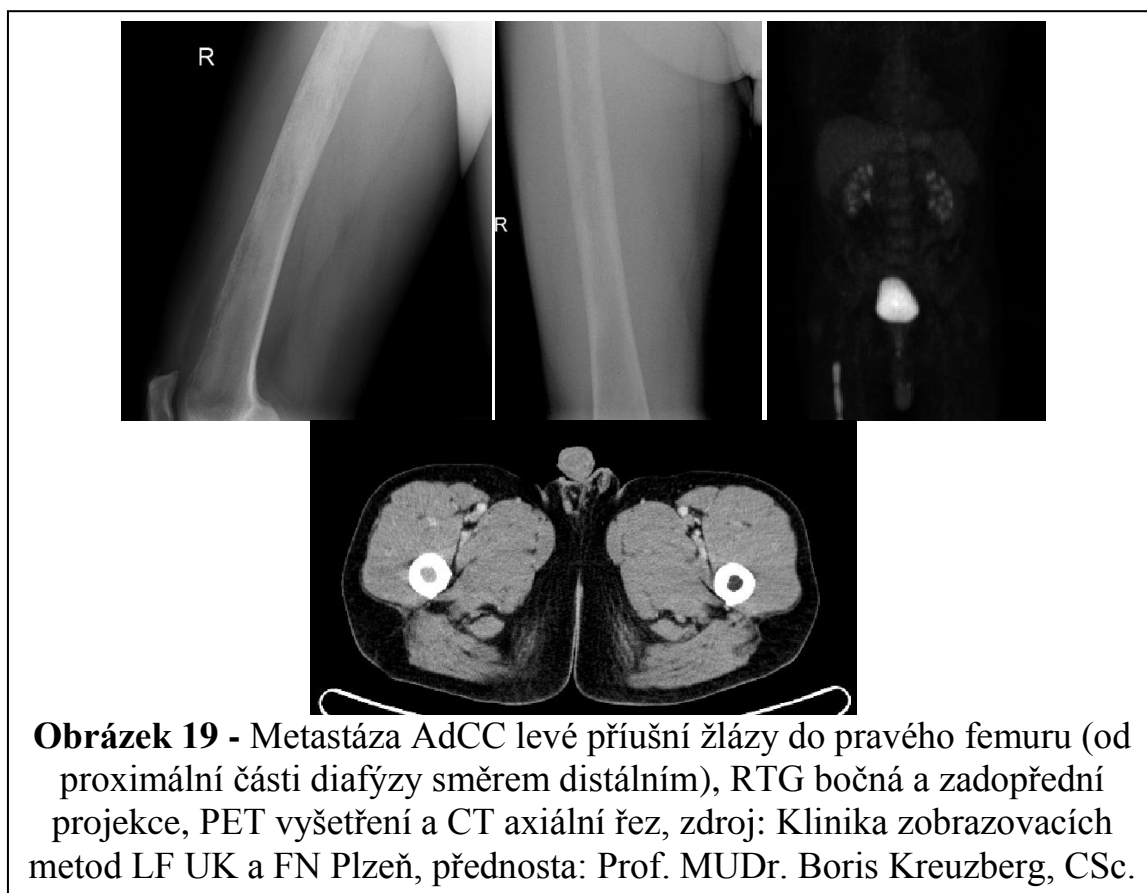
Lymfogenní metastázy

AdCC slinných žláz je maligním nádorem, u něhož se lymfogenní metastazování do regionálních lymfatických uzlin tradičně považuje za vzácné (6 – 10 %), vznikající jen při nekontrolovaném pokročilém či recidivujícím onemocnění [44]. Jedná se ale pravděpodobně o nesprávný údaj, neboť výskyt regionálních nodálních metastáz je nejspíše podhodnocen z důvodu četného okultního postižení a také z důvodu nepříliš obvyklého provádění krčních disekcí (elektivní nejsou standardně doporučovány), a tím i absence histopatologického vyšetření [42]. Podle recentních prací se ukazuje, že regionální uzlinové postižení je u tohoto karcinomu častějším jevem, než se dříve soudilo. Ve studii s 270 pacienty s AdCC byly u 29 % (79/270) nemocných histologicky verifikovány regionální nodální metastázy [44]. Obzvláště u orálních AdCC malých slinných žláz jsou metastázy v krčních lymfatických uzlinách relativně časté (37 %, 55/148 pacientů) oproti AdCC velkých slinných žláz (19 %, 18/95 pacientů) [44]. V jiné práci byly dle lokalizace popsány uzlinové metastázy v 19,2 % případů AdCC baze jazyka, 17,6 % v pohyblivé části jazyka a v 15,3 % případů karcinomu ústní spodiny [46]. AdCC slinných žláz nejčastěji metastazují do uzlinových oblastí I až III, nehledě na lokalizaci primárního nádoru (85 % pacientů s metastázami orálních AdCC, 55 % s metastázami AdCC velkých slinných žláz) [44]. Při elektivních krčních disekcích byly prokazovány okultní mikrometastázy v 15,4 - 17 % případů [44, 47]. Nejčastější postižení klinicky nedetekovatelnými metastázami v lymfatických uzlinách bylo zaznamenáno u AdCC malých slinných žláz (22 % u orálních tumorů a 16 % u karcinomů paranazálních dutin) [44]. U AdCC podčelistní žlázy navíc může docházet k přímému prorůstání nádoru do okolních lymfatických uzlin, což je dle současné TNM klasifikace hodnoceno také jako uzlinová metastáza [48]. Oproti tomu metastázy v intraglandulárních lymfatických uzlinách nebo jejich postižení při přímé progresi nádoru, s kterými se také setkáváme, a to především u AdCC příušní žlázy, jsou hodnoceny jako N0 [48]. U AdCC s high - grade transformací se vyskytují metastázy v regionálních lymfatických uzlinách ve více jak 50 % případů [11, 15, 49]. Vyšší incidence nodálních metastáz se udává i u solidní varianty AdCC (grade 3) [15].

Hematogenní metastázy

Metastazování hematogenní cestou je u AdCC častým jevem (20 - 60 % případů) nezávislým na lokoregionální kontrole onemocnění [14]. Dle jedné studie byly vzdálené metastázy jediným projevem choroby (pacienti bez lokoregionální recidivy či perzistence tumoru) u 74 % pacientů se vzdálenou nádorovou diseminací (82/111 pacientů) [50]. Vzdálené metastázy jsou

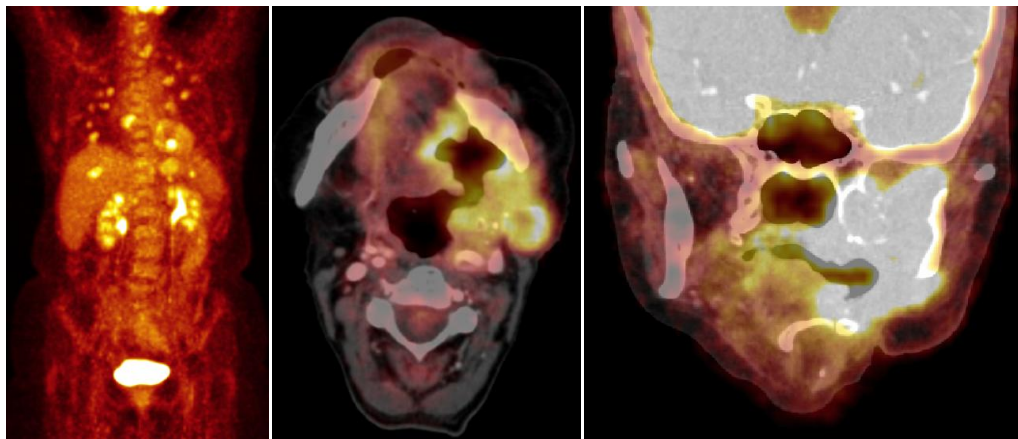
relativně často detekovány již v době diagnózy, a to i v případě karcinomů malých rozměrů (dle jedné studie nejméně 20 % případů časných stádií AdCC, které nebyly recidivami) [10, 51]. U AdCC se tak ukazuje, že potenciál k nádorovému růstu a schopnost metastazovat jsou dvě nezávislé vlastnosti nádoru [10]. Průměrná doba od stanovení diagnózy AdCC do detekce vzdálené diseminace je 48 měsíců. Ani pozdní vzdálené metastázy AdCC nejsou ojedinělým jevem. U 20 % pacientů vznikají mezi 8 – 20 rokem po stanovení diagnózy [51]. Nejčastějším místem pro vznik vzdálených metastáz jsou plíce (74,5 % ze 145 pacientů se vzdálenými metastázami), kam se nádor šíří hemtogeně cestou vnitřní jugulární žíly. Méně časté je pak postižení skeletu (6,9 %), jater (3,4 %) nebo mozku (2,1 %) **obrázek 19**. Více než jedna lokalizace byla diagnostikována u 13,1 % pacientů [51]. Existuje i určitá souvislost mezi histologickým typem AdCC a tendencí k hematogennímu rozsevu tumoru, kdy nejrizikovější je solidní varianta AdCC. Výskyt vzdálených metastáz byl zaznamenán u 27,3 % pacientů s tubulárním, 29,9 % s kribriformním a 47,7 % nemocných se solidním AdCC [51].



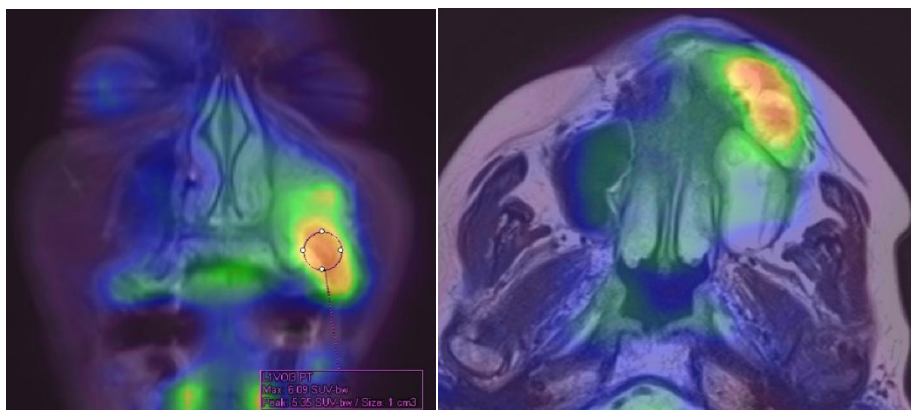
3. 2. 6 Diagnostika

Součástí diagnostiky AdCC je anamnéza, klinické vyšetření a vyšetření pomocí zobrazovacích metod. Definitivní stanovení diagnózy je možné pouze na základě histopatologického vyšetření. Zobrazovací vyšetřovací metody dokáží ve většině případů rozlišit nádor od jiných patologických stavů, ale mají nízkou specifitu v rozlišení jednotlivých typů NSŽ (výjimkou může být např. lipom příušní žlázy na CT nebo MR). Vyšetření zobrazovacími metodami tak slouží především k nádorovému stagingu (stanovení rozsahu a klinické pokročilosti maligního onemocnění, určení klinického stadia), naplánování chirurgické i onkologické léčby (radioterapie), kontrole terapeutické odpovědi a včasného zachycení lokoregionální recidivy nebo nově vzniklých metastáz. Pro diagnostiku NSŽ má v současné době význam především USG (včetně dopplerovského vyšetření a elastografie mízních uzlin v případě maligní lymfadenopatie), CT, MR a poté metody hybridní, kombinující morfologické a funkční zobrazení, a to v této indikaci hlavně PET/CT nebo PET/MR s ^{18}F -FDG nebo ^{18}F -FLT **obrázek 20, 21**.

U nádorů malých slinných žláz lokalizovaných na patře je nutné vždy zjistit integritu kosti patra pomocí 3D zobrazovacích metod (především CT, MR, ale i CBCT) a tak vyloučit či potvrdit eventuální propagaci tumoru do nosu či čelistní dutiny nebo naopak prorůstání nádoru z těchto lokalizací do úst. Toto vyšetření tedy zásadně ovlivňuje stanovení klinického stadia onemocnění, a tak i další postup a léčbu. U AdCC mají vzhledem k relativně vysokému výskytu vzdálených metastáz význam právě hybridní metody v rozsahu celotělového vyšetření. Jedině tak lze pouze jedním vyšetřením provést staging nebo kontrolu vývoje onemocnění a/nebo účinku léčby. ^{18}F -FDG PET/CT může ale v diagnostice vzdálených metastáz selhávat v situacích, kdy primární nádor prokazuje jen minimální akumulaci radiofarmaka (může se vyskytovat právě u AdCC) [42]. V těchto případech může být i primární tumor příslušné slinné žlázy zakryt fyziologickou kumulací radiofarmaka ve žláze nebo zvýšeným vychytáváním v případě konkomitantního zánětu. Rozhodující je pak korelace s morfologickým nálezem (CT v rámci hybridního zobrazení).



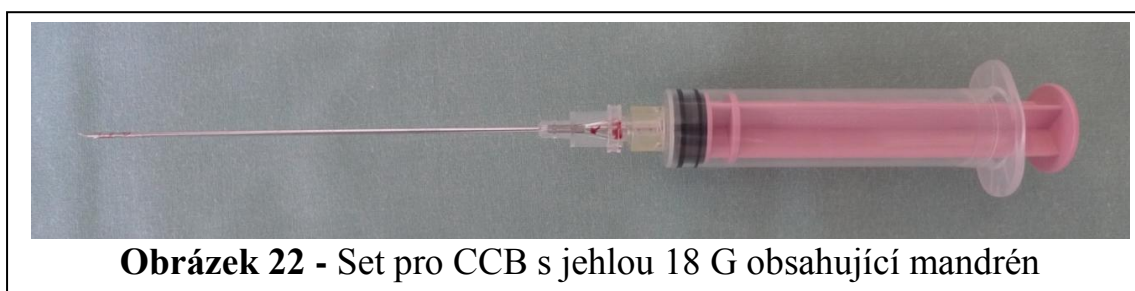
Obrázek 20 - ^{18}F -FDG PET a PET/CT axiální a koronární řez - rozsáhlá recidiva AdCC levé podčelistní žlázy s generalizací do plic (mnohočetné plicní metastázy), zdroj: Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN Plzeň, přednosta: Prof. MUDr. Boris Kreuzberg, CSc.



Obrázek 21 - ^{18}F -FDG PET/MR koronární a axiální řez - recidiva AdCC malé slinné žlázy ústní předsíně maxilly vlevo, zdroj: Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN Plzeň, přednosta: Prof. MUDr. Boris Kreuzberg, CSc.

Diagnostická excize nádorů velkých slinných žláz je vzhledem k možnosti rozesevu nádorových buněk a zvýšeného rizika recidivy kontraindikována (připouští se pouze u rozsáhlých exulcerovaných tumorů s porušením kožního či slizničního krytu). Za akceptovatelný bioptický odběr tkáně je považována tenkojehlová punkční biopsie/cytologie (fine-needle aspiration biopsy/cytology - FNAB, FNAC) a tzv. core - cut biopsie (core needle/cut biopsy – CNB, CCB). Jedná se o minimálně invazivní metody, při kterých se využívá speciálních jehel, pro FNAB šíře 22 - 25 G, pro CCB pak většinou 18 G **obrázek 22**. FNAB lze provést ambulantně, často i bez lokální anestezie, buď „naslepo“, nebo ideálně pod kontrolou USG. Získaný materiál se vyšetřuje cytologicky. Tato metoda slouží k odlišení nádoru od zánětu, epiteliální

malignity od lymfomu či sarkomu nebo primárního tumoru od metastázy [1]. CCB se pro vyšetření slinných žláz užívá teprve od konce 90. let minulého století. Jedná se také o ambulantní výkon, který již ale většinou vyžaduje lokální anestezii a USG kontrolu. Odebraný bioptický materiál se vyšetřuje histologicky. Při získání adekvátního množství tumorózní tkáně je zkušený patolog schopen stanovit nejen dignitu, ale i histologický typ nádoru. Diagnostická přesnost je limitována přesností odběru (nižší pokud prováděna „naslepo“), množstvím odebrané tkáně a již zmíněnou heterogenitou NSŽ. FNAB i CCB jsou jen minimálně rizikové z hlediska rozesevu nádorových buněk. Dosud jsou popsány 2 případy této komplikace při CCB s využitím jehel 14 - 16 G, ale i několik případů při FNAB [52]. I přes to, že riziko je velice nízké, někteří autoři doporučují preventivně excidovat bioptický kanál při následném chirurgickém výkonu [52]. I další komplikace obou těchto bioptických metod jsou vzácné (krvácení, poškození důležitých anatomických struktur, např. lícního nervu). Podle recentní studie srovnávající CCB a FNAB v diagnostice lézí slinných žláz byla CCB úspěšnější bioptickou metodou, která by měla být preferována v preoperační diagnostice tumorů velkých slinných žláz, především pak při podezření na malignitu [52]. V této studii bylo provedeno 228 CCB a 371 FNAB s výsledky: přiměřenost bioptického vzorku (97,4 % versus 93,8 %), senzitivita (88,2 % versus 58,2 %), specificita (99,4 % versus 98,6 %), pozitivní prediktivní hodnota (97,8 % versus 88,9 %), negativní prediktivní hodnota (96,6 % versus 92,6 %) a přesnost nádorové typizace (88,3 % versus 70,7 %), přičemž rozdíly v senzitivitě a přesnosti nádorové typizace byly statisticky významné. Schopnost správně klasifikovat maligní sialomy byla 76,5 % versus 18,2 % a benigní NSŽ pak 91,8 % versus 80,5 % ve prospěch CCB [52].



Narozdíl od nádorů velkých slinných žláz se u sialomů malých slinných žláz připouští klasická probatorní biopsie (incisional biopsy), neboť se tumor následně stejně odstraňuje i s povrchovou sliznicí a okolními tkáněmi a biopsii lze provést s minimálním rizikem rozsetí nádorových buněk [10]. Peroperační zmrazená biopsie je ze všech nádorů hlavy a krku nejvíce kontroverzní právě u NSŽ (z důvodů již výše zmiňovaných). Diagnostická přesnost u tohoto způsobu histologického vyšetření je u benigních nádorů

98,7 %, u maligních tumorů je však nedostatečná, a to 85,9 % [1]. Definitivní diagnóza je tak nejspolehlivěji stanovena až pooperačním histologickým vyšetřením preparátu.

3. 2. 7 Intraoseální AdCC

Intraoseální (centrální) salivární karcinomy jsou vzácné nádory čelistí tvořící méně než 0,4 % všech maligních sialomů [53]. Nejčastějším histologickým typem je mukoepidermoidní karcinom, na druhém místě je pak právě AdCC [10, 14]. Dosud bylo publikováno přibližně 37 případů intraoseálního AdCC mandibuly, první v roce 1955 Bumstedem [54]. Histologicky se tento nádor neliší od AdCC postihujícího slinné žlázy, ale pro jasné stanovení diagnózy intraoseálního karcinomu je nutné splnění kritérií dle Batsakise [55].

- 1) osteolýza patrná při radiologickém zobrazovacím vyšetření,
- 2) intaktní kortikalis kosti čelisti,
- 3) intaktní slizniční kryt nad lézí,
- 4) nepřítomnost primárního AdCC ve velkých či malých slinných žlázách (a tím vyloučení, že se jedná o metastázu do čelistí) a
- 5) histologická verifikace AdCC [55].

Pokud nejsou splněna některá z těchto kritérií, neznamená to nutně, že se nemůže jednat o intraoseální AdCC, jeho nitrokostní původ však nelze již zcela jednoznačně stanovit (např. intraoseální AdCC větších rozměrů, kde již růstem nádoru došlo k porušení kortikalis nebo i slizničního či kožního krytu). Z tohoto hlediska je horní čelist problematickou lokalitou vzhledem k malému objemu kostní tkáně navíc s minimálním množstvím spongiózy a přítomností čelistních dutin. Pokud AdCC vznikne v maxille jako centrální nádor, velmi záhy prorůstá do maxilárních sinů nebo přes sliznici do dutiny ústní a nelze již jednoznačně odlišit od AdCC malých slinných žláz nebo žláz sliznice čelistní dutiny.

Patogeneze intraoseálního AdCC je nejasná, uvažuje se o 2 možných způsobech vzniku:

- 1) maligní transformace tkáně slinných žláz vývojově zavzaté do dolní čelisti (ektopická retromolární slinná žláza, embryonální zbytky podčelistní či podjazykové žlázy v mandibule). Dle jedné studie se ektopická tkáň slinných žláz prokazuje v 0,3 % kostních biopsiích z čelistí [56].
- 2) maligní transformace hlen secernujících buněk vycházejících z odontogenního epitelu (z cystické výstelky, z epiteliálních zbytků dentální lišty) [53].

Klinicky i radiologicky může intraoseální AdCC imitovat řadu benigních i maligních lézí postihujících čelistní kosti (cysty, odontogenní nádory aj.). Podle publikovaných případů se zdá, že má intraoseální AdCC shodné biologické chování jako AdCC slinných žláz [53].

3. 2. 8 Histopatologický obraz AdCC

Podle klasické histogenetické hypotézy pocházejí nádorové buňky AdCC z oblasti vsunutých vývodů [25].

AdCC je většinou ohraničený, ale neopouzdržený nádor, infiltrující okolní tkáň. Je tvořen dvěma hlavními typy buněk, a to duktálními a modifikovanými myoepiteliálními, pro které jsou typická zahnutá hyperchromatická jádra a často také vodojasná cytoplazma. V AdCC se rozlišují se tři růstové struktury: tubulární, kribriformní a solidní [1]. Nejčastější kribriformní struktura je charakterizována hnízdy buněk s válcovitými pseudocystickými prostory, které jsou vyplněny hyalinním nebo bazofilním mukoidním materiálem. Tubulární struktura je tvořena dobře formovanými vývody a tubuly s centrálními luminy, které jsou lemovány uvnitř epiteliálními a zevně myoepiteliálními buňkami. Solidní (bazaloidní) struktura je formována uniformními malými bazaloidními buňkami s minimální cytoplazmou, které tvoří ani tubulární ani mikrocystické struktury [1]. V kribriformní a solidní variantě nádoru se vyskytují i malé pravé vývody, které nemusejí být ihned patrné. Každá ze tří výše popsaných struktur může být v nádoru výrazně dominantní nebo častěji je jen jednou z komponent kompozitního tumoru. Nádorové stroma je obvykle hyalinizované (někdy i poměrně extenzivně s útlumem epiteliální komponenty) a může vykazovat i mucinózní nebo myxoidní rysy.

Častým nálezem je perineurální a intraneurální invaze. V kontrastu s dřívějšími názory šíření podél nervů není pravděpodobně závislé na anatomické lokalizaci primárního tumoru [50]. Může dosahovat na značné vzdálenosti od klinických ale i radiologických hranic karcinomu. Perineurální invaze je definována jako přítomnost nádorových buněk v jakékoliv ze tří vrstev vazivového obalu periferního nervu (epineurium, perineurium, endoneurium) nebo méně jak 33 % přímé neurální invaze [57]. Tato perineurální invaze pak může být klasifikována jako p1, zatímco přítomnost nádorových buněk v těsné blízkosti nervů bez invaze do jejich obalů jako p2 [58].

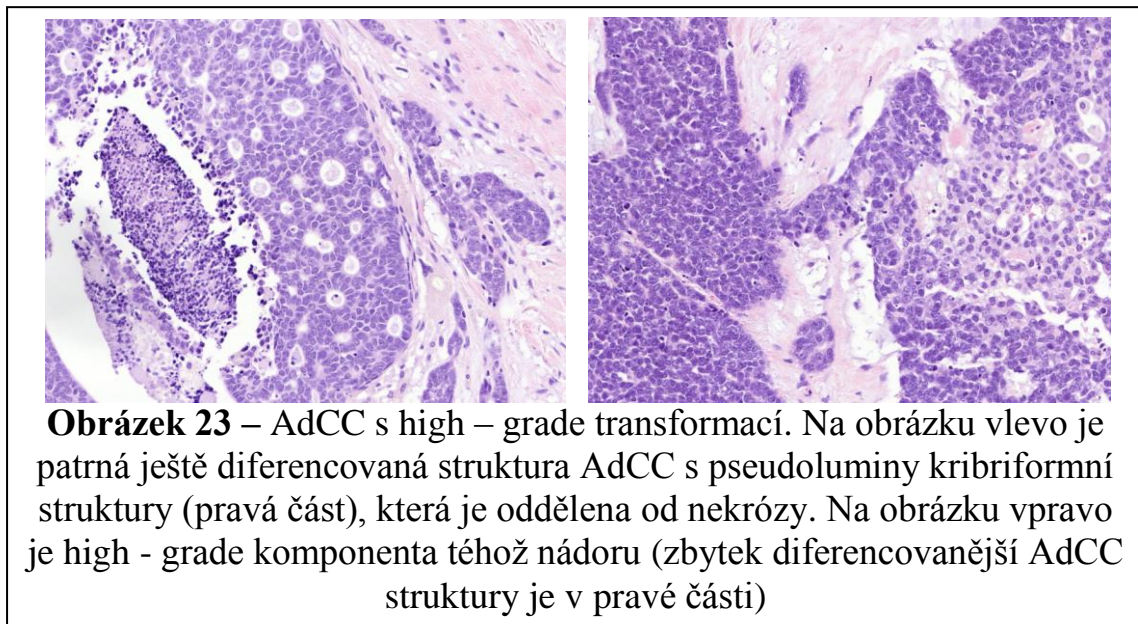
Imunohistochemické vyšetření je nespecifické a není příliš nápomocné v odlišení AdCC od jiných NSŽ. Buňky AdCC jsou pozitivní na cytokeratiny (CK) *AE1/3*, *CK 34bE12*, *CK5/6*, *CK7*, *CK14*, *CK18*, *p63*, *CA19-9*, *c-KIT*

(*CD117*), *PDGFRA*, *MUC1*, *Ki-67*, *EMA*, *CEA*, *CAM5.2*, *p53*, *CD10*, protein *S-100* a synaptophysin a negativní na *CK8*, *CK20*, desmin, *CD34*, chromogranin, *MUC2*, *MUC5AC* a *MUC6* [59]. Nejlepší způsob jak v obtížných případech rozlišit AdCC a polymorfní nízcce maligní adenokarcinom, jeden z NSŽ s podobným histologickým obrazem, je stanovení MIB1 indexu, který je u AdCC výrazně vyšší (dle jedné studie je průměrný MIB1 index u AdCC 21,4 % versus 2,4 % u polymorfního nízcce maligního adenokarcinomu) [60].

3. 2. 9 High - grade transformace AdCC

High - grade transformace (dediferenciace) je definována jako histologická progresse nízcce maligního tumoru do vysoce maligního, přičemž nádor ztrácí rysy původní linie diferenciace [11]. Dochází tak k akcelerovanému nádorovému růstu, častému metastatickému postižení regionálních mízních uzlin a/ nebo vzniku vzdálených metastáz, a tím i k výraznému zhoršení prognózy nehledě na histologický typ původního nádoru. Tento jev, prvně popsán u sarkomů, byl u salivárních karcinomů nejdříve popsán v roce 1988 u acinického karcinomu, v roce 1999 pak i u AdCC [61, 62]. Dosud je publikováno více jak 40 případů high - grade transformace AdCC. Vzniká většinou u pacientů starších 60 let s mírnou převahou u mužů, výrazně častěji v primárním nádoru oproti recidivě [11]. AdCC s high - grade komponentou se skládá z konvenční části nádoru různé růstové struktury (většinou kribriformní a tubulární) a high - grade karcinomu se ztrátou histologických znaků typických pro AdCC **obrázek 23**. Tyto dvě nádorové složky mohou být v různém poměru zastoupení a ve většině případů jsou od sebe jasně odděleny, někdy může být přítomna i přechodová zóna. High - grade komponenta je zpravidla špatně diferencovaný adenokarcinom nebo nediferencovaný karcinom. Před stanovením diagnózy high - grade transformace je nutné pečlivě odlišit tento jev od konvenčního AdCC solidního typu (grade 3). High - grade komponenta je často také převážně solidní struktury, která je ale většinou ostře oddělena od struktury kribriformní či tubulární, narozdíl od AdCC solidního typu, kde je patrné promíchání. Obsahuje velká (nejméně 2 - 3 krát oproti grade 1 a 2) pleomorfní jádra se ztlustělou nepravidelnou membránou, výraznými centrálními jádérky, vesikulárním chromatinem a vysokou mitotickou aktivitou. N/C poměr je střední. Nekrózy (až komedonového typu) a mikrokalcifikace jsou výrazně častějším jevem, stroma je fibrocelulárně desmoplastické. Specifický je mikropapilární a squamoidní růst [11, 15]. Imunohistochemicky je prokazována ztráta myoepiteliálních markerů, častá je overexprese *p53* a *Ki-67* > 50 % [11, 15].

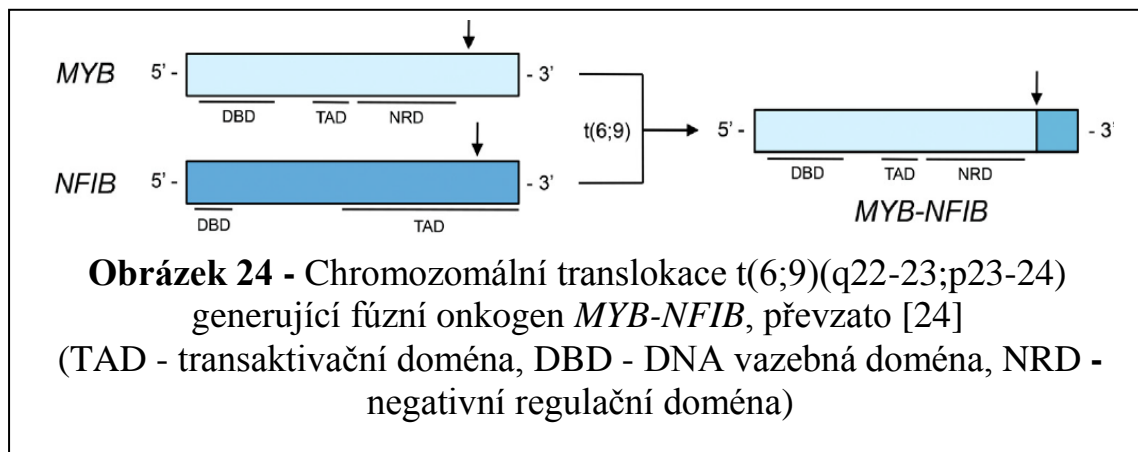
AdCC s high - grade transformací je nádor s vysoce agresivním chováním, u něhož byly prokázány metastázy v krčních lymfatických uzlinách v 57, 1 % případů [63]. Průměrné přežití těchto pacientů je 12 - 36 měsíců [11].



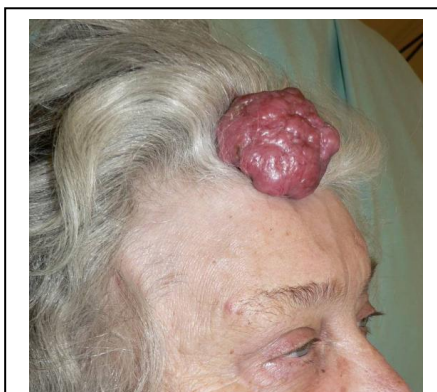
3. 2. 10 Molekulárně genetické znaky AdCC

Pro AdCC slinných žláz je typická chromozomální translokace $t(6;9)(q22-23;p23-24)$, která generuje fúzní transkript *MYB-NFIB* **obrázek 24** [6, 19, 24, 25, 42]. *MYB-NFIB* fúzní onkogen byl poprvé popsán u AdCC Perssonem a kolektivem v roce 2009 [64]. Gen *MYB* (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog), lokalizovaný v oblasti 6q22-23, kóduje transkripční faktor. Tento protein hraje zásadní roli v regulaci buněčné proliferace, diferenciace a apoptózy, a tím pravděpodobně i v tumorigenezi. *MYB* je vysoce exprimován v nezralých a proliferujících epiteliálních, endoteliálních a hematopoetických buňkách a naopak down-regulován v době, kdy se tyto buňky stanou diferencovanými [19, 25]. Gen *NFIB* (Nuclear Factor I/B), lokalizovaný v oblasti 9p23-24, patří do rodiny dimerních DNA-vazebných proteinů fungujících jako buněčný transkripční faktor. Vznik fúzního onkogenu *MYB-NFIB* vede ke ztrátě 3' konce *MYB* genu (exonu 15), místa, kde dochází k negativní regulaci *MYB* exprese [19, 25]. Následná zvýšená exprese fúzního transkriptu a proteinu pak aktivuje transkripci *MYB* cílových genů, které mají zásadní roli v onkogenní transformaci. Tyto cílové geny jsou zodpovědné za regulaci buněčného cyklu (*CCNB1*, *CDC2*, *MAD1L1*), apoptózy (*API5*, *BCL2*, *BIRC3*, *HSPA8*, *SET*) a buněčného růstu a angiogeneze (*MYC*, *KIT*, *VEGFA*, *FGF2*, *CD53*) [19, 25]. Malá část AdCC je negativní na *MYB-NFIB* fúzní onkogen, ale i přesto u nich dochází ke

zvýšené expresi *MYB* mRNA a proteinu. Zvýšená transkripční aktivace zřejmě intaktního *MYB* genu je v těchto případech způsobena inzercí segmentu z 9p23–p22.3 (obsahujícího 3' konec *NFIB*) centromericky od genu *MYB* a nebo vzniká následkem t(6;9) translokace se zlomovým bodem vně, a to 10–100 kb telomericky od *MYB* genu [19].



MYB-NFIB fúze nebo rearanže *MYB* genu, které vedou k jeho aktivaci, a tím ke zvýšené expresi *MYB-NFIB* fúzního proteinu nebo *MYB* onkoproteinu, byly dosud ze salivárních karcinomů i jiných karcinomů hlavy a krku prokázány pouze u AdCC, a to ve více jak v 80 % případů [6, 19, 24]. Jedná se tak o charakteristický znak těchto maligních sialomů, který se dá využít jako diagnostický marker, s výhodou především u vzdálených metastáz. Tímto vzniká i otázka, zda AdCC negativní na tyto molekulárně genetické změny jsou skutečně AdCC nebo se jedná o jiné salivární karcinomy s podobnou morfologií (např. polymorfní nízcce maligní adenokarcinom, bazocelulární adenokarcinom apod.). Není bez zajímavosti, že u sporadického cylindromu, benigního kožního nádoru z potních žláz, který predilekčně vzniká v oblasti hlavy a krku, byly prokázány identické molekulárně genetické znaky, a to v 67 % případů **obrázek 25** [65].



Obrázek 25 -
Nesyndromový cylindrom
kůže čela

Na základě současných znalostí nemůže *MYB-NFIB* fúze a/nebo *MYB* aktivace sloužit jako prognostický marker, jediná prokázaná klinicko-patologická korelace je statisticky signifikantní asociace mezi *MYB-NFIB* fúzí a zvyšujícím se věkem (>50 let) [25].

MYB-NFIB fúze a/nebo *MYB* aktivace může být u AdCC diagnostikována RT-PCR analýzou fúzních transkriptů, metodou FISH pomocí specifických sond (např. ZytoLight® SPEC MYB Dual Color Break Apart Probe - ZytoVision GmbH, Bremerhaven, Germany, SureFish NFIB Break Apart probe, SureFish MYB-NFIB Fusion probe - Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA) a nebo imunohistochemicky průkazem *MYB* proteinů.

Zcela recentně byl u AdCC popsán nový fúzní onkogen *MYBL1-NFIB* jako následek translokace t(8;9) [66, 67]. *MYBL1* gen na chromozomu 8q má téměř identickou DNA vazebnou doménu a podobnou celkovou strukturu jako *MYB*. Ve studii se 102 AdCC vykazovalo 53 % nádorů translokací t(6;9), 14 % translokací t(8;9) a 33 % AdCC bylo negativních na obě translokace [66]. Alterace *MYBL1* genu byly zaznamenány u 17 % AdCC, ve 12 % se jednalo *MYBL1-NFIB* fúzi a 5 % tvořilo *MYBL1* zkrácení nebo *MYBL1-YTHDF3* fúze. Translokace t(8;9) a jiné rearanže genu *MYBL1* byly zjištěny u 35 % AdCC negativních na translokaci t(6;9) [66]. Expresse *MYB* a *MYBL1* se zdají být reciproční, *MYB* exprese nebyla detekována u nádorů pozitivních na *MYBL1-NFIB* fúzi. Zcela nově byla u AdCC také zjištěna fúze 5' konce *NFIB* s *XRCC4*, *PTPRD*, *NKAIN2* a *AIG1* a translokace t(8;14) generující fúzní onkogen *MYBL1-RAD51B* [66, 67].

Na základě současných znalostí může být AdCC geneticky subklasifikován takto:

AdCC s translokací t(6;9) pozitivní na *MYB–NFIB* fúzi

AdCC s translokací t(6;9) negativní na *MYB–NFIB* fúzi

AdCC s translokací t(8;9) pozitivní na *MYBL1–NFIB* fúzi

AdCC negativní na translokaci t(6;9) i t(8;9).

V jednotlivých případech byly u salivárních AdCC navíc prokázány translokace: t(6;12)(p21;q13), t(6;14)(q22;q11), t(6;9)(q23eq25;p22ep24), t(6;15)(q25;q15), t(1;9)(q21;p21e22), der(9)i(9)(q10)inv(9)(q12q13) a der(X)t(X;9)(p21;p22e23) [34]. Mutace v tumor supresorovém genu *TP53* je u AdCC prokazována ve 40 - 100 % případů (častěji u solidní varianty), *p53* exprese pak v 17 - 87 % případů. Bylo také zjištěno, že down- regulace *p53* in vitro zvyšuje perineurální invazivitu AdCC [68]. Mutace v *SMARCA2* genu nebyly zatím prokázány jako specifické pro žádný určitý typ zhoubného nádoru. Vzhledem k tomu, že byly detekovány právě u AdCC, mohlo by se jednat o gen podílející se na kancerogenezi tohoto sialomu [68]. Aneuploidie byla u AdCC diagnostikována v 16 % (kribriformní varianta) až 67 % případů (solidní varianta) [34].

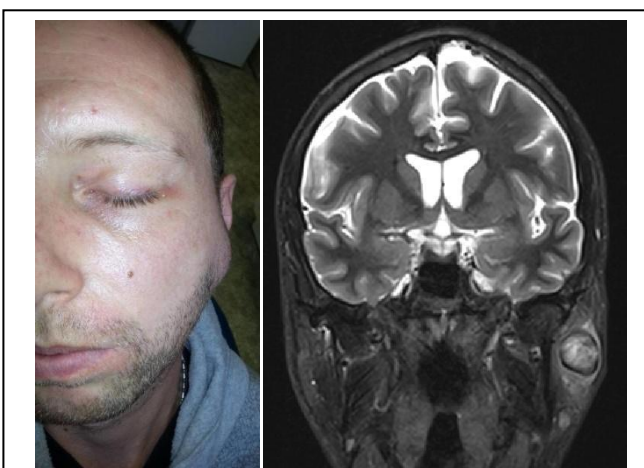
Oproti jiným malignitám byl u AdCC zjištěn relativně stabilní genom s malým množstvím mutací [24, 68]. Molekulární aberace (somatické mutace, strukturní varianty, delece nebo fokální amplifikace) zjištěné u 84 pacientů s AdCC klasifikované podle jednotlivých drah shrnuje **tabulka 4**.

Tabulka 4 – Geny s molekulárními aberacemi u AdCC [68, 69]

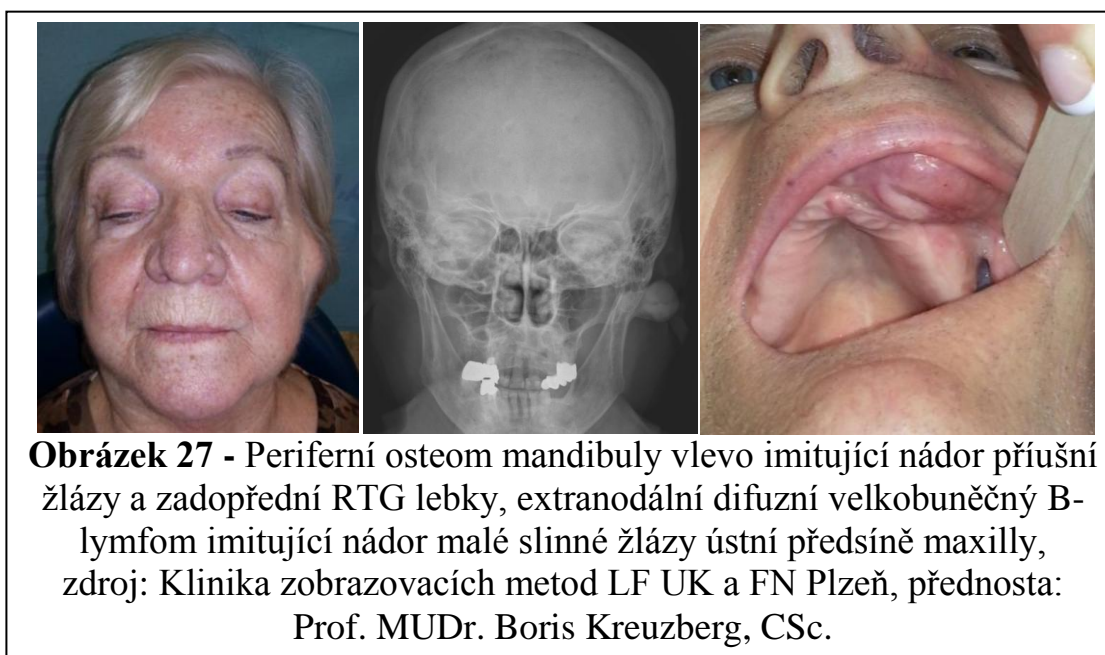
Dráha	Četnost výskytu	Ho AS, Kannan K, Roy DM, Morris LG, Ganly I, Katabi N, et al. The mutational landscape of adenoid cystic carcinoma. <i>Nat Genet.</i> 2013;45(7):791-798.	Stephens PJ, Davies HR, Mitani Y, Van Loo P, Shlien A, Tarpey PS, et al. Whole exome sequencing of adenoid cystic carcinoma. <i>J Clin Invest.</i> 2013;123(7):2965-2968.
<i>MYB/MYC</i>	70 %	<i>MYB, NFIB, MYBL1, MYCN, MYCBP2, MGA, MCM4</i>	<i>MYB</i>
Epigenetické modifikace (přestavba chromatinu)	44 %	<i>SMARCA2, SMARCE1, ARID1A, ATRX, SRCAP, CREBBP, KDM6A, KDM6B, JMJD1C, EP300, ARID4B, ARID5B, BRD1, MLL3, FTSDJ1, HIST1H2AL, HIST1H1E, MORF4L1, KAT6A, KANSL1, SETD2, NSD1, BCOR, BCORL1</i>	<i>CREBBP, SF3B1, ARD1A, SPEN*, EP300, KDM6A, MLL3, ARID1B, SMARCA2, CHD2, BRD2, ARID5B, KDM5A</i>
DNA poškození/kontrolní body	21 %	<i>TP53, UHRF1, TXNIP, ATM, BRCA1, DCLRE1A, PRKDC, SMC1A, TLK1</i>	<i>ATM, CDKN2A</i>
<i>FGF/IGF/PI3K</i> signalizace	26 %	<i>PI3KA, PTEN, FOXO3, FGF16, FGFR4, IGFBP2, ILR17RD, INSR, MAG1, MAG2, ERBB2IP, HRAS, MAPK2</i>	<i>FGFR2, TSC1, PI3KA</i>
<i>NOTCH</i> signalizace	13 %	<i>NOTCH1, FOXP2, DTX4, FBXW7, CNTN6, MAML3</i>	<i>NOTCH1, NOTCH2</i>
ostatní	-	<i>RYR3, RYR2, PTPRG, PTPRH, PTPRJ, PTPRK, HSPG2, IDH1, NTNG1, SEMA3G, SEMA5A, FAT3, FAT4</i>	<i>SUFU, CYLD</i>

3. 2. 11 Diferenciální diagnostika

Vzhledem k tomu, že AdCC se klinicky neprojevuje žádnými specifickými příznaky, je nutné zvažovat všechny sialomy a nádory v lokalizaci slinných žláz, benigní i maligní, a to nejen epiteliální, ale i lymfomy, sarkomy, spinocelulární karcinomy kožního či slizničního původu, event. nádory sekundární, které se také mohou vyskytovat v této oblasti **obrázek 26, 27**. Na AdCC slinné žlázy můžeme se značnou mírou nepřesnosti usuzovat jen podle pravděpodobnosti výskytu v dané lokalizaci nebo klinických příznaků jako bolest, paréza lícního nervu apod.



Obrázek 26 - Metastáza kožního maligního melanomu do levé příušní žlázy, MR T2 vážený obraz koronární řez, zdroj: Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN Plzeň, přednosta: Prof. MUDr. Boris Kreuzberg, CSc.



Obrázek 27 - Periferní osteom mandibuly vlevo imitující nádor příušní žlázy a zadopřední RTG lebky, extranodální difuzní velkobuněčný B-lymfom imitující nádor malé slinné žlázy ústní předsíně maxilly, zdroj: Klinika zobrazovacích metod LF UK a FN Plzeň, přednosta: Prof. MUDr. Boris Kreuzberg, CSc.

Někdy mohou i jiné nenádorové patologické stavy imitovat NSŽ **obrázek 28**.



Při histopatologickém vyšetření je třeba AdCC odlišit od pleomorfního adenomu, polymorfního nízce maligního adenokarcinomu, epiteliálně - myoepiteliálního karcinomu, bazocelulárního adenomu/adenokarcinomu a bazaloidního dlaždicobuněčného karcinomu [1].

3. 2. 12 Pravidla pro klasifikaci AdCC – kódování, typing, grading, staging

NSŽ jsou řazeny mezi nádory hlavy a krku. Dle Mezinárodní statistické klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů, 10. revize (MKN-10, aktualizovaná k 1. 4. 2014) zahrnují salivární karcinomy velkých slinných žláz kódy C07 - C08.9, zatímco zhoubné nádory malých slinných žláz jsou kodovány dle místa jejich výskytu (v podstatě C00 - C14, kromě C07 - C08.9) nebo jako nádory neurčené lokalizace (C06.9) [70].

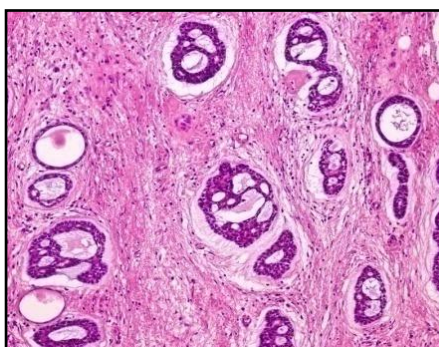
Dle Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii (MKN-O, 3. vydání, rok 2000, v české verzi rok 2004) má AdCC kód 8200/3 [71]. Pravidla pro histopatologickou diagnostiku (typing) se řídí podle tzv. "modré knihy Světové zdravotnické organizace" - WHO klasifikace nádorů: Patologie a genetika nádorů hlavy a krku z roku 2005 [1].

Existuje několik gradingových systémů pro AdCC, které jsou založeny pouze na stanovení typu a zastoupení jednotlivých histopatologických růstových struktur v nádoru (solidní, kribriformní, tubulární) a které korelují s biologickou aktivitou onemocnění a mají tak i prognostický význam **tabulka 5, obrázek 29, 30, 31** [72, 73, 74]. Současná WHO klasifikace doporučuje spíše než číselné stanovení gradeu označení převažující růstové struktury AdCC. Pokud je přítomna struktura solidní, měl by být uveden procentuální

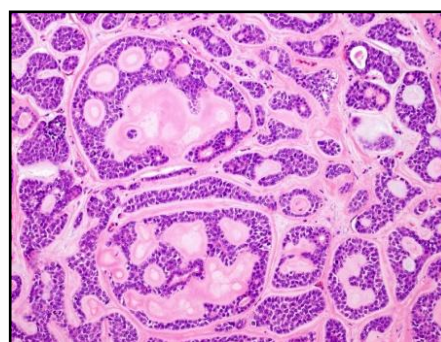
podíl této komponenty. Pokud $> 30\%$ tkáně nádoru je tvořeno solidní strukturou je podle gradingu Perzin/Szanto považován za high - grade AdCC (grade 3), u gradingu podle Spiro je k tomu zapotřebí $> 50\%$ (grade 2 a 3). U nádorů s podílem solidní komponenty $> 30\%$, ale $< 50\%$ se oba gradingové systémy rozcházejí o 2 stupně (Perzin/Szanto grade 3, Spiro grade 1) [72, 73, 74]. Stanovení procentuálního podílu je navíc obtížné. Recentně Weert a kolektiv navrhli nový zjednodušený gradingový systém, který zohledňuje pouze to, zda je karcinom pozitivní (s+) či negativní (s-) na solidní růstovou strukturu [75]. Dle těchto autorů se ukazuje, že pouhá přítomnost solidní komponenty neohledně na převažující strukturu má signifikantní vliv na prognózu onemocnění [75]. Tento nový gradingový systém by tak měl vykazovat shodnou prediktivní schopnost z hlediska přežití jako systémy předešlé.

Tabulka 5 - Srovnání tradičních gradingových systémů AdCC

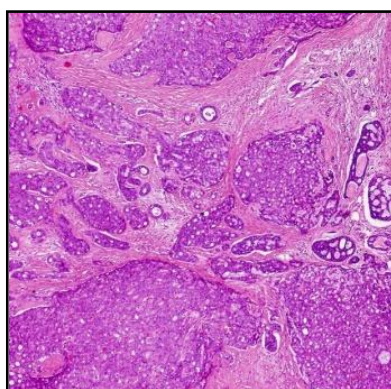
Grade - Perzin et al., Szanto et al. [72, 73]		Grade - Spiro et al. [74]	
1	Převážně tubulární, bez solidní komponenty	1	Převážně tubulární nebo kribriformní struktura, příležitostně solidní
2	Převážně kribriformní, solidní komponenta $< 30\%$	2	Směšaná struktura se značným podílem solidní komponenty $> 50\%$
3	Solidní komponenta $> 30\%$	3	Pouze solidní struktura



Obrázek 29 - Grade 1



Obrázek 30 - Grade 2



Obrázek 31 - Grade 3

Rozsah onemocnění (staging) je určován podle TNM klasifikace zhoubných novotvarů (7. vydání, rok 2009, v české verzi rok 2011) **tabulka 6** [48].

Tabulka 6 – TNM klasifikace salivárních karcinomů [48]

T – Primární nádor	
TX	primární nádor nelze hodnotit
T0	bez známek primárního nádoru
T1	≤ 2 cm, bez šíření mimo parenchym
T2	> 2cm ≤ 4 cm, bez šíření mimo parenchym
T3	> 4cm a/nebo šíření mimo parenchym
T4a	kůže, mandibula, zevní zvukovod, n. facialis
T4b	baze lebni, ploténky křídlovitého výběžku kosti klínové, a. carotis
N – Regionální mízní uzliny (Regionálními mízními uzlinami jsou mízní uzliny krční)	
NX	regionální mízní uzliny nelze zhodnotit
N0	v regionálních mízních uzlinách metastázy nepřítomny
N1	stejnostranná jediná ≤ 3 cm
N2	a) stejnostranná jediná >3cm ≤ 6cm b) stejnostranné vícečetné ≤ 6cm c) oboustranné, druhostranné ≤ 6cm
N3	> 6 cm
M – Vzdálené metastázy	
MX	vzdálené metastázy nelze hodnotit
M0	vzdálené metastázy nepřítomny
M1	vzdálené metastázy přítomny

Pozn.: šíření mimo parenchym znamená klinické nebo markoskopické známky invaze do kůže, měkkých tkání, kostí či nervů. Samotné mikroskopické známky nepředstavují šíření mimo parenchym pro účely klasifikace.

Mízní uzliny ve střední čáře se považují za stejnostranné.

Stadium I	T1	N0	M0
Stadium II	T2	N0	M0
Stadium III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Stadium IVA	T4a	N0, N1	M0
	T1, T2, T3, T4a	N2	M0
Stadium IVB	T4b	jakékoliv N	M0
	jakékoliv T	N3	M0
Stadium IVC	jakékoliv T	jakékoliv N	M1

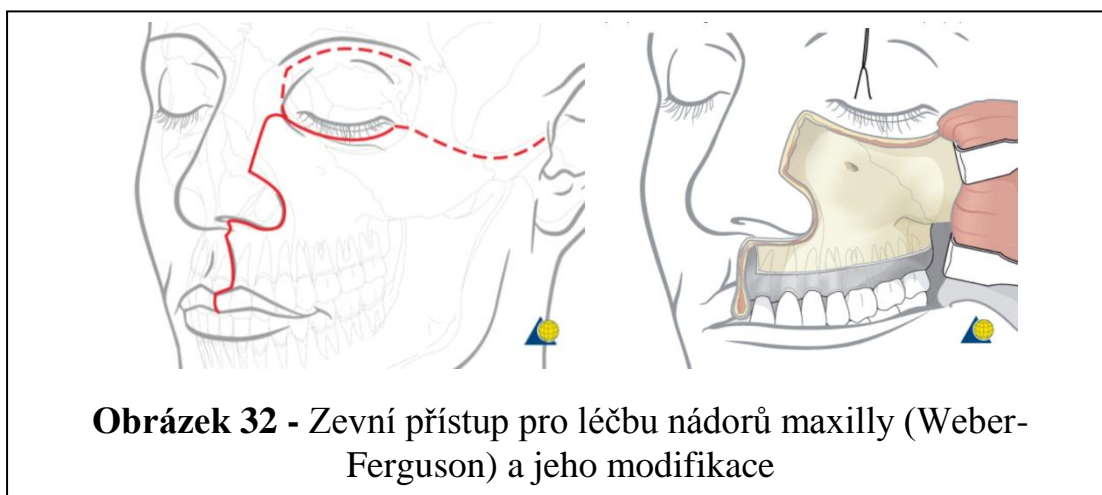
3. 2. 13 Léčba

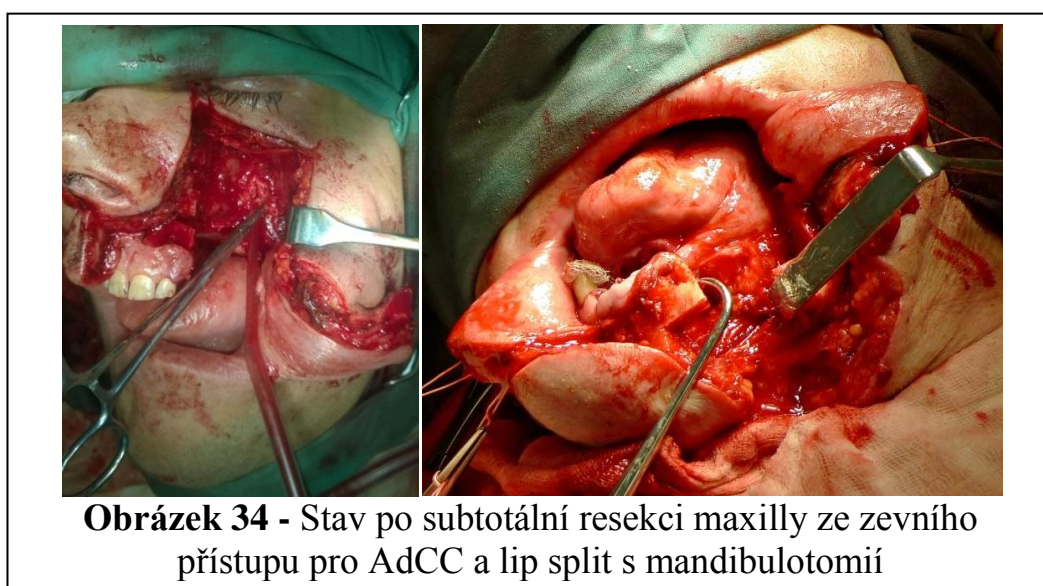
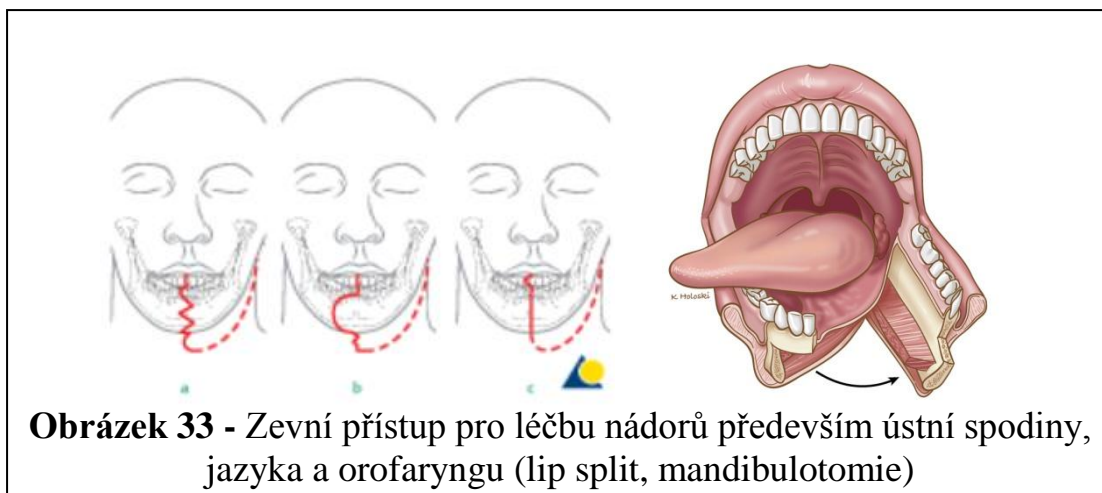
Terapie AdCC slinných žláz je ovlivněna především lokalizací nádoru, klinickým stadiem onemocnění a samozřejmě celkovým zdravotním stavem pacienta. Základní terapeutické modalitty jsou chirurgie a radioterapie, v současné době u operabilních nádorů stále indikované jako „zlatý standard“ v podobě primárně chirurgické léčby s adjuvantní radioterapií [42]. Chemoterapie a cílená léčba mají zatím pouze omezený význam a jejich účinnost a vhodná léčebná agens jsou stále předmětem výzkumu.

3. 2. 13. 1 Chirurgická terapie

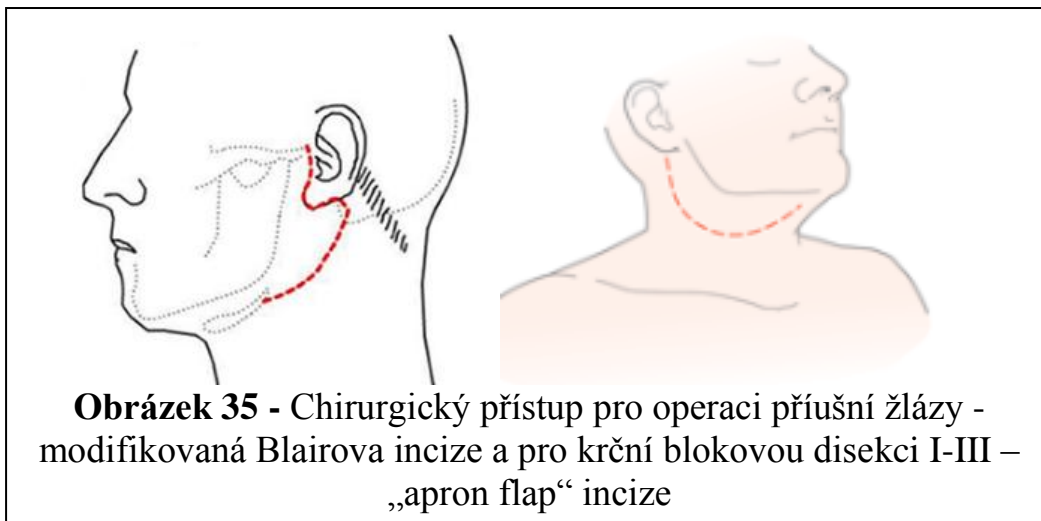
Léčba AdCC je primárně chirurgická. Principem je radikální excize či resekce včetně lemu zdravé tkáně kolem nádoru. Cílem je dosažení tzv. „čistých“ resekčních okrajů bez histologicky prokazatelné nádorové infiltrace. Vzhledem k častému peri- či intraneurálnímu šíření, které způsobuje zasahování tumoru za klinické a radiologické hranice, a to i diskontinuálním způsobem, by okraje měly být co možná nejširší. Neradikální odstranění nádoru je relativně častým problémem zvláště v hůře přístupných anatomických lokalizacích (infratemporální jáma, parafaryngeální prostor apod.). Dle jedné studie 80 % AdCC v oblasti baze lební mělo po excizi pozitivní resekční okraje, i přes to, že tyto karcinomy byly preoperačně označeny zkušeným chirurgem za radikálně operabilní [76].

V případě AdCC malých slinných žláz se může jednat o excizi pouze měkkých tkání dutiny ústní (např. menší nádory v oblasti tváře, rtu, jazyka, ústní spodiny a orofaryngu) nebo excizi měkkých tkání současně s různě rozsáhlými resekčními výkony na čelistech (v případě lokalizace tumoru v blízkosti čelistních kostí nebo již do nich invadujícím). V mandibule může být resekce kosti provedena bez/ s přerušением kontinuity čelisti (marginální/segmentální), v horní čelisti mohou být resekce částečné nebo úplné (alveolopalatinální/ subtotální/ totální), při progresi nádoru za hranice maxilly pak s resekci lícni kosti, exenterací orbity apod. Někteří autoři kvůli perineurálnímu šíření standardně doporučují ukončovat kraniální resekční okraj na bazi lební [10]. Chirurgické přístupy k těmto výkonům mohou být dle rozsahu AdCC transorální nebo zevní **obrázek 32, 33, 34**.



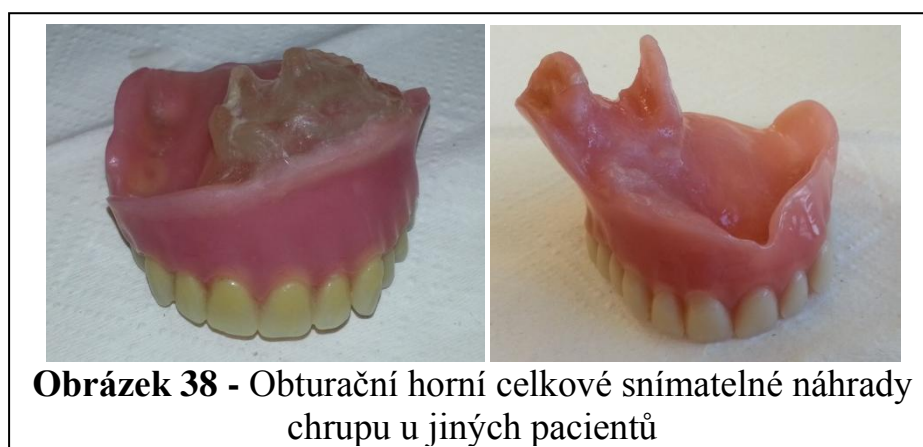


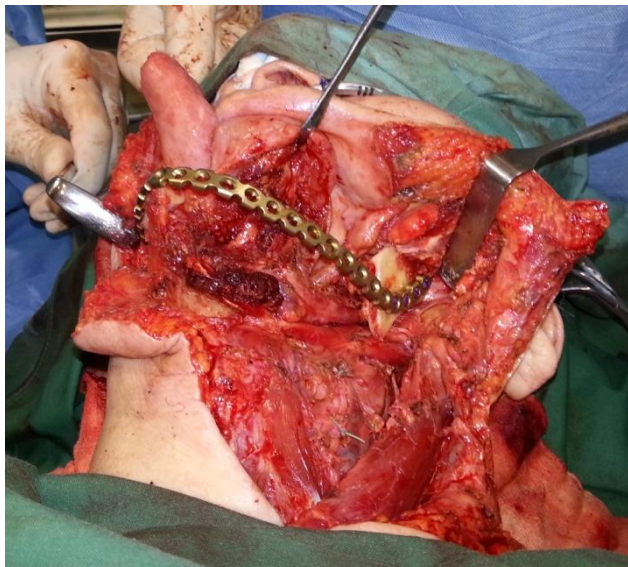
Chirurgická léčba AdCC velkých slinných žláz představuje u příušní žlázy většinou totální parotidektomií, u žlázy podčelistní krční blokovou disekcí v rozsahu I-III (dříve tzv. supraomohyoidní) a u žlázy podjazykové jsou postupy podobné jako u malých slinných žláz **obrázek 35, 36**. V případě totální parotidektomie, pokud není postižen lícní nerv (předoperačně absence parézy, dle peroperačního nálezu) někteří autoři připouštějí i nervšetřící (konzervativní) operaci, pokud následuje adjuvantní radioterapie [77]. V opačném případě se ideálně selektivně resekují větve nervu postižené nádorem s možnou následnou primární rekonstrukcí autologním nervovým štěpem (většinou z nervus auricularis magnus) nebo se provádí totální parotidektomie bez šetření lícního nervu s resekci v úrovni foramen stylomastoideum [10]. U AdCC podčelistní žlázy doporučují někteří autoři rozšířit krční disekci o resekci dalších anatomických struktur jako např. nervus lingualis, musculus mylohoideus a musculus hyoglossus [10].



Po chirurgickém odstranění nádoru je obvykle nutná rekonstrukce operované krajiny zajišťující zachování nebo obnovení porušených či ztracených funkcí. Rekonstrukce může být chirurgická nebo protetická a jejím cílem je zajištění orální kontinence, řeči, estetiky, schopnosti zpracování stravy a jejího posunu aborálním směrem a zabránění aspirace. Chirurgickou rekonstrukci dále dělíme na primární (v jedné době s onkochirurgickým výkonem) nebo sekundární (operace v druhé době). Využívá se technik přímé sutury, nevaskularizovaných volných tkáňových štěpů (kůže, kost, tuk), rekonstrukce mandibuly pomocí osteosyntetických dlah nebo různých stopkatých laloků místních nebo ze vzdálenějších anatomických lokalizací, které jsou často složené z více tkání (laloky fasciomyokutánní nebo i osteomyokutánní, např. lalok m. pectoralis major, lalok m. sternocleidomastoideus aj.). Tyto rekonstrukční postupy je možno dle potřeby i různě kombinovat. Nejnáročnějšími výkony jak z hlediska operačního tak i perioperační péče

jsou pak volné laloky s mikrovaskulární anastomózou vyžadující mikrochirurgickou operační techniku (např. čínský lalok nebo kompozitní laloky obsahující kost např. fibulární, skapulární, lalok z lopaty kyčelní aj.). Součástí protetické rekonstrukce jsou epitézy, které mají pouze estetickou funkci (překrývají např. defekty po exenteraci očnice). Mohou být nesené na brýlích nebo kotvené na intraoseálních implantátech. Dále sem řadíme obturátory či obturační protézy uzavírající rozsáhlé oroantrální a oronazální komunikace po resekcích horní čelisti, čímž je umožněn příjem stravy a řeč (k retenci se využívá postoperačních defektů) **obrázek 37, 38, 39**. Protetická rekonstrukce mívá většinou horší estetické i funkční výsledky, hlavní výhodou oproti chirurgickým postupům je jednoduchost, minimální komplikace a možnost přímo kontrolovat defekty z hlediska recidivy onemocnění v průběhu dispenzarizace.





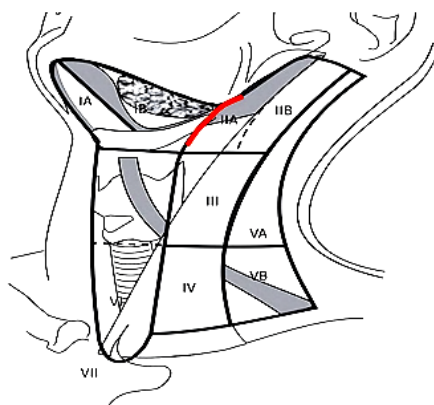
Obrázek 39 – Primární rekonstrukce mandibuly pomocí titanové dlahy

AdCC slinných žláz metastazuje do regionálních lymfatických uzlin častěji, než se dříve soudilo [44]. V případě klinického podezření na uzlinové metastázy (na základě klinického a zobrazovacích vyšetření), tedy při cN+, je indikována stejnostranná terapeutická bloková krční disekce, a to v rozsahu modifikované radikální nebo v případě extrakapsulárního šíření metastáz pak radikální nebo extendované radikální krční disekce. Elektivní bloková disekce tradičně nebyla u AdCC indikována vzhledem k předpokládané nízké incidenci uzlinových metastáz a tím i okultního postižení. Obecně jsou tyto elektivní výkony prováděny z důvodu odstranění okultních uzlinových mikrometastáz, a to při riziku výskytu více než 15 - 20 % [78]. Podle recentních studií se však ukazuje, že se klinicky nedetekovatelné nodální metastázy vyskytují u 17 % pacientů s AdCC, u orálních nádorů malých slinných žláz pak ještě častěji [44] (viz kapitola 3. 2. 5. 2). Při takto vysoké incidenci by již elektivní krční disekce, a to ipsilaterální v rozsahu I-III (okultní nodální metastázy byly zjištěny pouze v těchto lokalizacích), byly ospravedlnitelné a mohly by být indikovány. Podle recentní studie s 457 pacienty s AdCC slinných žláz, kdy 226 pacientů (49 %) podstoupilo kromě odstranění primárního nádoru i elektivní krční disekci a u 231 nemocných (51 %) byl pouze resekován primární tumor, se zjistilo, že 5leté celkové přežití je u první skupiny 72 % a u druhé 79 % a 5leté nádorově specifické přežití pak 74 % resp. 81 % [79]. Takže statistická analýza neukázala žádné výhody z hlediska přežití u pacientů podstupujících elektivní krční disekci. Vzhledem k tomu, že tyto preventivní výkony by měly být indikovány nejen podle rizika incidence okultních metastáz v lymfatických uzlinách, ale i podle očekávaného vlivu léčby na přežití, nejsou podle výsledků dosud

prezentovaných studií elektivní krční disekce u AdCC slinných žláz nadále indikovány. Léčba by ale samozřejmě měla být založena na základě rozhodnutí mezioborového týmu a individualizována podle rizikovosti jednotlivých pacientů. Proto, jak vyplývá z předešlého textu, by u pokročilých AdCC slinných žláz (T3/T4), AdCC grade 3, AdCC s high - grade transformací nebo histologicky verifikovanou angio-/lymfangioinvazí měly být elektivní krční disekce zvažovány [49].

V případě lokoregionálních recidiv jsou indikované záchranné chirurgické postupy včetně krční disekce, pokud je zapotřebí.

Rozdělení krčních uzlinových oblastí a blokových disekcí krčních uzlin znázorňuje **obrázek 40, 41, 42, 43** a **tabulka 7** [80].



Obrázek 40 - Rozdělení krčních uzlinových oblastí [80]

- I** kraniálně – tělo mandibuly
 posteriorně – dorzální okraj submandibulární žlázy, (musculus stylohyoideus)
 anteriorně – ventrální břicho kontralaterálního musculus digastricus
 kaudálně – dolní okraj jazyčky
- Ia** – trigonum submentale, **Ib** - trigonum submandibulare
- II** kraniálně – baze lebni
 posteriorně – dorzální okraj m. sternocleidomastoideus (SCM)
 anteriorně – dorzální okraj submandibulární žlázy, (musculus stylohyoideus)
 kaudálně – úroveň dolního okraje jazyčky
- IIa** – anteriorně od nervus accessorius (N. XI), **IIb** – posteriorně od N. XI
- III** kraniálně – úroveň dolního okraje jazyčky
 posteriorně – dorzální okraj m. SCM
 anteriorně – musculus sternohyoideus
 kaudálně – úroveň dolního okraje prstencové chrupavky
- IV** kraniálně – úroveň dolního okraje prstencové chrupavky
 posteriorně – dorzální okraj m. SCM
 anteriorně – musculus sternohyoideus
 kaudálně – klavikula
- V** kraniálně – processus mastoideus
 posteriorně – musculus trapezius
 anteriorně – dorzální okraj m. SCM
 kaudálně – klavikula
- Va** - kraniálně od linie dolního okraje prstencové chrupavky, **Vb** – kaudálně
- VI** kraniálně - dolní okraj jazyčky
 laterálně – aretria carotis
 kaudálně - incisura jugularis manubrium sterni
- VII** horní mediastinum – kraniálně - incisura jugularis manubrium sterni
 laterálně – aretria carotis
 kaudálně - vena brachiocephalica

Tabulka 7 – Klasifikace blokových disekcí krčních uzlin (odstranění fibrotukové a lymfatické tkáně krku s eventuálním odstraněním přilehlých anatomických struktur krku „en bloc“) [78, 80]

Klasifikace blokových krčních disekcí podle:	Kategorie:
Indikace	oportunní (při operaci na krku z důvodu odstranění nádoru/rekonstrukce) elektivní (profylaktické, preventivní) terapeutické záchranné
Načasování	současně s resekcí primárního nádoru odložené
Vztahu k resektu primárního nádoru	kontinuální diskontinuální
Operované strany	unilaterální bilaterální
Rozsahu odstraněných uzlinových oblastí a nelymfatických anatomických struktur	superselektivní selektivní modifikované radikální radikální extendované radikální

Pozn.

superselektivní (odstranění fibrotukové a lymfatické tkáně z ≤ 2 na sebe navazujících oblastí, ostatní struktury šetřeny)

selektivní (odstranění fibrotukové a lymfatické tkáně z 3 - 4 na sebe navazujících oblastí, ostatní struktury šetřeny)

modifikované radikální (oblast I -V + ponechání některé z nelymfatických struktur: vena jugularis interna-VII, musculus sternocleidomastoideus - SCM, nervus accessorius - N.XI)

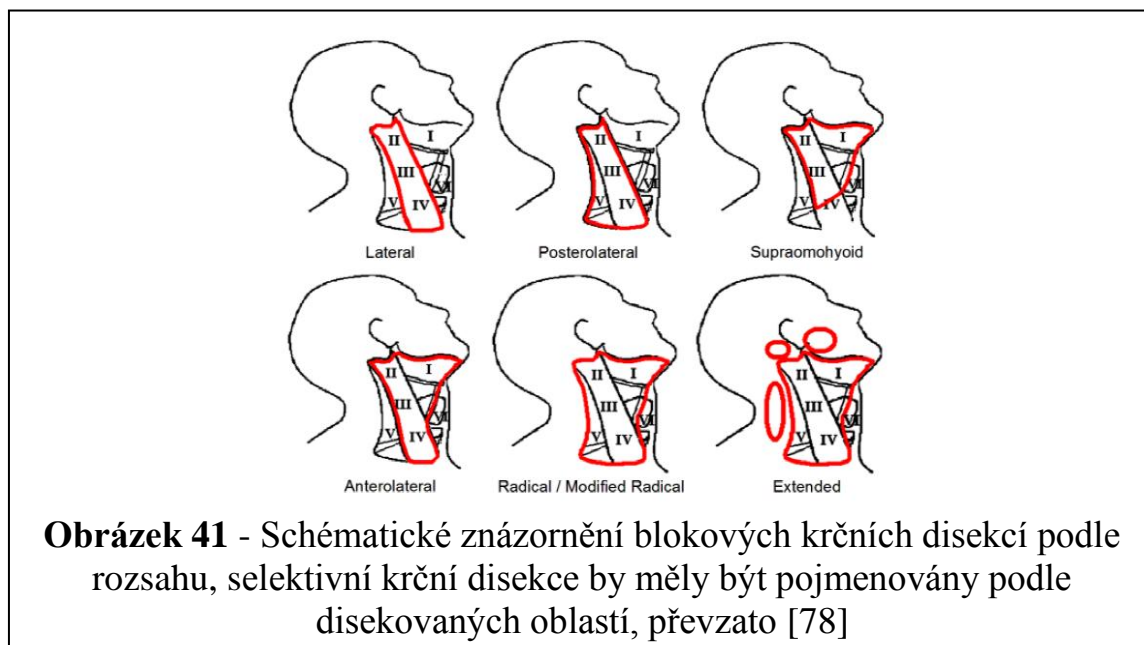
typ I chrání 1/3 struktur - většinou N.XI

typ II chrání 2/3 struktur – většinou N.XI, VJI

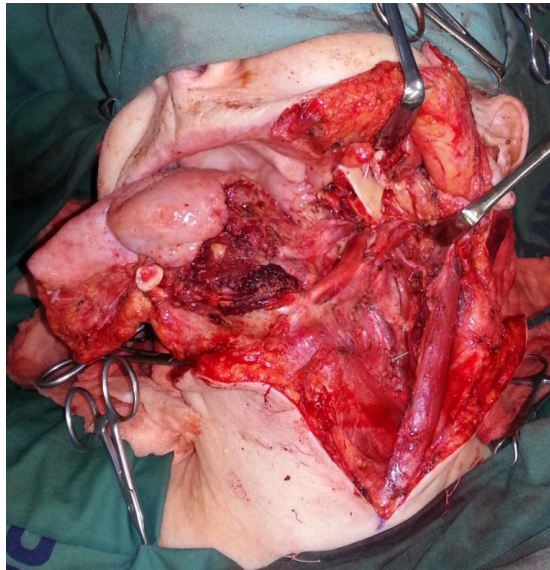
typ III chrání všechny struktury - N.XI, VJI, SCM – tzv. „funkční blok“

radikální (oblast I -V + nelymfatické struktury – VJI, SCM, N. XI)

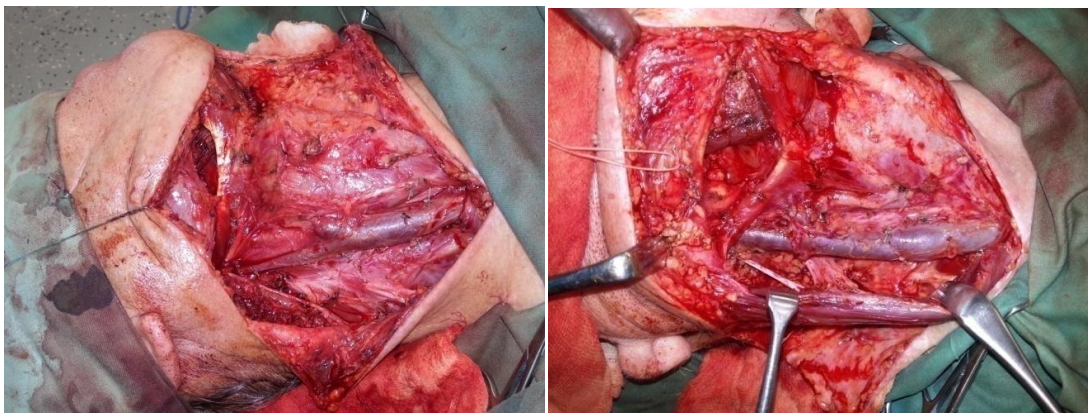
extendované radikální (jako radikální + jiné lymfatické oblasti, např. parotické, okcipitální, retrofaryngeální, oblast VI, VII i nelymfatické struktury např. kůže, svaly, cévy, nervy aj.)



Obrázek 41 - Schématické znázornění blokových krčních disekcí podle rozsahu, selektivní krční disekce by měly být pojmenovány podle disekovaných oblastí, převzato [78]



Obrázek 42 – Stav po levostranné segmentální resekci mandibuly, části ústní spodiny, jazyka a tváře s elektivní selektivní krční disekcí I-III



Obrázek 43 - Stav po pravostranných terapeutických modifikovaných radikálních krčních disekcích typu 1 (včetně excize perimandibulárních měkkých tkání), typu 2 a typu 3, pohled z pozice operátora

3. 2. 13. 2 Radioterapie

Adjuvantní léčba ionizujícím zářením je u salivárních karcinomů obecně indikována v případě blízkých (<2 mm) nebo pozitivních resekčních okrajů, u high - grade nádorů a nádorů z high risk skupiny, při rozsahu T3/T4, při pN+, při postižení lícního nervu a/ nebo hlubokého listu příušní žlázy a při histologicky verifikované angio-/lymfangioinvasi a perineurální invazi [15]. Posledně jmenovaný faktor je u maligních sialomů narozdíl od spinaliomů kontroverzní a závisí především na histologickém typu karcinomu. Adjuvantní radioterapie není např. indikována u radikálně odstraněného polymorfního nízcemaligního adenokarcinomu, u něhož je perineurální invaze také relativně častým jevem.

Jak již bylo řečeno, je adjuvantní radioterapie na většině onkologických pracovišť vnímána jako „zlatý standard“ léčby téměř všech AdCC slinných žláz. Výsledky této terapie jsou však v odborné literatuře popisovány kontroverzně. Některé studie potvrzují zlepšení lokoregionální kontroly onemocnění, především u pokročilých nádorů a/nebo v případě jejich neradikálního odstranění [81, 82, 83], jiné neukazují žádný benefit z hlediska celkového nebo nádorově specifického přežití, což je většinou způsobeno neovlivněním častých vzdálených metastáz [50, 84]. Někteří autoři uvádějí, že adjuvantní radioterapie spíše oddálí recidivu AdCC, než že by v tomto směru působila preventivně [42].

Stejná kontroverze platí i u konkomitantní adjuvantní chemoradioterapie, dosud neexistují jasně stanovená pravidla, kdy tuto léčbu indikovat [50, 85, 86, 87, 88, 89]. Důvodem potenciace účinku záření chemoterapií je určitá radiorezistence většiny salivárních karcinomů, tedy i AdCC [87]. Uvádí se, že chemoterapie přidaná k léčbě radioterapií odpovídá přibližně 9 až 10 Grayům záření navíc [90]. U AdCC jsou preferovány režimy založené na cisplatině nebo karboplatině, většinou v monoterapii, méně často pak kombinované (např. CAP – cyklofosfamid, doxorubicin a cisplatina nebo 5- fluorouracil a cisplatina) [87]. S bioradioterapií není v této indikaci zatím dostatek zkušeností, dosavadní studie (např. s imatinibem nebo anti-EGFR látkami) zatím neukazují její výraznou účinnost [87]. Určitých úspěchů (43 % objektivních odpovědí - 9,5 % kompletní remise, 33 % parciální remise) bylo dosaženo ve studii s 21 pacienty s lokálně pokročilým, inoperabilním anebo metastatickým AdCC pozitivním na *EGFR*, kteří byli léčeni cetuximabem a chemoradioterapií (s cisplatinou) nebo cetuximabem a chemoterapií (cisplatinou a 5-fluorouracilem) se zvládnutelnými toxickými nežádoucími účinky [91]. Problematické je, že vzhledem k vzácnosti AdCC je většina klinických studií pouze retrospektivních.

V případě inoperabilního nádoru je indikována samostatná radioterapie nebo chemoradioterapie. Při srovnání výsledků léčby se ukazuje, že samostatná léčba zářením má horší efekt než v případě chirurgického výkonu s adjuvantní radioterapií, při samostatné radioterapii není AdCC kurabilní [92]. V posledních letech se kromě konvenční radioterapie využívající ozařování pomocí fotonových nebo elektronových svazků zkouší v léčbě AdCC i hadronová terapie, v současnosti především terapie protony a karbonovými ionty s cílem zvýšit účinek léčby a hlavně také omezit její radiotoxicitu.

Dle recentní studie srovnávající účinnost protonové terapie a léčby karbonovými ionty jako samostatné terapeutické modality u 80 inoperabilních a T4 AdCC byla zjištěna 5letá lokální kontrola onemocnění v 66 % a 68 % případů pro protony resp. karbonové ionty, tedy bez signifikantního rozdílu [93]. V jiné studii s 69 lokálně pokročilými AdCC léčenými pouze radioterapií s karbonovými ionty byla dosažena 5letá lokální kontrola v 73 % případů a 5leté celkové přežití v 68 %, bez závažných nežádoucích účinků radioterapie [94].

Dobrých výsledků bylo dosaženo i kombinací terapie fotony a karbonovými ionty (IMRT s boostem karbonových iontů) [95]. Podle starších studií je radioterapie s využitím neutronů účinnější než léčba fotony právě u pomalu rostoucích karcinomů jako je AdCC (konkrétně pro tento typ nádoru až 8x účinnější) [96, 97, 98, 99]. Dosahuje dobrých výsledků především u pokročilých, recidivujících, inoperabilních nebo neradikálně odstraněných AdCC. Tato terapie se však ukázala jako výrazně chronicky radiotoxická s relativně častými závažnými pozdními nežádoucími účinky (nekróza měkkých tkání, osteoradionekróza mandibuly a temporální kosti, krční myelopatie aj.). Z těchto důvodů je od ní spíše upouštěno.

3. 2. 13. 3 Systémová protinádorová léčba

Chemoterapie

Chemoterapii lze v léčbě AdCC využít jako potenciátor radioterapie.

Samostatná chemoterapie, ať již kombinovaná nebo v monoterapii, má ale v léčbě AdCC pouze omezený význam. Je to dáno tím, že tento karcinom je velmi pomalu rostoucím nádorem, což je pravděpodobně i hlavní důvod, proč byl účinek dosud zkoušené chemoterapie neuspokojivý, navíc s obtížně hodnotitelnou klinickou odpovědí (především u pacientů s indolentním průběhem AdCC). Problémem zůstává i to, že vzhledem k raritnosti těchto tumorů, je většina studií jen retrospektivních, většinou s malými soubory pacientů. Samostatná chemoterapie je indikována v případě rozsáhlých, inoperabilních, rekurentních a/nebo metastatických AdCC při vyčerpání ostatních možností léčby (chirurgie, radioterapie). Většina takových pacientů

umírá v průměru do 3 let, ale jsou i pacienti, kteří žijí s metastázami (převážně plicními) i několik let při relativně stabilním onemocnění (až 10 % pacientů se vzdálenými metastázami žije déle než 10 let) [100]. Musí být proto dobře zváženy veškeré benefity a rizika léčby, neboť chemoterapie je vždy spojena s určitou toxicitou a její vliv na průběh onemocnění a jeho prognózu není v současnosti znám. Proto jsou asymptomatictí pacienti s indolentním průběhem choroby většinou pouze dispenzarizováni bez protinádorové léčby. Paliativní chemoterapie se pak podává jen pacientům s rychle progredujícím a/nebo symptomatickým onemocněním [42]. Ve většině publikovaných studií je jako nejčastějšího pozitivního výsledku dosahováno pouze stabilizovaného onemocnění, parciální nebo kompletní léčebná odpověď je vzácná, navíc krátce trvající, neovlivňující přežití. Někteří autoři uvádějí, že spíše než s objektivní odpovědí na chemoterapii se lze setkat se zmírněním či regresí subjektivních symptomů, což je ale také jeden z hlavních cílů paliativní chemoterapie AdCC.

Na základě rozsáhlé review zabývající se publikovanými pracemi na téma systémové protinádorové terapie AdCC slinných žláz v rozmezí let 1950 – 2010, kdy bylo nakonec vyhodnoceno 34 studií, by měly být při paliativní chemoterapii v monoterapii indikovány mitoxantron, vinorelbin nebo antracyklinová cytostatika (epirubicin), které vykazovaly nejlepší výsledky [100]. Léčba cisplatinou byla sice podobně úspěšná, ale při vyšší toxicitě, při gemcitabinu byla dosažena jen stabilizace onemocnění a terapie paclitaxelem pak nevykazovala úspěšnosti výše zmíněných léků [100]. V případě kombinované chemoterapie by měla být upřednostňována kombinace cisplatinu a antracyklinů. Zatím není dostatek důkazů o tom, že by kombinovaná chemoterapie byla výhodnější a s větším počtem klinických odpovědí než monoterapie.

Cílená léčba

U salivárních AdCC dosud neexistuje žádná účinná cílená léčba, která by poskytovala větší benefit pro pacienta než klasická chemoterapie. Vzácnost výskytu AdCC neumožňuje vyvíjet léky specifické čistě pro tento druh karcinomu, proto jsou využívány preparáty známé z terapie jiných, častějších nádorů, které jsou podle molekulárně genetických vyšetření cíleny na shodné biomarkery prokazované i u AdCC.

Vzhledem k tomu, že chromozomální translokace t(6;9)(q22-23;p23-24) generující fúzní transkript *MYB-NFIB* je hlavní a nádorově specifická onkogenní událost u AdCC, jako nejlepší způsob cílené terapie se jeví použití protilátky proti *MYB*, *MYB-NFIB* a *MYB* cílovým genům. Protilátky proti

MYB a *MYB-NFIB* ale dosud nebyly vyvinuty, neboť je velmi obtížné cílit na transkripční faktory.

Alternativní možností je tak zaměřit se na *MYB* cílové geny, což však komplikuje jejich velké množství (je známo více jak 10 000 těchto genů) a neznalost klíčového genu v procesu kancerogeneze AdCC [24]. Příkladem neúspěchu takového snažení je léčba imatinibem, což je tyrozinkinázový inhibitor, mimo jiné inhibující *KIT* (receptor pro růstový faktor kmenových buněk) kódovaný protoonkogenem *c-Kit* [101]. *KIT* je jedním z cílů *MYB* (kapitola 3. 2. 9) a je vysoce exprimován bez mutací u *MYB* pozitivních AdCC (80 - 94 % případů) [42]. Na příkladu neúspěšné léčby imatinibem se tedy ukazuje, že zvýšená exprese určitého onkoproteinu nemusí nutně znamenat, že se jedná o klíčovou událost v kancerogenezi daného nádoru.

Inhibice signálních drah zapojených do regulace *MYB* a *MYB-NFIB* se tak zdá být jednodušší možností, ovšem ve většině případů s dosud nejasnou účinností (např. vemurafenib – *BRAF* inhibitor, AZD7451 - *TRKC* inhibitor, dovitinib - *FGFR1/3* inhibitor) [24]. Zatím nejlepších výsledků cílené terapie AdCC bylo dosaženo při léčbě dovitinibem. Dovitinib (TKI258) je nový multikinázový inhibitor receptorů *FGFR*, *VEGFR*, *PDGFR*, *KIT* a dalších. U AdCC se využívá především inhibice *FGFR* (receptor fibroblastového růstového faktoru), neboť je prokázáno že *FGF1*, *FGF2* a *FGFR1* jsou u tohoto karcinomu zvýšeně exprimovány a podílí se i na kancerogenezi [102]. Fibroblastový růstový faktor stimuluje proliferaci buněk AdCC up-regulací *ERK*, *cyklin D1* a *p21* signálních drah. Podle recentní korejské multicentrické prospektivní klinické studie fáze II s 32 pacienty s dokumentovaným progresivním onemocněním bylo v 93,8 % případů dosaženo stabilního onemocnění (u 15 pacientů delší než 6 měsíců) a u 1 pacienta (3,1 %) i partiální remise. Zmenšení karcinomu bylo zaznamenáno v 68,8 % případů a 19,2 % pacientů dosáhlo metabolické partiální remise. Pravděpodobnost čtyři měsíce trvajících přežití bez progresu nádoru byla 80,4 % a dovitinib byl tak vyhodnocen jako lék s mírnou účinností proti AdCC [102].

Obdobných výsledků bylo dosaženo i v klinických studiích fáze II s lapatinibem, cetuximabem, sunitinibem, everolimem a nebo axitinibem [103, 104, 105, 106, 107]. Lapatinib je inhibitor intracelulární tyrozinkinázové domény receptorů *EGFR* (*ErbB1*) a *ErbB2* (*HER2*). Cetuximab je chimérická IgG1 monoklonální protilátka proti receptoru *EGFR*, který se váže na extracelulární doménu tohoto receptoru a působí tak jako kompetitivní inhibitor fyziologických účinků dvou hlavních přirozených ligandů, a to *EGF* a transformujícího růstového faktoru alfa (TGF-alfa). Sunitinib je inhibitor mnoha receptorových tyrozinových kináz, např. pro

destičkový růstový faktor (*PDGFR*), pro vaskulární endotelový růstový faktor (*VEGFR*), receptoru faktoru kmenových buněk (*KIT*), receptoru kolonie stimulujícího faktoru (*CSF-1R*) a dalších. Everolimus je selektivní inhibitor proteinkinázy *mTOR* (mammalian target of rapamycin - cílový receptor pro rapamycin u savců), multifunkční kinázy zprostředkovávající signální transdukcii, která se podílí na přenosu proliferačních stimulů a urychlení buněčného přechodu z fáze G1 do fáze S. Dále redukuje i hladinu *VEGF*. Axitinib je nízkomolekulární silný selektivní inhibitor tyrozinkinázových domén receptorů pro *VEGFR* [31].

Na základě současných znalostí je tedy systémová protinádorová léčba, a to v podobě paliativní chemoterapie vyhrazena jen pro minoritní část pacientů s jinak neřešitelným pokročilým AdCC, který je rychle progredující a/nebo symptomatický, a to po zvážení všech rizikových faktorů (komorbidita, toxicita léků, preference pacienta aj.) i event. jiných způsobů terapie (paliativní radioterapie, metastatektomie solitárních lézí). Na základě výzkumu dosud neexistují žádné informace podporující a ospravedlňující rutinní užití jiných cytostatik (než výše jmenovaných), hormonální nebo cílené terapie mimo klinické studie. Při selhání první linie chemoterapie pak přichází v úvahu již pouze adekvátní symptomatická léčba nebo zařazení pacienta do klinické studie s jinou systémovou terapií. Pro zařazení pacientů do studií s cílenou léčbou je pak ideální předchozí cytogenetické vyšetření. Nejlepší strategií by samozřejmě byly předchozí studie in vitro, ale vytvoření AdCC buněčné kultury je obtížné. Jistých pokroků v tomto ohledu již ale bylo dosaženo, stejně tak už byl vyvinut i myší xenograftový model, který věrně kopíroval morfologické i molekulární charakteristiky humánního AdCC (*MYB* rearanže v 92 % a *MYB-NFIB* fúze v 83 % případů) [108, 109].

Nejvýznamnější klinické studie fáze II zabývající se systémovou terapií AdCC slinných žláz, které proběhly za posledních více než 20 let, shrnuje **příloha 1** [110]. Klinické studie fáze III jsou vzhledem k vzácnosti AdCC a chybějícím standardům pro léčbu progresivního onemocnění v podstatě nerealizovatelné.

Poznámka k hodnocení odpovědi AdCC na léčbu

Při hodnocení terapeutické odpovědi u AdCC je nutné zohlednit 2 faktory:

1) AdCC vykazuje výrazně pomalejší růst než většina ostatních karcinomů. Proto progresivně rostoucí AdCC nemusí splňovat RECIST kritéria pro progresivní onemocnění (více jak 20 % nárůstu v průběhu 2 měsíců) **tabulka 8** [111, 112]. Například u AdCC, který vůbec není ovlivněn léčbou a dále progresivně roste, je hranice 20 % dosažena až za podstatně delší dobu, a tak

je průběh choroby hodnocen jako stabilní onemocnění a klinický benefit. To však neodpovídá skutečnosti a neefektivitě terapie. Proto je pro AdCC vhodnější hodnotit terapeutickou odpověď a eventuální klinický benefit minimálně až po 6 měsících léčby.

2) Do studií by měli být zařazeni pouze pacienti s dokumentovanou progresí nádoru. Pokud toto není respektováno, může být potom přirozený, často dlouhodobě trvající indolentní průběh choroby hodnocen jako účinek terapie (stabilní onemocnění), která ale nemusí mít na AdCC žádný vliv. K rozlišení přirozeného průběhu onemocnění od léčebného efektu ve smyslu stabilního onemocnění někteří autoři doporučují ¹⁸F-FDG PET/CT vyšetření po 8 týdnech léčby. Metabolická odpověď je pak hodnocena jako:

- 1) kompletní (mCR), při vymizení vychytávání ¹⁸F-FDG v nádoru,
- 2) parciální (mPR), při >25% zmenšení maximální hodnoty standardizovaného vychytávání radiofarmaka v nádoru (SUVmax),
- 3) progresivní onemocnění (mPD), při >25% zvýšení SUVmax nebo objevení se nového ložiska akumulace ¹⁸F-FDG v jiné lokalizaci,
- 4) stabilní onemocnění (mSD), při nesplnění kritérií mCR, mPR, mPD [113].

Tabulka 8 – Hodnocení terapeutické odpovědi dle Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) [111, 112]

Cílové léze		
Kompletní remise (odpověď)	CR	Vymizení všech cílových lézí
Parciální remise (odpověď)	PR	Minimálně 30% pokles součtu nejdelších průměrů ve srovnání s úvodním měřením
Progrese	PD	Minimálně 20% nárůst součtu nejdelších průměrů nebo objevení se 1 či více nových lézí
Stabilizace onemocnění	SD	Nesplnění kritérií pro PD, PR nebo CR
Ne-cílové léze		
Kompletní remise (odpověď)	CR	Vymizení všech necílových lézí a normalizace nádorových markerů
Nekompletní remise/stabilizace	Non CR/SD	Přetrvávání jedné nebo více necílových lézí a/nebo přetrvávání hladin nádorových markerů nad normu
Progrese	PD	Jednoznačná progrese existujících necílových lézí nebo objevení se 1 či více nových lézí

Celková terapeutická odpověď

Cílové léze	Ne-cílové léze	Nové léze	Celková odpověď
CR	CR	Ne	CR
CR	non-CR/SD	Ne	PR
PR	non-PD	Ne	PR
SD	non-PD	Ne	SD
SD	jakákoliv odpověď	Ano nebo Ne	PD
jakákoliv odpověď		Ano nebo Ne	PD
jakákoliv odpověď	jakákoliv odpověď	Ano	PD

Pozn.

1) Cílové léze: měřitelné léze, definovány jako měřitelné v jednom nejdelším rozměru a to ≥ 20 mm při použití konvenčních zobrazovacích technik (konvenční CT, RTG, MR, PET) nebo ≥ 10 mm při použití spirálního CT

2) Ne-cílové léze: neměřitelné léze, definovány jako všechny ostatní léze <20 mm při konvenčním zobrazení nebo <10 mm při použití spirálního CT. Dále kostní léze, leptomeningeální nádory, ascites, pleurální/periakardiální výpotek, lymphangitis, zánětlivé karcinomy prsu a cystické léze.

Kompletní remise a parciální remise jsou často sdruženy pod pojmem objektivní odpověď. Objektivní odpověď a stabilní onemocnění trvající déle než 6 měsíců jsou označovány jako klinický benefit.

Tradičně léky z klinických studií fáze II a III, které vykazují objektivní odpověď ve více jak 20 % případů, jsou považovány za slibné v terapii daného choroby.

3. 2. 14 Prognostické a rizikové faktory AdCC

AdCC je nádor s histologickým obrazem low - grade karcinomu, který je ale vzhledem k svému biologickému chování řazen mezi „high risk“ NSŽ. Jedná se o vysoce rizikový salivární karcinom, a to jak z hlediska recidiv, tak i regionálních uzlinových a vzdálených metastáz (s vyšší predilekcí u některých forem AdCC), viz kapitola 3. 2. 5. Pětileté přežití se udává 75 %, 10leté přežití 20 – 40 % a 15 leté přežití pak 10 – 25 % [10, 14]. Mezi hlavní nezávislé negativní prognostické faktory patří: klinické stadium onemocnění (včetně přítomnosti orgánových metastáz nebo metastáz v regionálních lymfatických uzlinách), primární lokalizace nádoru, grading, pozitivita resekčních okrajů, intraneurální invaze a věk [1, 32, 50].

Obecně platí, že vyšší T nebo N status, stejně jako přítomnost vzdálených metastáz jsou spojeny s horší prognózou. 5leté celkové přežití u pacientů s N+ postižením v době primární léčby je 44-48 % oproti 73-77 % u N0 nemocných s AdCC [69]. V případě výskytu vzdálených metastáz mají nejhorší prognózu pacienti s postižením mozku (25 % průměrného celkového přežití) a kostí (31 % průměrného celkového přežití), u nichž je mortalita po 4 letech 100 % resp. 70 %. Naproti tomu pacienti s metastázami plic (66 % průměrného celkového přežití) nebo jater (84 % průměrného celkového přežití) mají podstatně lepší prognózu (50 % mortalita po 4 letech) [50]. Průměrné přežití nemocného se vzdálenými metastázami AdCC jsou 3 roky, pouze 20 % pacientů přežije 5 let [1, 100]. Obecně lze říci, že více jak polovina pacientů se vzdálenými metastázami zemřou v průběhu 10 let po stanovení diagnózy (1/3 pacientů umírá do 2 let od vzniku metastáz). Až 10 % pacientů ale přežívá více jak 10 let při pomalém růstu např. plicních metastáz [51, 100]. Naopak více jak polovina pacientů bez vzdálených metastáz pak přežívá více jak 20 let [51]. Zcela jiná je situace u nemocných s nejčastějším zhoubným nádorem hlavy a krku, a to se spinocelulárním karcinomem. Téměř 90 % těchto pacientů umírá v průběhu 1 roku od diagnózy vzdálených metastáz a téměř nikdo nepřežívá déle než 2 roky [114].

Anatomická lokalizace AdCC má prognostický význam především u lokalizovaného onemocnění, při lokoregionálním nebo diseminovaném postižení se pak již rozdíly v prognóze stírají [33]. Excelentní prognózu (výrazně lepší než salivární AdCC) mají nádory kůže a prsu, u kterých jsou nodální i vzdálené metastázy vzácné a 10leté přežití se uvádí > 90 % [33, 34]. Naopak výrazně agresivnější chování a horší prognózu než AdCC slinných žláz mají karcinomy dýchacích cest (sinonasální, laryngo-tracheo-bronchiální) a slzné žlázy [33, 35]. U sinonasálních AdCC se jako jeden z důvodů horší prognózy uvádí blízkost baze lebni, kam mohou tumory prorůstat. Dle některých studií se u nádorů v této lokalizaci vyskytují vzdálené metastázy nejméně často, což se vysvětluje tím, že příliš krátké přežívání nemocných neumožňuje diagnostiku metastáz [50]. V rámci salivárních AdCC mají lokalizované nádory dutiny ústní lepší prognózu než lokalizované tumory velkých slinných žláz [33].

V roce 1958 Patey a Thackray poprvé upozornili na špatnou prognózu AdCC solidní struktury [115]. Nejlepší prognózu podle převažující struktury mají tubulární AdCC, poté nádory kribriformní a nejhorší prognózu mají karcinomy solidní struktury. 15leté přežití dle gradingu od 1. do 3. grade je tak 39 %, 26 % a 5 % [14]. V současnosti ale převažuje názor, že z hlediska stanovení prognózy je klinické stadium nadřazené gradingu [6].

Pozitivní resekční okraje jsou prokazovány v 5,9 - 29,4 % případů a blízké okraje (> 5mm) pak v 1,4 - 74,3 % případů [116]. Pozitivní okraje nejsou jen významným rizikovým faktorem pro vznik recidivy onemocnění, ale dle některých studií i pro vznik vzdálených metastáz (89 % pacientů s pozitivním resekčním okrajem oproti 29 % pacientů s radikálně odstraněným nádorem) [117]. Někteří autoři ale tuto souvislost nepotvrzují [50].

Ačkoliv u pacientů s AdCC s perineurální invazí bylo zjištěno horší nádorově specifické pětileté přežití ve srovnání s pacienty s AdCC bez postižení nervů (77 versus 82 %), nebyl prokázán žádný statisticky významný rozdíl v celkovém přežití u těchto dvou skupin nemocných (74 versus 77 %) [32]. Ukazuje se, že pravděpodobně jen intraneurální invaze, která tvoří 27 % případů šíření AdCC podél nervů, je nezávislým prediktivním faktorem nádorově specifického a celkového přežití [32]. Přítomnost peri- či intraneurální invaze nepredikuje hematogenní šíření nádoru.

Jako negativní prognostický faktor je vnímán i věk pacienta ≥ 70 let [50].

U AdCC zatím nebyly objeveny molekulárně genetické znaky, které by mohly být spolehlivě využity jako prognostické biomarkery. V jedné studii

zvýšená *MYB* exprese korelovala s kratším přežíváním pacientů [118]. Další práce pak prokázala signifikantně vyšší expresi *MYB* a *MYBL1* u pacientů ve 4. stadiu a přežívajících s onemocněním než u nemocných s nižšími stadii AdCC a v remisi [67]. Podle jednotlivých studií je pak ztráta 1p32-p36 (diagnostikována v 44% případů), zvýšená exprese *Bmi-1*, *Pim-1* a naopak nízká exprese *RUNX3*, *EBP1* a *PDCD4* spojena s horší prognózou pacientů s AdCC [119, 120, 121, 122, 123, 124].

Vzhledem ke všem výše uvedeným datům je u pacientů s AdCC naprosto nezbytná dlouhodobá, celoživotní dispenzarizace, a to jak kvůli častým recidivám, tak i vzdáleným metastázám. Obě tyto formy chování AdCC bývají i pozdními projevy po již skončené léčbě. Recidivy mohou vznikat až 5 let a vzdálené metastázy dokonce až 20 let po terapii [50, 51]. Tyto údaje jsou opět naprosto odlišné od spinocelulárního karcinomu, u kterého, pokud vznikají vzdálené metastázy (9,2 – 9,5 % případů), tak 84 % z nich se objeví časně, v průběhu 2 let od stanovení diagnózy [114, 125, 126].

V rámci dispenzarizace je tak nutné celotělové zobrazovací vyšetření (nejlépe PET/CT nebo PET/MR), viz kapitola 3.2.6.

TNM staging lze orientačně použít ke stanovení prognózy pro skupinu pacientů s AdCC stejného stádia, ale předpověď prognózy u jednotlivých případů je většinou již selhávající. Z tohoto důvodu byly zcela recentně vypracovány nomogramy pro tento typ salivárního karcinomu. Tyto speciální grafy se již osvědčily při stanovování prognózy u jiných malignit (např. u karcinomu prostaty, prsu, orálních spinaliomů aj.). Ukazuje se, že jsou úspěšnější než klasický staging, různé skórovací systémy nebo názory expertů a jsou vhodné zejména pro stanovení individuálních rizik u jednotlivých pacientů. Většinou ale fungují jen pro nemocné z medicínského centra, kde byly vytvořeny (vzhledem k zavedeným diagnostickým a léčebným postupům, které se jinde mohou lišit). Nomogramy pro AdCC byly vytvořeny na souboru 438 pacientů z 10 center v Evropě, USA, Indii, Číně a Izraeli a jsou vypracovány pro predikci celkového přežití, recidivy, vzdálené recidivy a nádorově specifické mortality, viz **příloha 2** [116].

4 Popis řešení a výsledky výzkumu

Materiál a metody

Pomocí klinických informačních systémů PC DENT (CompuGroup Medical Česká republika s.r.o., verze 3.1.1, revize:6), WinMedicalc (Medicalc software s.r.o., Česká republika, verze 2.10.8.46) a WinZis (Prodata Praha s.r. o., Česká Republika) byli vyhledáni všichni pacienti s diagnózou AdCC, kteří byli léčeni ve FN v Plzni (Stomatologická a ORL klinika) a u kterých byly dohledatelné klinické údaje o dispenzarizaci trvající nejméně 6 měsíců. Bylo identifikováno 27 pacientů za období 01/1986 - 01/ 2016, tedy za 30 let. Ve stanoveném souboru byly sledovány tyto ukazatele: věk, pohlaví, lokalizace nádoru, klinické stadium v době diagnózy dle 7. vydání TNM klasifikace, přítomnost metastáz v regionálních lymfatických uzlinách a vzdálených metastáz, grading, průměrná doba dispenzarizace, léčba a její výsledky.

Metodika detekce *MYB-NFIB* fúze pomocí FISH

Čtyři μm silné řezy tkáně formalínem fixované, v parafínu zalité (FFPE) byly naneseny na povrch pozitivně nabitých podložních skel. Neobarvené, standardně deparafinizované, preparáty byly inkubovány v 1x Target Retrieval Solution Citrate pH 6 (Dako, Glostrup, Německo) při 95°C/40 minut a ve stejném roztoku chlazeny po dobu 20 minut při pokojové teplotě. Skla byla následně omyta v destilované vodě po dobu 5 minut při pokojové teplotě, natrávena v roztoku pepsinu (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) o koncentraci 0,5 mg/ml v 0,01M HCl při 37°C/25 minut a omyta v destilované vodě po dobu 5 minut při pokojové teplotě. Následovala dehydratace vzestupnou alkoholovou řadou (70 %, 85 % a 96 % a' 2 minuty) a vysušení preparátu na vzduchu.

Pro detekci fúze *MYB-NFIB* byla použita komerčně dostupná break-apart FISH sonda ZytoLight® SPEC MYB Dual Color Break Apart Probe (ZytoVision GmbH, Bremerhaven, Německo) a dále sondy vlastního designu, break-apart sonda SureFish NFIB Break Apart Probe a fúzní sonda SureFish MYB-NFIB Fusion Probe (Agilent Technologies, Santa Clara, California, USA). Oligonukleotidy NFIB break-apart sondy byly lokalizovány v oblasti chromosomu 9 na pozici 13740671-14140560 a 14340306-14740560. U *MYB-NFIB* fúzní sondy byly oligonukleotidy v oblasti chromosomu 6 lokalizovány na pozici 135271234-135771043 a v oblasti chromosomu 9 na pozici 13990266-14490285 (vše Build GRCh37).

Hybridizační směs SureFish sond byla připravena z 1 μ l oranžově a 1 μ l zeleně značených částí sond, 1 μ l destilované vody a 7 μ l LSI pufru (Vysis/Abbott Molecular, IL, USA). Sonda MYB Dual Color Break Apart Probe byla již z výroby připravena k přímé aplikaci.

Dle velikosti řezu bylo na preparáty aplikováno potřebné množství sondy a přikryto krycím sklem, jehož okraje byly zalepeny lepidlem. Pak byla skla inkubována v přístroji ThermoBrite™ (StatSpin/Iris Sample Processing, Westwood, MA, USA) s následujícím programem: kodenaturace při 85 °C/8 minut a hybridizace při 37 °C/16 hodin. Po vyjmutí skel z přístroje byla odstraněna krycí sklíčka a preparáty byly omyty v post-hybridizačním roztoku 2xSSC + 0,3% NP-40 při 72 °C/2 minuty. Po oschnutí skel ve tmě byly preparáty podbarveny 4', 6' -diamidino-2-phenylindolem - DAPI (Vysis/Abbott Molecular) a přikryty novým krycím sklíčkem.

Interpretace FISH

Preparáty byly prohlédnuty v epifluorescenčním mikroskopu Olympus BX51 (Olympus Corporation, Tokyo, Japonsko) při 100x zvětšení se sety filtrů Triple Band Pass (DAPI / SpectrumGreen / SpectrumOrange), Dual Band Pass (SpectrumGreen / SpectrumOrange) a Single Band Pass (SpectrumGreen nebo SpectrumOrange).

V každém preparátu bylo hodnoceno 100 náhodně vybraných nepřekrývajících se jader v cílové oblasti. Jako pozitivní byl u break-apart sond hodnocen nálezný separátního zeleného nebo oranžového signálu v jádře, u fúzní sondy byl pozitivní nálezný značen přítomností fúzního oranžovo-žlutozeleného signálu v jádře.

Cut-off hodnoty byly určeny na vlastní kontrolní skupině s normálním histologickým nálezem, kde byla hodnocena jádra s abnormálním nálezem, stanoven jejich průměr a směrodatná odchylka. Cut-off byla definována jako hodnota součtu průměru + 3 standardní odchylky. Pro obě break-apart sondy byla cut-off hodnota 10 % pozitivních jader, u fúzní sondy 20 %.

Příprava RNA pro detekci *MYB-NFIB* pomocí PCR

RNA z FFPE tkáně byla izolována pomocí QIASymphony RNA Kitu (QIAGEN, Hilden, Německo) v přístroji QIASymphony SP (QIAGEN). Kvalita a kvantita RNA byla následně změřena na spektrofotometru Nanodrop 1000 (Thermo Scientific, Waltham, USA) a přepsána do cDNA pomocí Transcriptor First Strand cDNA Kitem (Roche, Basel, Německo) dle pokynů výrobce. Integrita RNA byla zjištěna pomocí kontrolní PCR připravené z 2 μ l cDNA, 12,5 μ l HotStar Taq PCR Master Mix (QIAGEN),

10 pM příslušných primerů a doplněním destilovanou vodou do objemu 25 μ l. Primery a délky vzniklých PCR produktů jsou zobrazeny v **tabulce 9**. Program PCR se skládal z úvodní denaturace při 95 °C/14 minut, a následujících 40 cyklů denaturace při 95 °C/1 minuta, nasedání primerů při 60 °C/30 sekund a extenze při 72 °C/1 minuta. Program byl ukončen závěrečnou extenzí při 72 °C/7 minut. Vzorky, jejichž integrita byla menší než 133 bp, byly vyřazeny z následující analýzy.

Tabulka 9 - Primery a délky vzniklých produktů použité pro určení integrity RNA

Název primeru	Délka amplikonu (bp)	Forward primery	Reverse primery
B2M	105	GAAAAAGATGAGTATGCCTG	ATCTTCAAACCTCCATGATG
B2M-133	133	CTCGCGCTACTCTCTTTCT	TGTCGGATTGATGAAACCCAG
PGK	247	CAGTTTGGAGCTCCTGGAAG	TGCAAATCCAGGGTGCAGTG

Detekce *MYB-NFIB* fúze pomocí PCR

Pro vlastní detekci *MYB-NFIB* fúze byly smíchány 2 μ l cDNA, 12,5 μ l HotStar Taq Master Mixu (QIAGEN), 10 pM příslušných primerů a destilovaná voda do výsledného objemu 25 μ l. Amplifikační program se skládal z úvodní denaturace při 95 °C/14 minut, poté ze 40 cyklů denaturace při 95 °C/1 minuta, nasedání primerů při 55 °C/1 minuta a extenze při 72 °C/1,5 minuty. Program byl ukončen závěrečnou extenzí při 72 °C/7 minut. Primery pro tuto PCR byly použity dle [127].

Vzniklé amplifikáty byly přečištěny magnetickými kuličkami Agencourt AMPure (Agencourt Bioscience Corporation, A Beckman Coulter Company, Beverly, MA, USA) dle pokynů výrobce a oboustranně sekvenovány Big dye Terminator kitem (Applied Biosystems, California, USA). Po přečištění sekvenačních reakcí Agencourt CleanSEQ kitem (Agencourt Bioscience Corporation) byly reakce procesovány v automatickém analyzátoru ABI Prism 3130xl (Applied biosystems) za použití konstantního napětí 13,2 kV/20 minut. Získané sekvence byly porovnány s GenBank sekvencemi.

Výsledky

Soubor 27 pacientů s AdCC a sledované parametry shrnuje **tabulka 10**. Průměrný věk pacientů byl 55,8 \pm 17,4 let (v rozmezí 24 – 84 let). Poměr zastoupení mužů a žen byl 1 : 1,7. AdCC vznikl v malých slinných žlázách (nebo v jim podobných žlázách horního aerodigestivního traktu) v 41 %, v podčelistní žláze v 26 %, v průšňí žláze v 22 % a v podjazykové žláze pak v 11 % případů.

V době diagnózy bylo zaznamenáno 1. klinické stadium v 26 %, 2. stadium v 18 %, 3. stadium v 26 % a 4. stadium v 30 % případů. Metastázy v regionálních lymfatických uzlinách byly v době diagnózy detekovány u 6 pacientů, z toho u jednoho nemocného se jednalo o přímé prorůstání karcinomu z podčelistní žlázy do uzliny. U jednoho pacienta s AdCC příušní žlázy byla diagnostikována metastáza v intraglandulární parotické uzlině, která ale dle pravidel TNM klasifikace nebyla započítána. Celkem se metastázy v regionálních lymfatických uzlinách vyskytovaly u 26 % pacientů (7/27). Vzdálené metastázy byly diagnostikovány u 30 % pacientů, u 3 nemocných v době diagnózy. Nejdelší období od diagnózy AdCC do diagnózy vzdálených metastáz (plicních) bylo 11 let u pacientky bez lokoregionální recidivy. Nejčastější lokalizací vzdálených metastáz byly plíce (55 %), játra (27 %), kosti (9 %) a peritoneum (9 %). U 2 pacientů byly diagnostikovány vzdálené metastázy ve více lokalizacích. Grading byl popsán jen u 21 pacientů, a to grade 1 v 5 % případů, grade 2 v 67 % případů a grade 3 v 28 % případů.

Průměrná doba dispenzarizace byla $76,4 \pm 67,0$ měsíců (v rozmezí 7 – 287 měsíců).

Všichni pacienti kromě jednoho (pacient se synchronní nádorovou triplicitou s generalizací – karcinom ledviny, tračnicku a AdCC) byli primárně léčeni chirurgicky, u jedné pacientky byl proveden pouze debulking. 61 % chirurgických výkonů s cílem radikálního odstranění AdCC mělo histologicky blízké nebo pozitivní okraje resektátu. Všichni pacienti (kromě čtyř – nemocní se vzdálenými metastázami v době diagnózy plus jedna nemocná, která odmítla léčbu) poté podstoupili adjuvantní radioterapii nebo chemoradioterapii. V případě jinak neléčitelného progresivního onemocnění pak byla indikována paliativní chemoterapie.

Za dobu dispenzarizace bylo 59 % pacientů bez jakýchkoliv příznaků choroby, 22 % zemřelo v důsledku AdCC a 19 % žilo s tímto onemocněním, ať již v podobě recidivy či metastáz.

Genetické vyšetření souboru 26 pacientů s AdCC shrnuje **tabulka 11**. Při FISH vyšetření pomocí MYBba sondy byla pozitivita zaznamenána v 75 % (18/24), pomocí NFIBba sondy v 87 % (20/23) a pomocí MYB/NFIB fúzní sondy pak v 90 % případů (19/21). Souhrnná detekce fúzního onkogenu *MYB-NFIB* byla zaznamenána v 79 % případů (19/24) a 1p36 delece pak ve 13 % případů (3/23). U jedné pacientky bylo FISH vyšetření pomocí MYBba a NFIBba sond negativní, ale přesto byla potvrzena *MYB-NFIB* fúze. U dvou pacientů bylo vyšetření pomocí MYBba sond negativní, ale NFIBba pozitivní, s negativními *MYB-NFIB* fúzemi u obou z nich.

Tabulka 10 – Soubor pacientů s AdCC léčených ve FN v Plzni v letech 1986 - 2016

Č.	Věk/ Pohlaví	Lokalizace (místo vzniku)	Staging/ Grading	Chirurgická terapie	Onkol. terapie	Výsledky, další vývoj	Follow -up (m)
1	57/Ž	příušní žláza	T3N0M0/Gx, 3. st.	superficiální parotidektomie	RT	NED	48
2	32/M	podčelistní žláza	T1N0M0/G2, 1.st.	ND Ib	RT	NED	62
3	84/M	dolní vestibulum	T4N2bM1/Gx, 4. st.	- (triplicita)	-	DOD	9
4	58/Ž	měkké patro	T2N0Mx/G3, 2. st.	excize	CHRT	NED	135
5	60/Ž	horní vestibulum	T1N0M0/G2, 1. st.	excize	-	rT4N0M0, odmítla Th AWD	91
6	48/Ž	měkké patro	T2N0M0/G3, 2. st.	excize	CHRT	NED	115
7	57/M	příušní žláza	T4N2bM0/G3, 4. st.	totalní parotidektomie RND	RT, CHT	rT3N0M1, DOD	18
8	48/Ž	podčelistní žláza	T3N0M0/G2, 3. st.	ND Ib	CHRT, CHT	rT4N0M1, DOD	137
9	47/Ž	podčelistní žláza	T1N0M0/G2, 1. st.	exstirpace, RND - T0N2bM0	CHRT, CHT	T0N0M1, DOD	44
10	28/Ž	příušní žláza	T1N0M0/G2, 1. st.	exstirpace	CHRT	NED	92
11	65/M	podjazyk. žláza	T1N0Mx/G2, 1. st.	excize, ND I	RT	NED	80
12	45/M	příušní žláza	T3N0M0/G2, 3. st.	totalní parotidektomie RND	RT	NED	75
13	56/Ž	příušní žláza	T3N0Mx/G2, 3. st.	totalní parotidektomie	RT	rT4N0M1, AWD	190
14	79/Ž	patrová tonsila	T4N1M0/G2, 4. st.	debulking	RT	DOD	7
15	28/Ž	čelistní dutina	T4N0M0/G2, 4. st.	etmoidektomie, subtotální maxillektomie	CHRT	rT4N0M0, DOD	63
16	77/Ž	příušní žláza	T2N0M0/G3, 2. st.	totalní parotidektomie	RT	NED	55
17	49/Ž	podčelistní žláza	T3N0M0/G2, 3. st.	ND Ib, rT2N0M0 – ND Ia	RT, CHT	NED	193
18	76/Ž	podjazyk. žláza	T3N1M0/G3, 3. st.	excize, ND Ib	RT	NED	29

19	54/Ž	podčelistní žláza	T1N0M0/Gx, 1. st.	exstirpace	RT	T0N0M1, AWD	130
20	82/Ž	podjazyk. žláza	T2N0M0/Gx, 2. St	excize	RT	NED	48
21	51/M	čelistní dutina	T4N2bM0/Gx, 4. st.	- rT4N0M0 - subtotální maxillektomie	RT	NED	86
22	24/M	podčelistní žláza	T1N0M0/Gx, 1. st.	ND I	RT	NED	287
23	63/M	dolní vestibulum	T3N0M0/G3, 3. st.	excize	RT	NED	26
24	77/Ž	nosní dutina	T4N0M1/G1, 4. st.	subtotální maxillektomie	-	T0N0M1, AWD	10
25	32/Ž	tvrdé patro	T4N0M0/G2, 4. st.	alveolo- palatinální resekce	RT	NED	15
26	79/M	podčelistní žláza	T3N1M1/G2, 4. st.	ND Ib	CHT	T0N0M1, AWD	12
27	50/M	čelistní dutina	T2N0M0/G2, 2.st	etmoidektomie, subtotální maxillektomie	RT	NED	7

(R)ND – (radical) neck dissection, (radikální) krční disekce, Th – terapie, RT – radioterapie, CHT – chemoterapie, CHRT – chemoradioterapie, NED – no evidence of disease, bez příznaků onemocnění, AWD - alive with disease, žije s onemocněním, DOD – dead of disease, smrt v důsledku onemocnění

Tabulka 11 – Genetické vyšetření souboru pacientů s AdCC léčených ve FN v Plzni v letech 1986 - 2016

Č.	1p36 delece	MYBba	NFIBba	MYB/NFIB fúze	PCR MYBF
1	Neg.	+	+	+	Neg.
2	Neg.	+	+	+	Neg.
3	+	+	+	+	Neg.
4	Neg.	+	+	+	+
5	Neg.	+	+	+	+
6	Neg.	+	+	+	Neg.
7	+	+	+	+	Neg.
8	Neg.	+	+	+	Neg.
9	+	+	+	+	Neg.
10	Neg.	+	+	+	///
11	Neg.	+	+	+	Neg.
12	Neg.	Neg.	+	Neg.	Neg.
13	Neg.	+	+	+	+
14	Neg.	+	+	+	+
15	///	///	///	///	///
16	Neg.	+	+	+	///
17	Neg.	Neg.	+	Neg.	Neg.
18	Neg.	Neg.	Neg.	///	Neg.
19	N/A	N/A	N/A	///	///
20	Neg.	Neg.	Neg.	///	///
21	N/A	Neg.	N/A	N/A	///
22	Neg.(NH)	+	+	+	Neg.
23	N/A	N/A	N/A	N/A	Neg.
24	Neg.	Neg.	Neg.	+	+
25	Neg.	+	+	+	///
26	Neg.	+	+	+	///
27	Neg.	+	+	+	///

Neg. - negativní, + pozitivní, /// - nevyšetřeno, NH - nerovnoměrná hybridizace, N/A – nelze analyzovat

5 Hodnocení a závěr

V prezentovaném souboru pacientů jsme v souladu s recentní literaturou [42, 50] potvrdili vysokou tendenci AdCC k lokálním recidivám (26 %, 7/27), která je způsobena především obtížnou radikální chirurgickou léčbou vzhledem k časté peri- a intraneurální invazi (61 % resekátů AdCC s histologicky blízkým nebo pozitivním okrajem). Metastazování hematogenní cestou jsme zaznamenali jako časný (11 % pacientů v době diagnózy) i pozdní projev AdCC, který je nezávislý na lokoregionální kontrole onemocnění (plicní metastázy až 11 let od stanovení diagnózy při lokoregionální remisi). V kontrastu s dřívějšími názory na AdCC jsme zjistili vysokou incidenci metastáz do regionálních lymfatických uzlin (26 %, 7/27), čímž jsme potvrdili i výsledky jiných současných prací [44, 46]. V průměru po více jak 6 letech dispenzarizace bylo 59 % pacientů v kompletní remisi a 41 % nemocných zemřelo v důsledku AdCC nebo žije s pokročilým, jinak neřešitelným onemocněním, což odpovídá výsledkům léčby v jiných studiích i prognóze tohoto novotvaru [10, 14].

Fúzní onkogen *MYB-NFIB* byl v našem souboru detekován u 79 % pacientů s AdCC (19/24). V současné době je ve studiích dosahováno většinou výsledků 50 % - 80 % [66, 118, 128, 129]. U dvou nemocných, u kterých bylo vyšetření pomocí MYB break-apart sondy negativní a NFIB break-apart sondy pozitivní současně s negativními *MYB-NFIB* fúzemi lze předpokládat jiného fúzního partnera, pravděpodobně *MYBL1*, což bude předmětem dalšího výzkumu. Deleci 1p36 jsme zaznamenali ve 13 % případů (3/23). V práci z roku 2008 byla zjištěna incidence této genetické změny 44 % u 53 vyšetřených AdCC se závěrem, že se jedná o nejčastější genetickou změnu signifikantně spojenou s horší prognózou pacientů [119]. Všichni tři pacienti z našeho souboru s diagnostikovanou delecí 1p36 zemřeli v důsledku AdCC v období 9 - 44 měsíců od stanovení diagnózy a léčby. Vzhledem k malému souboru pacientů s AdCC a nízké incidenci delece 1p36, navíc při nádorové triplicitě jednoho z nemocných, nelze blíže statisticky hodnotit klinicko-patologickou korelaci tohoto markeru.

MYB-NFIB fúzní onkogen lze u AdCC v současnosti využít pouze jako diagnostický biomarker, a to hlavně u pozdních vzdálených metastáz při lokoregionální remisi onemocnění. Ty již často nebývají dávány do souvislosti s AdCC a mohou být mylně považovány za primární nádory daných lokalizací (např. adenokarcinomy plic) nebo za metastázy neznámého origa (např. v jatrech), což pak může vést klinického lékaře k dalším chybám v diagnosticko-léčebném postupu. Problémem v těchto případech bývá i to, že

se biopsie z těchto orgánů primárně nedostávají k patologům specializujících se na diagnostiku NSŽ.

Závěr

AdCC slinných žláz vykazuje vyšší tendenci k zakládání regionálních uzlinových metastáz, než se dříve soudilo. *MYB-NFIB* fúze je hlavní nádorově specifickou onkogenní událostí u AdCC s vysokou úspěšností detekce. Tento fúzní onkogen je možné v současné době potenciálně využít pouze jako pomocný diagnostický nástroj u histopatologicky sporných případů, především pak u pozdních vzdálených metastáz.

6 Soupis bibliografických citací (seznam použité literatury)

- 1) Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D. *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours*. IARC Press, Lyon, 2005, 209–281.
- 2) Neville BD, Damm DD, Allen CM, Bouquot JE. *Oral and Maxillofacial Pathology*. 3rd edition, Saunders, 2009, 473–477.
- 3) Skálová A, Michal M. Komentář k nové WHO klasifikaci nádorů slinných žláz. *Čes.-slov. Patol.* 2005; 41(2): 60-65.
- 4) Skálová A, Vanecek T, Sima R, Laco J, Weinreb I, Perez-Ordóñez B, Stárek I, Geierova M, Simpson RH, Passador-Santos F, Ryska A, Leivo I, Kinkor Z, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the ETV6-NTRK3 fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(5):599-608.
- 5) Skalova A, Sima R, Kaspirkova-Nemcova J, Simpson RH, Elmberger G, Leivo I, Di Palma S, Jirasek T, Gnepp DR, Weinreb I, Perez-Ordóñez B, Mukensnabl P, Rychly B, Hrabal P, Michal M. Cribriform adenocarcinoma of minor salivary gland origin principally affecting the tongue: characterization of new entity. *Am J Surg Pathol.* 2011;35(8):1168-1176.
- 6) Simpson RH, Skálová A, Di Palma S, Leivo I. Recent advances in the diagnostic pathology of salivary carcinomas. *Virchows Arch.* 2014;465(4):371-384.
- 7) Stárek I, Skálová A, Tichý T. Histopathologic changes in parotid gland parenchyma after fine needle aspiration biopsy of a Warthin's tumour. A case report. *Pathol Res Pract.* 2002;198(12):829-832.
- 8) Di Palma S, Simpson RH, Skálová A, Michal M. Metaplastic (infarcted) Warthin's tumour of the parotid gland: a possible consequence of fine needle aspiration biopsy. *Histopathology.* 1999;35(5):432-438.
- 9) Skálová A, Stárek I, Michal M, Leivo I. Malignancy-simulating change in parotid gland oncocytoma following fine needle aspiration. Report of 3 cases. *Pathol Res Pract.* 1999;195(6):399-405.

- 10) Marx RE, Stern D. *Oral and Maxillofacial Pathology: A Rationale for Diagnosis and Treatment*. 2nd edition, Quintessence Pub Co, 2012, 547 – 598.
- 11) Nagao T. „Dedifferentiation“ and high-grade transformation in salivary gland carcinomas. *Head Neck Pathol*. 2013; 7(Suppl 1):S37–S47.
- 12) Skálová A, Vanecek T, Majewska H, Laco J, Grossmann P, Simpson RH, Hauer L, Andrlé P, Hosticka L, Branžovský J, Michal M. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands with high-grade transformation: report of 3 cases with the ETV6-NTRK3 gene fusion and analysis of TP53, β -catenin, EGFR, and CCND1 genes. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(1):23-33.
- 13) Di Palma S. Carcinoma ex pleomorphic adenoma, with particular emphasis on early lesions. *Head Neck Pathol*. 2013;7 Suppl 1:S68-S76.
- 14) Myers EN, Ferris RL. *Salivary Gland Disorders*. 1st edition, Springer-Verlag, Berlin, 2007, 59-62.
- 15) Seethala RR. An update on grading of salivary gland carcinomas. *Head Neck Pathol*. 2009; 3(1):69–77.
- 16) Brandwein MS, Ivanov K, Wallace DI, Hille JJ, Wang B, Fahmy A, Bodian C, Urken ML, Gnepp DR, Huvos A, Lumerman H, Mills SE. Mucoepidermoid carcinoma: a clinicopathologic study of 80 patients with special reference to histological grading. *Am J Surg Pathol*. 2001;25(7):835-845.
- 17) Skalova A, Leivo I, Von Boguslawsky K, Saksela E. Cell proliferation correlates with prognosis in acinic cell carcinomas of salivary gland origin. Immunohistochemical study of 30 cases using the MIB 1 antibody in formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol*. 1994;173(1):13-21.
- 18) Skalova A, Lehtonen H, von Boguslawsky K, Leivo I. Prognostic significance of cell proliferation in mucoepidermoid carcinomas of the salivary gland: clinicopathological study using MIB 1 antibody in paraffin sections. *Hum Pathol*. 1994;25(9):929-935.
- 19) Stenman G. Fusion oncogenes in salivary gland tumors: molecular and clinical consequences. *Head Neck Pathol*. 2013;7 Suppl 1:S12-S19.

- 20) Brdička R, Foretová L, Goetz P, Jüttnerová V, Kozák L, Macek M, Michalová K, Šantavý J, Šubrt I. *Encyklopedie laboratorní medicíny pro klinickou praxi: Klinická genetika* [online]. Verze 12.00, prosinec 2014 [cit. 30. 1. 2016]. Dostupné z: <http://www.enclabmed.cz/encyklopedie/A/GOAAA.htm>
- 21) Michalová K, Zemanová Z. Klasická a molekulární cytogenetika v klinické praxi. *Klin. Biochem. Metab.* 2005;13 (34)(2):63–67.
- 22) Bishop JA, Yonescu R, Batista D, Eisele DW, Westra WH. Most nonparotid "acinic cell carcinomas" represent mammary analog secretory carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(7):1053-1057.
- 23) Bilodeau EA, Weinreb I, Antonescu CR, Zhang L, Dacic S, Muller S, Barker B, Seethala RR. Clear cell odontogenic carcinomas show EWSR1 rearrangements: a novel finding and a biological link to salivary clear cell carcinomas. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(7):1001-1005.
- 24) Stenman G, Persson F, Andersson MK. Diagnostic and therapeutic implications of new molecular biomarkers in salivary gland cancers. *Oral Oncol.* 2014;50(8): 683-690.
- 25) Bell D, Hanna EY. Salivary gland cancers: biology and molecular targets for therapy. *Curr Oncol Rep.* 2012;14(2):166-174.
- 26) Jee KJ, Persson M, Heikinheimo K, Passador-Santos F, Aro K, Knuutila S, Odell EW, Mäkitie A, Sundelin K, Stenman G, Leivo I. Genomic profiles and CRTCL1-MAML2 fusion distinguish different subtypes of mucoepidermoid carcinoma. *Mod Pathol.* 2013;26(2):213-222.
- 27) Skálová A, Weinreb I, Hycza M, Simpson RH, Laco J, Agaimy A, Vazmitel M, Majewska H, Vanecek T, Talarčík P, Manajlovic S, Losito SN, Šteiner P, Klimkova A, Michal M. Clear cell myoepithelial carcinoma of salivary glands showing EWSR1 rearrangement: molecular analysis of 94 salivary gland carcinomas with prominent clear cell component. *Am J Surg Pathol.* 2015;39(3):338-348.
- 28) Skálová A, Vanecek T, Simpson RH, Laco J, Majewska H, Baneckova M, Steiner P, Michal M. Mammary Analogue Secretory Carcinoma of Salivary Glands: Molecular Analysis of 25 ETV6 Gene Rearranged Tumors With Lack of Detection of Classical ETV6-NTRK3 Fusion Transcript by Standard RT-

PCR: Report of 4 Cases Harboring ETV6-X Gene Fusion. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(1):3-13.

29) Limaye SA, Posner MR, Krane JF, Fonfria M, Lorch JH, Dillon DA, Shreenivas AV, Tishler RB, Haddad RI. Trastuzumab for the treatment of salivary duct carcinoma. *Oncologist.* 2013;18(3):294-300.

30) Iqbal MS, Shaikh G, Chatterjee S, Cocks H, Kovarik J. Maintenance therapy with trastuzumab in HER2 positive metastatic parotid ductal adenocarcinoma. *Case Rep Oncol Med.* 2014;2014:162534.

31) Automatizovaný informační systém léčivých přípravků (Mikro-verze AISLP). CD - ROM verze 2015.3, stav k 1. 7. 2015 [cit. 30. 1. 2016].
Dostupné z: www.aislp.cz

32) Amit M, Binenbaum Y, Trejo-Leider L, Sharma K, Ramer N, Ramer I, Agbetoba A, Miles B, Yang X, Lei D, Bjørndal K, Godballe C, Mücke T, Wolff KD, Eckardt AM, Copelli C, Sesenna E, Palmer F, Ganly I, Patel S, Gil Z. International collaborative validation of intraneural invasion as a prognostic marker in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck.* 2015;37(7):1038-1045.

33) Li N, Xu L, Zhao H, El-Naggar AK, Sturgis EM. A comparison of the demographics, clinical features, and survival of patients with adenoid cystic carcinoma of major and minor salivary glands versus less common sites within the Surveillance, Epidemiology, and End Results registry. *Cancer.* 2012;118(16):3945-3953.

34) Marchiò C, Weigelt B, Reis-Filho JS. Adenoid cystic carcinomas of the breast and salivary glands (or 'The strange case of Dr Jekyll and Mr Hyde' of exocrine gland carcinomas). *J Clin Pathol.* 2010;63(3):220-228.

35) Lin YC, Chen KC, Lin CH, Kuo KT, Ko JY, Hong RL. Clinicopathological features of salivary and non-salivary adenoid cystic carcinomas. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2012;41(3):354-360.

36) Robin C, Laboulbène A. Mémoire sur trois productions morbides non decrites. *C R Soc Biol.* 1853;5:185–196.

37) Billroth T. *Die Cylindergeschwulst (Cylindroma). In: Untersuchungen über die Entwicklung der Blutgefäße nebst Beobachtungen aus der*

Königlichen chirurgischen Universitäts-Klinik zu Berlin. Berlin: Reimer, 1856, 55-69.

38) Billroth T. Beobachtungen über Geschwülste der Speicheldrüsen. *Virchows Arch Path Anat*. 1859;17:357-75.

39) Ewing J. *Epithelial tumors of the salivary gland*. In: *Neoplastic diseases*. 3rd edition, Philadelphia: WB Saunders, 1919, 780.

40) Spies JW. Adenoid cystic carcinoma. *Arch Surg*. 1930;21:365-404.

41) Dockerty MB, Mayo CW. Primary tumors of submaxillary gland with special reference to mixed tumors. *Surg Gynecol Obstet*. 1942;74:1033-1045.

42) Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Bradley PJ, Vander Poorten V, Triantafyllou A, Hunt JL, Strojjan P, Rinaldo A, Haigentz M Jr, Takes RP, Mondin V, Teymoortash A, Thompson LD, Ferlito A. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck--An update. *Oral Oncol*. 2015;51(7):652-661.

43) Ciccolallo L, Licitra L, Cantú G, Gatta G; EURO CARE Working Group. Survival from salivary glands adenoid cystic carcinoma in European populations. *Oral Oncol*. 2009;45(8):669-674.

44) Amit M, Binenbaum Y, Sharma K, Ramer N, Ramer I, Agbetoba A, Glick J, Yang X, Lei D, Bjørndal K, Godballe C, Mücke T, Wolff KD, Fliss D, Eckardt AM, Copelli C, Sesenna E, Palmer F, Ganly I, Patel S, Gil Z. Incidence of cervical lymph node metastasis and its association with outcomes in patients with adenoid cystic carcinoma. An international collaborative study. *Head Neck*. 2015;37(7):1032-1037.

45) Ellington CL, Goodman M, Kono SA, Grist W, Wadsworth T, Chen AY, Owonikoko T, Ramalingam S, Shin DM, Khuri FR, Beitler JJ, Saba NF. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: Incidence and survival trends based on 1973-2007 Surveillance, Epidemiology, and End Results data. *Cancer*. 2012;118(18):4444-4451.

46) Min R, Siyi L, Wenjun Y, Ow A, Lizheng W, Minjun D, Chenping Z. Salivary gland adenoid cystic carcinoma with cervical lymph node metastasis: a preliminary study of 62 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012;41(8): 952-957.

- 47) Lee SY, Kim BH, Choi EC. Nineteen-year oncologic outcomes and the benefit of elective neck dissection in salivary gland adenoid cystic carcinoma. *Head Neck*. 2014;36(12):1796-1801.
- 48) TNM klasifikace zhoubných novotvarů. 7. vydání, 2009, česká verze 2011, ÚZIS, Praha, 2011.
- 49) Hellquist H, Skálová A, Barnes L, Cardesa A, Thompson LD, Triantafyllou A, Williams MD, Devaney KO, Gnepp DR, Bishop JA, Wenig BM, Suárez C, Rodrigo JP, Coca-Pelaz A, Strojan P, Shah JP, Hamoir M, Bradley PJ, Silver CE, Slootweg PJ, Vander Poorten V, Teymoortash A, Medina JE, Robbins KT, Pitman KT, Kowalski LP, de Bree R, Mendenhall WM, Eloy JA, Takes RP, Rinaldo A, Ferlito A. Cervical Lymph Node Metastasis in High-Grade Transformation of Head and Neck Adenoid Cystic Carcinoma: A Collective International Review. *Adv Ther*. 2016 [Epub ahead of print]
- 50) Amit M, Binenbaum Y, Sharma K, Ramer N, Ramer I, Agbetoba A, Miles B, Yang X, Lei D, Bjørndal K, Godballe C, Mücke T, Wolff KD, Fliss D, Eckardt AM, Copelli C, Sesenna E, Palmer F, Patel S, Gil Z. Analysis of failure in patients with adenoid cystic carcinoma of the head and neck. An international collaborative study. *Head Neck*. 2014;36(7):998-1004.
- 51) Gao M, Hao Y, Huang MX, Ma DQ, Luo HY, Gao Y, Peng X, Yu GY. Clinicopathological study of distant metastases of salivary adenoid cystic carcinoma. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013;42(8):923–928.
- 52) Song IH, Song JS, Sung CO, Roh JL, Choi SH, Nam SY, Kim SY, Lee JH, Baek JH, Cho KJ. Accuracy of Core Needle Biopsy Versus Fine Needle Aspiration Cytology for Diagnosing Salivary Gland Tumors. *J Pathol Transl Med*. 2015;49(2):136-143.
- 53) Deng RX, Xu X, Zhang CP, Zhang ZY, He Y. Primary intraosseous adenoid cystic carcinoma of the jaw: clinical and histopathologic analysis. *J Oral Maxillofac Surg*. 2014;72(4):835.e1-10.
- 54) Bumsted WD. Cylindroma of the mandible. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1955;8(5):546-555.
- 55) Batsakis JG, Regezi JA. The pathology of head and neck tumors: salivary glands, part 4. *Head Neck Surg*. 1979;1(4):340-349.

- 56) Bouquot JE, Gnepp DR, Dardick I, Hietanen JH. Intraosseous salivary tissue: jawbone examples of choristomas, hamartomas, embryonic rests, and inflammatory entrapment: another histogenetic source for intraosseous adenocarcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;90(2):205-217.
- 57) Liebig C, Ayala G, Wilks JA, Berger DH, Albo D. Perineural invasion in cancer: a review of the literature. *Cancer.* 2009;115(15):3379-3391.
- 58) Teymoortash A, Zieger L, Hoch S, Pagenstecher A, Hofer MJ. Distinct microscopic features of perineural invasion in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Histopathology.* 2014;64(7):1037-1039.
- 59) Namboodiripad PC. A review: Immunological markers for malignant salivary gland tumors. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2014;4(2):127-134.
- 60) Skálová A, Simpson RH, Lehtonen H, Leivo I. Assessment of proliferative activity using the MIB1 antibody help to distinguish polymorphous low grade adenocarcinoma from adenoid cystic carcinoma of salivary glands. *Pathol Res Pract.* 1997;193(10):695-703.
- 61) Stanley RJ, Weiland LH, Olsen KD, Pearson BW. Dedifferentiated acinic cell (acinous) carcinoma of the parotid gland. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1988;98(2):155-161.
- 62) Cheuk W, Chan JK, Ngan RK. Dedifferentiation in adenoid cystic carcinoma of salivary gland: an uncommon complication associated with an accelerated clinical course. *Am J Surg Pathol.* 1999;23(4):465-472.
- 63) Seethala RR, Hunt JL, Baloch ZW, Livolsi VA, Leon Barnes E. Adenoid cystic carcinoma with high-grade transformation: a report of 11 cases and a review of the literature. *Am J Surg Pathol.* 2007;31(11):1683-1694.
- 64) Persson M, Andrén Y, Mark J, Horlings HM, Persson F, Stenman G. Recurrent fusion of MYB and NFIB transcription factor genes in carcinomas of the breast and head and neck. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(44):18740-18744.
- 65) Fehr A, Kovács A, Löning T, Frierson H Jr, van den Oord J, Stenman G. The MYB-NFIB gene fusion-a novel genetic link between adenoid cystic carcinoma and dermal cylindroma. *J Pathol.* 2011;224(3):322-327.

- 66) Mitani Y, Liu B, Rao PH, Borra VJ, Zafereo M, Weber RS, Kies M, Lozano G, Futreal PA, Caulin C, El-Naggar AK. Novel MYBL1 Gene Rearrangements with Recurrent MYBL1-NFIB Fusions in Salivary Adenoid Cystic Carcinomas Lacking t(6;9) Translocations. *Clin Cancer Res.* 2016;22(3):725-733.
- 67) Brayer KJ, Frerich CA, Kang H, Ness SA. Recurrent Fusions in MYB and MYBL1 Define a Common, Transcription Factor-Driven Oncogenic Pathway in Salivary Gland Adenoid Cystic Carcinoma. *Cancer Discov.* 2016;6(2):176-187.
- 68) Chae YK, Chung SY, Davis AA, Carneiro BA, Chandra S, Kaplan J, Kalyan A, Giles FJ. Adenoid cystic carcinoma: current therapy and potential therapeutic advances based on genomic profiling. *Oncotarget.* 2015;6(35):37117-37134.
- 69) Subramaniam T, Lennon P, O'Neill JP. Ongoing challenges in the treatment of adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Ir J Med Sci.* 2015;184(3):583-590.
- 70) Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů. 10. revize [online]. Aktualizovaná verze k 1. 4. 2014. Dostupná z: <http://www.uzis.cz/zpravy/upravena-verze-mkn-10>.
- 71) Mezinárodní klasifikace nemocí pro onkologii. 3. vydání, rok 2000, česká verze 2004, ÚZIS, Praha, 2004.
- 72) Perzin KH, Gullane P, Clairmont AC. Adenoid cystic carcinomas arising in salivary glands: a correlation of histologic features and clinical course. *Cancer.* 1978;42(1):265–282.
- 73) Szanto PA, Luna MA, Tortoledo ME, White RA. Histologic grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Cancer.* 1984;54(6):1062-1069.
- 74) Spiro RH, Huvos AG. Stage means more than grade in adenoid cystic carcinoma. *Am J Surg.* 1992;164(6):623–628.
- 75) van Weert S, van der Waal I, Witte BI, Leemans CR, Bloemena E. Histopathological grading of adenoid cystic carcinoma of the head and neck: analysis of currently used grading systems and proposal for a simplified grading scheme. *Oral Oncol.* 2015;51(1):71-76.

76) Casler JD, Conley JJ. Surgical management of adenoid cystic carcinoma in the parotid gland. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992;106(4):332-338.

77) Vander Poorten VLM, Balm AJM, Hilgers FJM. Management of cancer of the parotid gland. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* 2002;10(2):134–144

78) Fagan J. *The Open Access Atlas of Otolaryngology, Head & Neck Operative Surgery: Selective Neck Dissection* [online]. Dostupné z: <http://www.entdev.uct.ac.za/guides/open-access-atlas-of-otolaryngology-head-neck-operative-surgery/>

79) Amit M, Na'ara S, Sharma K, Ramer N, Ramer I, Agbetoba A, Glick J, Yang X, Lei D, Bjoerndal K, Godballe C, Mücke T, Klaus-Dietrich W, Eckardt AM, Copelli C, Sesenna E, Palmer F, Ganly I, Gil Z. Elective neck dissection in patients with head and neck adenoid cystic carcinoma: an international collaborative study. *Ann Surg Oncol.* 2015;22(4):1353-1359.

80) Robbins KT, Shaha AR, Medina JE, Califano JA, Wolf GT, Ferlito A, Som PM, Day TA; Committee for Neck Dissection Classification, American Head and Neck Society. Consensus statement on the classification and terminology of neck dissection. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2008;134(5): 536-538.

81) Chen AM, Bucci MK, Weinberg V, Garcia J, Quivey JM, Schechter NR, Phillips TL, Fu KK, Eisele DW. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck treated by surgery with or without postoperative radiation therapy: prognostic features of recurrence. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2006;66(1):152-159.

82) Shen C, Xu T, Huang C, Hu C, He S. Treatment outcomes and prognostic features in adenoid cystic carcinoma originated from the head and neck. *Oral Oncol.* 2012;48(5):445-449.

83) Silverman DA, Carlson TP, Khuntia D, Bergstrom RT, Saxton J, Esclamado RM. Role for postoperative radiation therapy in adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope.* 2004;114(7):1194-1199.

84) Lloyd S, Yu JB, Wilson LD, Decker RH. Determinants and patterns of survival in adenoid cystic carcinoma of the head and neck, including an analysis of adjuvant radiation therapy. *Am J Clin Oncol.* 2011;34(1):76-81.

- 85) Maruya S, Namba A, Matsubara A, Kakehata S, Takeda I, Shirasaki T, Hatayama Y, Nagahata M, Yokoyama J, Shinkawa H. Salivary gland carcinoma treated with concomitant chemoradiation with intraarterial cisplatin and docetaxel. *Int J Clin Oncol*. 2006;11(5):403-406.
- 86) Samant S, van den Brekel MW, Kies MS, Wan J, Robbins KT, Rosenthal DI, Rasch C, Weber RS. Concurrent chemoradiation for adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck*. 2012;34(9):1263-1268.
- 87) Cerda T, Sun XS, Vignot S, Marcy PY, Baujat B, Baglin AC, Ali AM, Testelin S, Reyt E, Janot F, Thariat J. A rationale for chemoradiation (vs radiotherapy) in salivary gland cancers? On behalf of the REFCOR (French rare head and neck cancer network). *Crit Rev Oncol Hematol*. 2014;91(2):142-158.
- 88) Schoenfeld JD, Sher DJ, Norris CM Jr, Haddad RI, Posner MR, Balboni TA, Tishler RB. Salivary gland tumors treated with adjuvant intensity-modulated radiotherapy with or without concurrent chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012;82(1):308-314.
- 89) Pederson AW, Salama JK, Haraf DJ, Witt ME, Stenson KM, Portugal L, Seiwert T, Villaflor VM, Cohen EE, Vokes EE, Blair EA. Adjuvant chemoradiotherapy for locoregionally advanced and high-risk salivary gland malignancies. *Head Neck Oncol*. 2011;3:31.
- 90) Kasibhatla M, Kirkpatrick JP, Brizel DM. How much radiation is the chemotherapy worth in advanced head and neck cancer? *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2007;68(5):1491-5.
- 91) Hitre E, Budai B, Takácsi-Nagy Z, Rubovszky G, Tóth E, Remenár É, Polgár C, Láng I. Cetuximab and platinum-based chemoradio- or chemotherapy of patients with epidermal growth factor receptor expressing adenoid cystic carcinoma: a phase II trial. *Br J Cancer*. 2013;109(5):1117-1122.
- 92) Mendenhall WM, Morris CG, Amdur RJ, Werning JW, Hinerman RW, Villaret DB. Radiotherapy alone or combined with surgery for adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Head Neck*. 2004;26(2):154-162.
- 93) Takagi M, Demizu Y, Hashimoto N, Mima M, Terashima K, Fujii O, Jin D, Niwa Y, Morimoto K, Akagi T, Daimon T, Sasaki R, Hishikawa Y, Abe M, Murakami M, Fuwa N. Treatment outcomes of particle radiotherapy using

protons or carbon ions as a single-modality therapy for adenoid cystic carcinoma of the head and neck. *Radiother Oncol*. 2014;113(3):364-370.

94) Mizoe JE, Hasegawa A, Jingu K, Takagi R, Bessyo H, Morikawa T, Tonoki M, Tsuji H, Kamada T, Tsujii H, Okamoto Y; Organizing Committee for the Working Group for Head Neck Cancer. Results of carbon ion radiotherapy for head and neck cancer. *Radiother Oncol*. 2012;103(1):32-37.

95) Jensen AD, Poulakis M, Nikoghosyan AV, Welzel T, Uhl M, Federspil PA, Freier K, Krauss J, Höss A, Haberer T, Jäkel O, Münter MW, Schulz-Ertner D, Huber PE, Debus J. High-LET radiotherapy for adenoid cystic carcinoma of the head and neck: 15 years' experience with raster-scanned carbon ion therapy. *Radiother Oncol*. 2015 [Epub ahead of print]

96) Huber PE, Debus J, Latz D, Zierhut D, Bischof M, Wannemacher M, Engenhart-Cabillic R. Radiotherapy for advanced adenoid cystic carcinoma: neutrons, photons or mixed beam? *Radiother Oncol*. 2001;59(2):161-167.

97) Laramore GE, Krall JM, Griffin TW, Duncan W, Richter MP, Saroja KR, Maor MH, Davis LW. Neutron versus photon irradiation for unresectable salivary gland tumors: final report of an RTOG-MRC randomized clinical trial. Radiation Therapy Oncology Group. Medical Research Council. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1993;27(2):235-240.

98) Krüll A, Schwarz R, Engenhart R, Huber P, Lessel A, Koppe H, Favre A, Breteau N, Auberger T. European results in neutron therapy of malignant salivary gland tumors. *Bull Cancer Radiother*. 1996;83 Suppl:125-129s.

99) Douglas JG, Lee S, Laramore GE, Austin-Seymour M, Koh W, Griffin TW. Neutron radiotherapy for the treatment of locally advanced major salivary gland tumors. *Head Neck*. 1999;21(3):255-263.

100) Laurie SA, Ho AL, Fury MG, Sherman E, Pfister DG. Systemic therapy in the management of metastatic or locally recurrent adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: a systematic review. *Lancet Oncol*. 2011;12(8):815-824.

101) Pfeffer MR, Talmi Y, Catane R, Symon Z, Yosepovitch A, Levitt M. A phase II study of imatinib for advanced adenoid cystic carcinoma of head and neck salivary glands. *Oral Oncol*. 2007;43(1):33-36.

102) Keam B, Kim SB, Shin SH, Cho BC, Lee KW, Kim MK, Yun HJ, Lee SH, Yoon DH, Bang YJ. Phase 2 study of dovitinib in patients with metastatic or unresectable adenoid cystic carcinoma. *Cancer*. 2015;121(15):2612-2617.

103) Agulnik M, Cohen EW, Cohen RB, Chen EX, Vokes EE, Hotte SJ, Winkquist E, Laurie S, Hayes DN, Dancey JE, Brown S, Pond GR, Lorimer I, Daneshmand M, Ho J, Tsao MS, Siu LL. Phase II study of lapatinib in recurrent or metastatic epidermal growth factor receptor and/or erbB2 expressing adenoid cystic carcinoma and non adenoid cystic carcinoma malignant tumors of the salivary glands. *J Clin Oncol*. 2007;25(25):3978-3984.

104) Locati LD, Bossi P, Perrone F, Potepan P, Crippa F, Mariani L, Casieri P, Orsenigo M, Losa M, Bergamini C, Liberatoscioli C, Quattrone P, Calderone RG, Rinaldi G, Pilotti S, Licitra L. Cetuximab in recurrent and/or metastatic salivary gland carcinomas: A phase II study. *Oral Oncol*. 2009;45(7):574-578.

105) Chau NG, Hotte SJ, Chen EX, Chin SF, Turner S, Wang L, Siu LL. A phase II study of sunitinib in recurrent and/or metastatic adenoid cystic carcinoma (ACC) of the salivary glands: current progress and challenges in evaluating molecularly targeted agents in ACC. *Ann Oncol*. 2012;23(6):1562-1570.

106) Kim DW, Oh DY, Shin SH, Kang JH, Cho BC, Chung JS, Kim H, Park KU, Kwon JH, Han JY, Kim MJ, Bang YJ. A multicenter phase II study of everolimus in patients with progressive unresectable adenoid cystic carcinoma. *BMC Cancer*. 2014;14:795.

107) Ho AL, Sherman EJ, Fury MG, Baxi SS, Haque S, Sima CS, Antonescu CR, Katabi N, Pfister DG. Phase II study of axitinib in patients with progressive, recurrent/metastatic adenoid cystic carcinoma. *J Clin Oncol*. 2014;32(15 Suppl): 6093.

108) Li J, Perlaky L, Rao P, Weber RS, El-Naggar AK. Development and characterization of salivary adenoid cystic carcinoma cell line. *Oral Oncol*. 2014;50(10):991-999.

109) Moskaluk CA, Baras AS, Mancuso SA, Fan H, Davidson RJ, Dirks DC, Golden WL, Frierson HF Jr. Development and characterization of xenograft model systems for adenoid cystic carcinoma. *Lab Invest*. 2011;91(10):1480-1490.

110) Adenoid cystic carcinoma research foundation. History of Phase II Clinical Trials with ACC Patients [online]. Updated November 2015 [cit. 30. 1. 2016]. Dostupné z: <http://www.accrf.org/wp-content/uploads/Clinical-Trials-History-2015-Nov.pdf>

111) Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC, Gwyther SG. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(3):205-216.

112) Demlová R. Hodnocení odpovědi nádoru na léčbu - RECIST (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors). *Klinická onkologie.* 2005;18(Supplement 2005): 248-249.

113) Young H, Baum R, Cremerius U, Herholz K, Hoekstra O, Lammertsma AA, Pruim J, Price P. Measurement of clinical and subclinical tumour response using [18F]-fluorodeoxyglucose and positron emission tomography: review and 1999 EORTC recommendations. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) PET Study Group. *Eur J Cancer.* 1999;35(13):1773-1782.

114) Calhoun KH, Fulmer P, Weiss R, Hokanson JA. Distant metastases from head and neck squamous cell carcinomas. *Laryngoscope.* 1994;104(10):1199-1205.

115) Patey DH, Thackray AC. The treatment of parotid tumours in the light of a pathological study of parotidectomy material. *Br J Surg.* 1958;45(193):477-487.

116) Ganly I, Amit M, Kou L, Palmer FL, Migliacci J, Katabi N, Yu C, Kattan MW, Binenbaum Y, Sharma K, Naomi R, Abib A, Miles B, Yang X, Lei D, Bjoerndal K, Godballe C, Mücke T, Wolff KD, Fliss D, Eckardt AM, Chiara C, Sesenna E, Ali S, Czerwonka L, Goldstein DP, Gil Z, Patel SG. Nomograms for predicting survival and recurrence in patients with adenoid cystic carcinoma. An international collaborative study. *Eur J Cancer.* 2015;51(18):2768-2776.

117) Shingaki S, Kanemaru S, Oda Y, Niimi K, Mikami T, Funayama A, Saito C. Distant metastasis and survival of adenoid cystic carcinoma after

definitive treatment. *J Oral Maxillofac Surg Med.* 2014;Pathol 26(3):312–316.

118) Mitani Y, Rao PH, Futreal PA, Roberts DB, Stephens PJ, Zhao YJ, Zhang L, Mitani M, Weber RS, Lippman SM, Caulin C, El-Naggar AK. Novel chromosomal rearrangements and break points at the t(6;9) in salivary adenoid cystic carcinoma: association with MYB-NFIB chimeric fusion, MYB expression, and clinical outcome. *Clin Cancer Res.* 2011;17(22):7003-7014.

119) Rao PH, Roberts D, Zhao YJ, Bell D, Harris CP, Weber RS, El-Naggar AK. Deletion of 1p32-p36 is the most frequent genetic change and poor prognostic marker in adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Clin Cancer Res.* 2008;14(16):5181-5187.

120) Chang B, Li S, He Q, Liu Z, Zhao L, Zhao T, Wang A. Deregulation of Bmi-1 is associated with enhanced migration, invasion and poor prognosis in salivary adenoid cystic carcinoma. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(12):3285-3291.

121) Zhu X, Xu JJ, Hu SS, Feng JG, Jiang LH, Hou XX, Cao J, Han J, Ling ZQ, Ge MH. Pim-1 acts as an oncogene in human salivary gland adenoid cystic carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res.* 2014;33:114.

122) He JF, Ge MH, Zhu X, Chen C, Tan Z, Li YN, Gu ZY. Expression of RUNX3 in salivary adenoid cystic carcinoma: implications for tumor progression and prognosis. *Cancer Sci.* 2008;99(7):1334-1340.

123) Sun J, Luo Y, Tian Z, Gu L, Xia SC, Yu Y. Expression of ERBB3 binding protein 1 (EBP1) in salivary adenoid cystic carcinoma and its clinicopathological relevance. *BMC Cancer.* 2012;12:499.

124) Qi C, Shao Y, Li N, Zhang C, Zhao M, Gao F. Prognostic significance of PDCD4 expression in human salivary adenoid cystic carcinoma. *Med Oncol.* 2013;30(1):491.

125) Garavello W, Ciardo A, Spreafico R, Gaini RM. Risk factors for distant metastases in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006;132(7):762-766.

126) León X, Quer M, Orús C, del Prado Venegas M, López M. Distant metastases in head and neck cancer patients who achieved loco-regional control. *Head Neck*. 2000;22(7):680-686.

127) Fehr A, Kovács A, Löning T, Frierson H Jr, van den Oord J, Stenman G. The MYB-NFIB gene fusion-a novel genetic link between adenoid cystic carcinoma and dermal cylindroma. *J Pathol*. 2011;224(3):322-327.

128) Persson M, Andrén Y, Moskaluk CA, Frierson HF Jr, Cooke SL, Futreal PA, Kling T, Nelander S, Nordkvist A, Persson F, Stenman G. Clinically significant copy number alterations and complex rearrangements of MYB and NFIB in head and neck adenoid cystic carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2012;51(8):805-817.

129) Rettig EM, Tan M, Ling S, Yonescu R, Bishop JA, Fakhry C, Ha PK. MYB rearrangement and clinicopathologic characteristics in head and neck adenoid cystic carcinoma. *Laryngoscope*. 2015;125(9):E292-E299.

7 Příloha 1



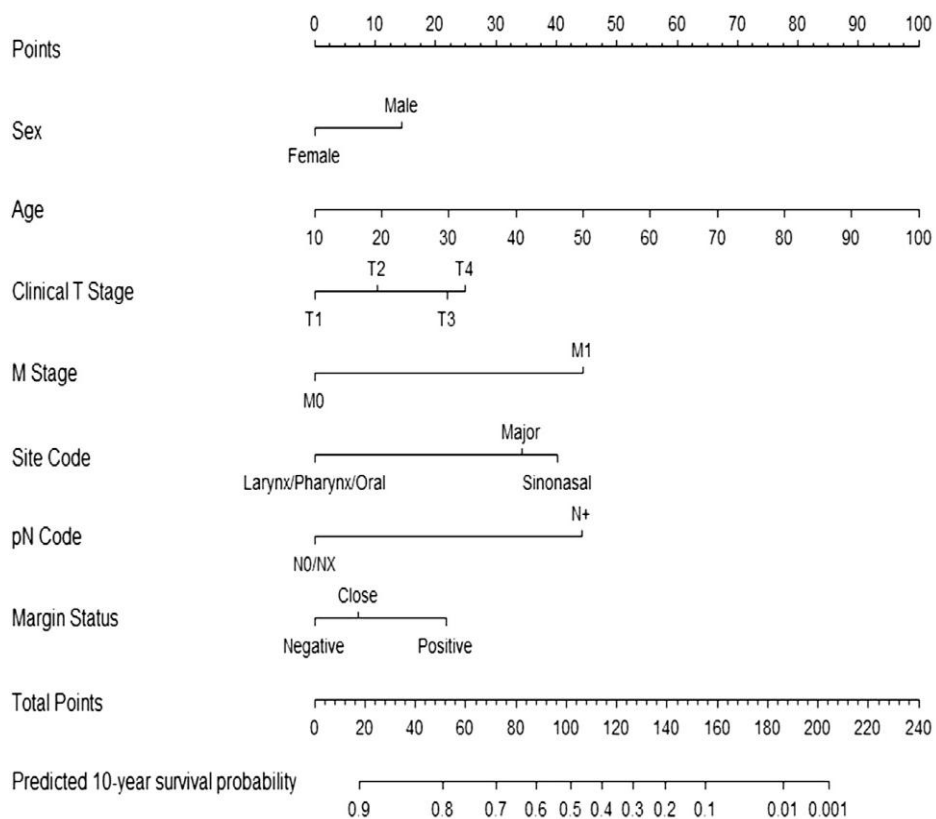
History of Phase II Clinical Trials with ACC Patients (Updated November 2015)

Compound	Target(s)	Sponsoring Institution	ACC Patients (Evaluable)	Objective Response	Stable Disease	Stable Disease Duration	Progression Required?	Publication Year	Publication Link
Dovitinib	FGFR, VEGFR, PDGFR	Seoul National University	32	3%	94%	80% > 4M	Yes	2015	View
Dovitinib	FGFR, VEGFR, PDGFR	University of Virginia	35	6%		71% > 4M 69% > 6M	Yes	2015	View*
Sorafenib (Nexavar)	RAF, PDGFR, VEGFR, KIT, RET	Christie Hospital NHS Trust	19	11%	68%	46% > 1Y	Yes	2015	View
Sorafenib (Nexavar)	RAF, PDGFR, VEGFR, KIT, RET	Istituto Nazionale dei Tumori	19	11%			No	2013	View*
MK-2206	AKT	Memorial Sloan-Kettering	14	0%	93%		Yes	2015	View*
Dasatinib (Sprycel)	BCR-ABL, SRC, KIT	University of Chicago	40	3%	50%		Yes	2015	View
Nelfinavir	HIV protease, AKT	University of Iowa	15	0%	47%	13% > 6M 65% > 4M	No	2015	View
Everolimus (Afinitor)	mTOR	Seoul National University	31	0%	79%	38% > 6M	Yes	2014	View
Axitinib (Inlyta)	VEGFR, PDGFR, KIT	Memorial Sloan-Kettering	33	9%	76%	30% > 6M	Yes	2014	View*
Vorinostat/SAHA (Zolinza)	HDAC	Karmanos Cancer Institute	30	3%	83%	20% > 1Y	No	2013	View*
Sunitinib (Sutent)	PDGFR, VEGFR, KIT, RET	Princess Margaret Hospital	13	0%	85%	62% > 6M	Yes	2011	View
Imatinib & Cisplatin	ABL, KIT, PDGFR	Christie Hospital NHS Trust	28	11%	68%		Yes	2011	View
Imatinib (Gleevec)	ABL, KIT, PDGFR	Imatinib Target Exploration Consortium	12	0%	50%		No	2008	View
Imatinib (Gleevec)	ABL, KIT, PDGFR	Tel Aviv University	10	0%	70%		No	2007	View
Imatinib (Gleevec)	ABL, KIT, PDGFR	Princess Margaret Hospital	15	0%	56%	13% > 6M	No	2005	View
Cetuximab (Erbix)	EGFR	Istituto Nazionale dei Tumori	23	0%	87%	52% > 6M	No	2009	View
Gemcitabine & Cisplatin	Chemotherapy	NCI Canada	10	20%			No	2009	View
Gemcitabine	Chemotherapy	Radboud University Nijmegen	21	0%	52%	48% > 6M	Yes	2008	View
Lapatinib (Tykerb)	EGFR, HER2	Princess Margaret Hospital	19	0%	79%	47% > 6M	Yes	2007	View
Bortezomib (Velcade)	NFKB, 26S Proteasome	University of Pittsburgh/ECOG	25	0%	64%		Yes	2006	View
Paclitaxel	Chemotherapy	LSU/ECOG	13	0%	54%			2006	View
Paclitaxel & Carboplatin	Chemotherapy	University of Torino	10	20%			Yes	2000	View
Gefitinib (Iressa)	EGFR	MD Anderson	19	0%	68%		Yes	2005	View
Vinorelbine & Cisplatin	Chemotherapy	University of Torino	9	44%			Yes	2001	View
Vinorelbine	Chemotherapy	University of Torino	13	15%			Yes	2001	View
Cisplatin & 5-FU	Chemotherapy	Royal Marsden NHS Trust	11	0%	55%			1997	View
Cisplatin & Doxorubicin & Cyclophosphamide	Chemotherapy	Istituto Nazionale dei Tumori	12	25%	42%		Yes	1996	View
Cisplatin & Doxorubicin & Bleomycin	Chemotherapy	Radboud University Nijmegen	9	33%	55%			1992	View
Cisplatin	Chemotherapy	Radboud University Nijmegen	10	0%	50%			1992	View
Cisplatin	Chemotherapy	Istituto Nazionale dei Tumori	13	15%	46%			1991	View
Mitoxantrone	Chemotherapy	Rotterdam Cancer Inst.	32	12%	69%			1996	View
Mitoxantrone	Chemotherapy	Johns Hopkins	18	6%	67%			1990	View
Epirubicin	Chemotherapy	Free University Hosp.(NL)	20	10%	50%		Yes	1993	View

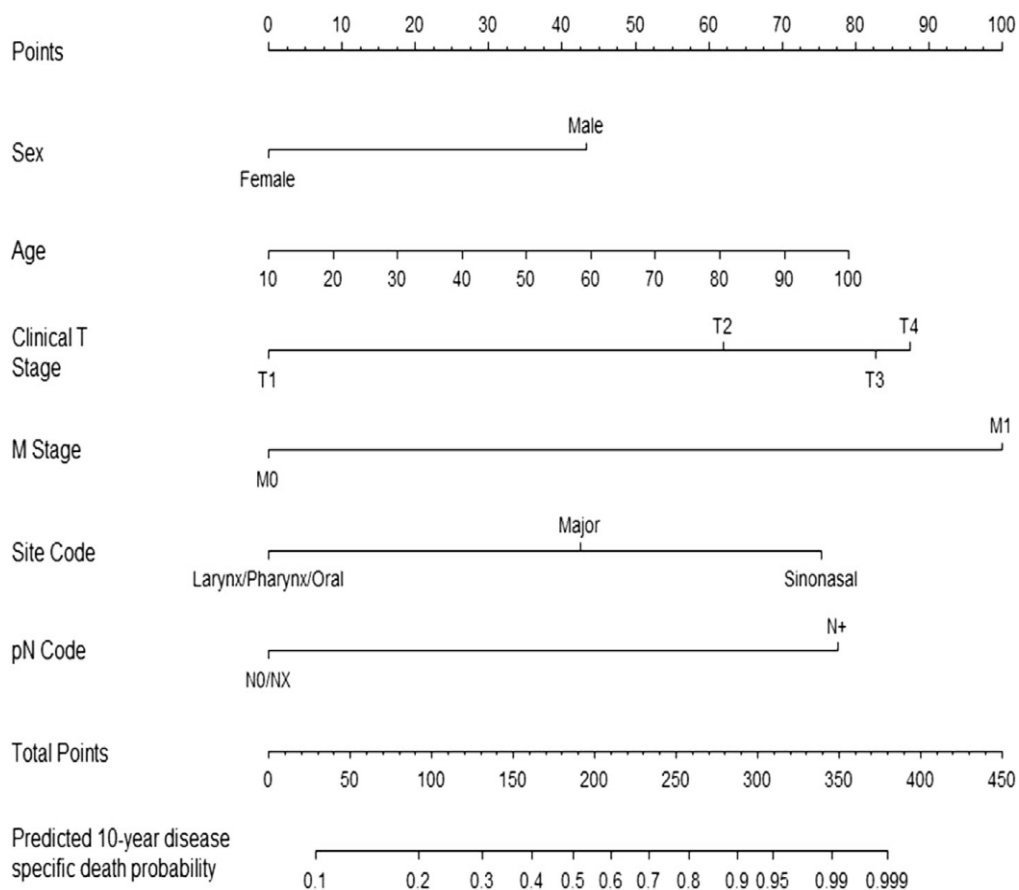
* Abstract (not article)

Příloha 2

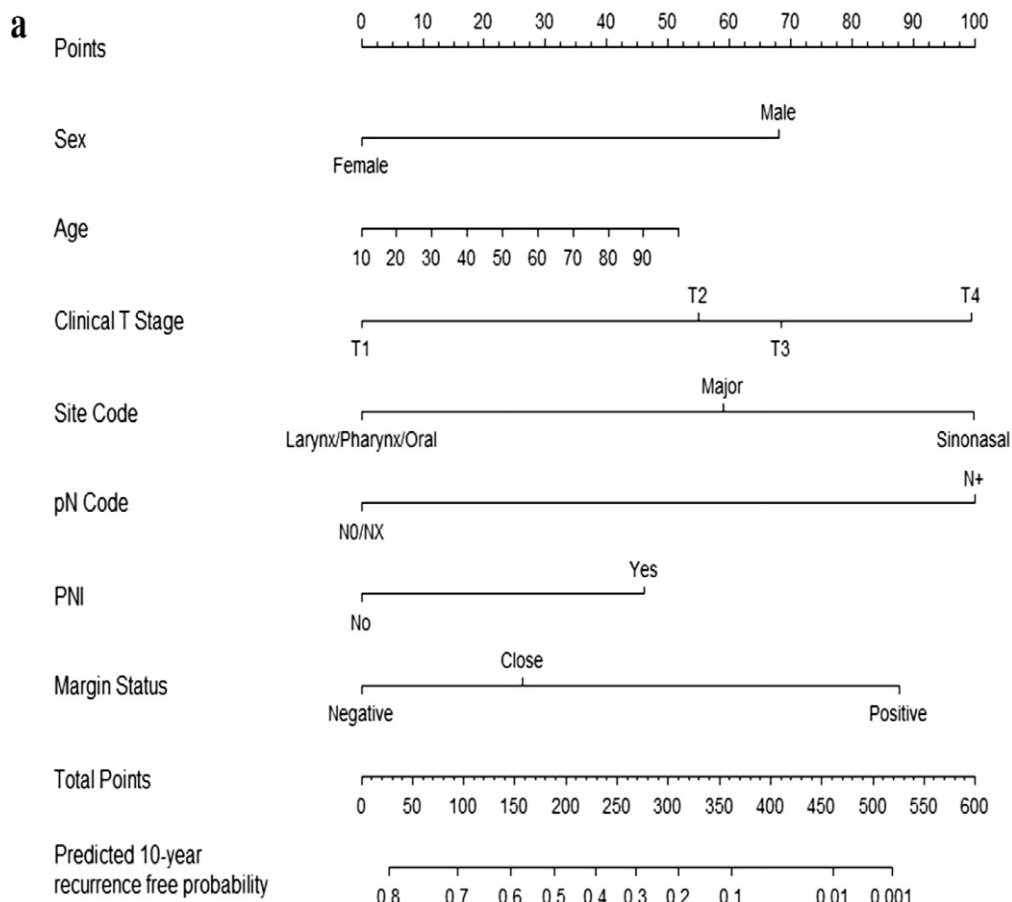
Nomogram – celkové 10leté přežití u AdCC



Nomogram - pravděpodobnost úmrtí na AdCC v 10 letech



Nomogram - pravděpodobnost 10letého průběhu onemocnění bez recidivy



Nomogram - pravděpodobnost 10letého průběhu onemocnění bez vzdálených metastáz

