

MASARYKOVA UNIVERZITA

LÉKAŘSKÁ FAKULTA

**Moderní přístupy k diagnostice a léčbě karcinomu
močového měchýře**

HABILITAČNÍ PRÁCE

komentovaný soubor prací

Poděkování:

Děkuji své manželce Andrei a celé rodině za podporu, bez které by tato práce nevznikla.

Dále bych chtěl poděkovat svým kolegům za dlouholetou spolupráci a především doc. Janu Doleželovi, Ph.D. za rané nasměrování mých kroků, inspiraci a předání chirurgických zručností. Za mnohé cenné rady vděčím doc. Alexandrovi Poprachovi, Ph.D. a prof. RNDr. Ondřeji Slabému, Ph.D.

Obsah

Abstrakt	5
1 Úvod	8
2 Epidemiologie nádorů močového měchýře	8
2.1 Vlastní příspěvek k problematice	9
3 Etiologie nádorů močového měchýře	10
4 Patogeneze nádorů močového měchýře	11
4.1 Model patogenese	11
4.2 Molekulární klasifikace	12
4.3 Vlastní příspěvek k problematice	13
5 Diagnostické metody u nádorů močového měchýře	14
5.1 Symptomy	15
5.2 Zobrazovací metody	15
5.3 Endoskopie	15
5.4 TNM klasifikace	16
5.5 Cytologie moči	17
5.6 Nové biomarkery	17
5.7 Vlastní příspěvek k problematice	18
6 Léčba nádorů močového měchýře	19
6.1 Neinvazivní nádory močového měchýře	19
6.1.1 Transuretrální resekce nádorů měchýře	19
6.1.2 Stratifikace pacientů do rizikových skupin.....	20
6.1.3 Adjuvantní intravesikáln.....	21
6.1.4 Biomarkery využitelné při detekci recidivy	22
6.1.5 Časná cystektomie u pacientů s vysokým rizik.....	23
6.1.6 Radioterapie u T1 nádorů	24
6.1.7 Vlastní příspěvek k problematice	24
6.2 Invazivní nádory močového měchýře	25
6.2.1 Operační léčba	25

6.2.1.1 Radikální cystektomie	25
6.2.1.2 Derivace moči	27
6.2.2 Perioperační systémová léčba	28
6.2.2.1 Neoadjuvantní chemoterapie	28
6.2.2.2 Adjuvantní chemoterapie	29
6.2.2.3 Predikce odpovědi na chemoterapii	30
6.2.2.4 Imunoterapie	30
6.2.3 Perioperační radioterapie	31
6.2.4 Měchýř-záchovné postupy	31
6.2.4.1 Transuretrální resekce měchýře	31
6.2.4.2 Radioterapie	32
6.2.4.3 Trimodální léčba	32
6.2.5 Vlastní příspěvek k problematice	33
6.3 Metastatické nádory močového měchýře	36
6.3.1 Regionální uzlinové metastázy (cN1-3)	37
6.3.1.1 Změny v TNM klasifikaci	37
6.3.2 Supraregionální uzlinové metastázy (cM1a)	38
6.3.3 Vlastní příspěvek k problematice	38
7 Závěr	41
8 Citace	42
9 Seznam zkratk	56
10 Seznam příloh	59

Moderní přístupy k diagnostice a léčbě karcinomu močového měchýře

Modern approaches to diagnostics and therapy of bladder cancer

ABSTRAKT

V posledních několika letech jsme svědky zásadních změn v diagnostice a léčbě karcinomu močového měchýře. Vylepšení zobrazovacích vyšetření, inovace v endoskopické vizualizaci nádorů a nové metody tekuté biopsie budou v blízké budoucnosti určovat vývoj diagnostiky. Pokroky v genomových vyšetřeních přinesly zásadní změny v porozumění patogenezi karcinomu měchýře, jsou zdrojem prognostických a prediktivních biomarkerů a také nových cílů biologické léčby. Rodící se molekulární klasifikace karcinomu močového měchýře naznačila obrovský potenciál pro volbu vhodné systémové léčby a připravuje půdu pro personalizovanou medicínu. Nástup moderní imunoterapie a cílené léčby znamenal po 30 letech stagnace průlom v léčbě metastatického onemocnění.

Předkládaná práce je koncipovaná formou přehledu aktuálních poznatků o nádorech močového měchýře a na každou kapitolu navazujících komentovaných prací autora, které se týkají třech hlavních oblastí. První tematický okruh je věnován vývoji nových biomarkerů využitelných v diagnostice a při monitorování onemocnění. Problémem diagnostiky je její základní nástroj, cystoskopie, která je invazivní a drahá. Atraktivní alternativou pro klinickou praxi je neinvazivní vyšetření moči, které by mohlo alespoň částečně nahradit roli cystoskopie. S tímto cílem jsme vyvinuli diagnostický test na bázi nekódujících RNA s vysokou senzitivitou, jež jsme úspěšně validovali na nezávislé kohortě. V další studii jsme analýzou mikroRNA v nádorové tkáni dokázali zpřesnit model používaný ke stratifikaci pacientů s neinvazivními nádory do rizikových skupin.

V druhé části jsme popsali své desetileté zkušenosti s neoadjuvantní chemoterapií u invazivních nádorů, která je i přes jasná doporučení pořád málo využívaná. Jedná se o zásadní téma, jelikož přibližně polovina nemocných v této fázi onemocnění má již mikrometastatické postižení a potřebují kromě operace také systémovou léčbu. Kompletní nebo parciální odpověď na chemoterapii, jež jsou spojeny s výbornou prognózou, jsme dosáhli u téměř dvou třetin pacientů. Dále jsme se věnovali optimalizaci výsledků radikální cystektomie a snížení výskytu pooperačních komplikací. Vyvinuli jsme novou techniku antirefluxní implantace močovodu do močové derivace, která s sebou nese minimální riziko stenózy ureterální anastomózy a chrání před infekcí a poškozením funkce ledvin.

V současnosti se zkoumá velké množství biomarkerů u invazivních nádorů močového měchýře. Běžně dostupnými a levnými jsou biomarkery zánětlivé reakce. Na souboru pacientů po radikální cystektomii jsme popsali vysokou prognostickou hodnotu poměru neutrofilů k lymfocytům v pooperačním období a v čase recidivy.

Třetí tematický okruh se soustředí na roli chirurgie u metastatického onemocnění. Pacienti s klinicky prokázanými izolovanými uzlinovými metastázami mají nejlepší prognózu a k těmto nemocným je nutné přistupovat s kurativním záměrem, což jsme zdůraznili v několika pracích. V případě dobré odpovědi na indukční chemoterapii je namístě konsolidační cystektomie s pečlivou lymfadenektomií,

kteřá mŕže vĕst k vylĕčení u třetiny pŕípadŕ. Na zŕkladĕ dat z Nŕrodního onkologickĕho registru jsme analyzovali trendy v pĕči o tuto skupinu nemocnŕch v Āeskĕ republice. Pouze malŕ část z nich podstoupí radikŕlní cystektomii a mĕsto indukční chemoterapie je systĕmovŕ lĕčba aplikovŕna aŕ adjuvantnĕ. Naše vŕsledky by mĕli poslouŕžit k lepšĕ informovanosti o tĕto mĕnĕ Āastĕ klinickĕ situaci a ke zlepšĕnĕ a standardizaci pĕče. Na vlastnĕm souboru pacientŕ s indukční chemoterapií a cystektomií jsme prokŕzali, ŕe publikované onkologickĕ vŕsledky jsou reprodukovatelnĕ a zejmĕna u pacientŕ s limitovanŕm postiŕženĕm uzlin lze dosŕhnout dlouhodobĕho pŕŕžitĕ. Koncept indukční chemoterapie a konsolidační chirurgie lze rozšĕřit takĕ na supraregionŕlnĕ uzlinovĕ postiŕžení retroperitonea. I kdŕž v tĕto indikaci se zatĕm jednŕ o experimentŕlnĕ postup, selektovanĕ pacienti s dobrou odpovĕdĕ na chemoterapii mŕžou mĕt prospĕch z kombinované lĕčby.

Klĕčovŕ slova: karcinom moĀovĕho mĕchŕře, chemoterapie, cystektomie, imunoterapie, biomarkery

ABSTRACT

In recent years, fundamental changes in diagnostics and therapy of bladder cancer have occurred. Improvement in imaging, innovation in endoscopic visualization of tumors and new methods of liquid biopsy will determine the diagnostics in the foreseeable future. Advances in genomics brought about cardinal changes in understanding of bladder cancer pathogenesis, and they serve as the source of prognostic and predictive biomarkers as well as new therapeutic targets. Emerging molecular classification of bladder cancer showed great potential in choosing right systemic treatment, and it introduces a personalized medicine era. After 30 years of stagnation, the advent of modern immunotherapy and targeted therapy was a major breakthrough in the treatment of metastatic bladder cancer.

This thesis consists of an overview of contemporary knowledge of bladder cancer. Every chapter ends with discussion of author's work that refers to the topic. The author's work concerns three major areas. The first of them involves the development of new biomarkers that can be used in diagnosis or monitoring of the disease. Cystoscopy, which is the basic diagnostic tool, is invasive and expensive. Non-invasive urine test that would replace cystoscopy - at least partially - in daily practice is an attractive alternative. Acknowledging this need, we developed a diagnostic test based on non-coding RNA that we validated on an independent cohort of patients. In another study, using microRNA analysis in tumor tissue, we improved the accuracy of the model used for risk stratification of the patients with non-muscle invasive bladder cancer.

In the second part, we described our ten year experience with neoadjuvant chemotherapy in patients with invasive bladder cancer, which is still underused among urologists despite clear recommendation. This is an important topic, because approximately half of these patients have already micrometastatic disease and they need both surgery and systemic therapy. Almost two-thirds of our patients experienced complete or partial response to chemotherapy, which is associated with excellent prognosis. We also pursued the ways how to optimize the outcomes of radical cystectomy and how to

decrease the incidence of postoperative complications. We developed a new technique of anti-reflux ureteral reimplantation into urinary diversion, which has minimal risk of anastomotic stenosis and protects the kidney from infection and functional impairment.

At the present time, there are many biomarkers being developed in muscle invasive bladder cancer. Among them, inflammation-related biomarkers are available in daily practice and are also relatively cheap. We described high prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in a cohort of cystectomy patients, both postoperatively and at the time of progression.

The third thematic area concerns the role of surgery in metastatic disease. Patients with isolated nodal metastases have better prognosis, and they should be approached with curative intent, which we emphasized in several studies. Patients with a good response to induction chemotherapy should continue with consolidative cystectomy with meticulous lymphadenectomy, and such treatment may lead to a cure in a third of them. We analyzed temporal trends in care of these patients in the Czech Republic based on the data from Czech National Cancer Registry. We found that only a relatively small group of patients underwent radical cystectomy and instead of receiving induction chemotherapy preoperatively, the systemic therapy was applied in adjuvant setting. Our results should lead to better awareness of this less frequent clinical scenario and to improvement and standardization of care. In the retrospective cohort study of patients with induction chemotherapy and cystectomy, we showed that published survival outcomes are reproducible, and long-term survival is possible, particularly in patients with limited nodal burden. The concept of induction chemotherapy and consolidative surgery may be broadened to also include cases with retroperitoneal nodal metastases. While this is an experimental approach, selected patients seem to benefit from combined treatment.

Keywords: urinary bladder neoplasms, chemotherapy, cystectomy, immunotherapy, biomarkers

1 Úvod

Nádory močového měchýře jsou třetí nejčastější malignitou urogenitálního traktu a představují široké spektrum onemocnění s různou prognózou. Nejčastěji jsou diagnostikovány v časně fázi, kdy postihují pouze urotel nebo lamina propria (neinvazivní nádory) a dobře odpovídají na lokální léčbu. Jenom zřídka ohrožují pacienta progresí onemocnění, nicméně mají tendenci k rekurenci. Prevalence těchto nádorů stoupá a jeho dlouhodobý monitoring pomocí endoskopie, cytologie moči a zobrazovacích metod činí z tohoto onemocnění jedno z nejdražších v onkologii. Vysvobozením by byla neinvazivní forma monitoringu, k čemuž se nejlépe hodí vyšetření moči nemocných. I přes výrazný pokrok v této oblasti není prozatím doporučeno používání žádného z dostupných biomarkerů v běžné klinické praxi vzhledem k jejich omezené přesnosti.

Přibližně třetinu případů představují invazivní nádory, u kterých se onkologické výsledky i přes pokroky v operační léčbě a perioperační chemoterapii výrazně nemění a pacienti jsou ohroženi pooperačními komplikacemi a toxicitou léčby. V současnosti probíhají studie s perioperační imunoterapií, které můžou výrazněji zlepšit výsledky přežití.

V léčbě metastatických nádorů došlo po téměř 30 letech stagnace k zásadnímu průlomů. Kromě chemoterapie máme nyní k dispozici také moderní imunoterapii ve formě inhibitorů kontrolních bodů (checkpoint inhibitory), které přinesly u části nemocných dlouhotrvající odpovědi. Lepší porozumění molekulární biologii uroteliálních nádorů vedlo k identifikaci nových cílů v rámci biologické léčby a k individualizaci léčebného přístupu, např. použitím FGFR inhibitorů (receptor fibroblastového růstového faktoru).

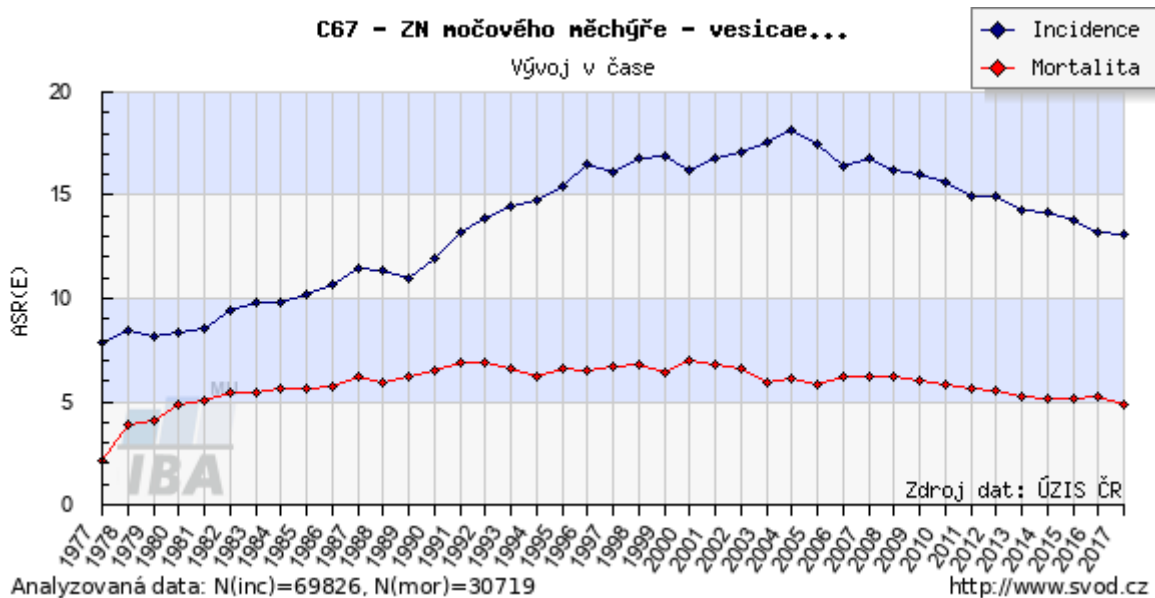
Habilitační práce s názvem „Moderní přístupy k diagnostice a léčbě nádorů močového měchýře“ je koncipována formou přehledu aktuálních poznatků o patogenezi, diagnostice a léčbě tohoto onemocnění, s užším zaměřením na moderní trendy v každé z těchto oblastí. Rozsah jednotlivých kapitol, volba témat a podrobnost jejich zpracování podléhali subjektivnímu výběru a odrážejí hlavní sféry výzkumu autora. Na jednotlivé kapitoly navazuje část věnována vlastním příspěvkům k danému tématu. Komentované práce autora se věnují zejména třem oblastem. Za prvé optimalizaci výsledků chirurgické a systémové léčby u invazivních nádorů močového měchýře. Za druhé multimodální léčbě u nemocných s metastatickým postižením regionálních mízních uzlin v čase diagnózy. A nakonec vývoji diagnostických a prognostických biomarkerů, zejména využití neinvazivního vyšetření mikroRNA v moči.

2 Epidemiologie nádorů močového měchýře

Nádory močového měchýře jsou celosvětově 9. nejčastějším zhoubným onemocněním (1). Muži jsou postiženi třikrát častěji než ženy, jedná se u nich dokonce o 7. nejčastější zhoubný nádor. Ve světě se ročně diagnostikuje 430 tisíc nových případů a zemře 160 tisíc nemocných (2). Incidence je nejvyšší v rozvinutých zemích v Evropě a v Severní Americe. Věkově standardizovaná incidence se pohybuje od >30/100 tisíc mužů ve Španělsku a Itálii po <3/100 tisíc mužů v Indii a Číně. Vzhledem ke stárnutí populace se očekává nárůst incidence a prevalence onemocnění. Výrazné geografické rozdíly

v incidenci odráží míru vystavení rizikovým faktorům, z nichž nejdůležitější jsou kouření a pracovní expozice (3). Regionálním specifickým v severní Africe a západní Asii je infekční onemocnění *Schistosoma haematobium*, které způsobuje skvamózní karcinom.

V České republice (ČR) onemocní ročně kolem 2200 pacientů, nejčastěji v 6. a 7. decénium a zemře 900 nemocných (4). V roce 2017 dosáhla u mužů věkově standardizovaná incidence v ČR 15,5/100 tisíc a mortalita 5,5/100 tisíc osob. U žen jsou odpovídající údaje 4,1/100 tisíc a 1,3/100 tisíc osob. V absolutních číslech je incidence v posledních letech stabilní.



Obr.1 Věkově-standardizovaná incidence a mortalita karcinomu měchýře v celé populaci (4).

Nejčastějším typem je uroteliální karcinom u více než 90% případů, zbytek tvoří skvamózní, glandulární nebo neuroendokrinní karcinom. Přibližně 70% nově diagnostikovaných onemocnění jsou neinvazivní nádory Ta, T1 (non-muscle invasive bladder cancer; NMIBC), u nichž je nízká mortalita důvodem vysoké prevalence tohoto onemocnění. Ve 20% mají pacienti již svalovinu invadující onemocnění (muscle invasive bladder cancer; MIBC) a v 10% je diagnostikováno metastatické onemocnění (1,5). Výzvou do budoucna je eliminace rizikových faktorů, protikuřácká osvěta a časnější diagnóza u 30% pacientů s MIBC.

2.1 Vlastní příspěvek k problematice

V ČR je povinné hlášení o novotvarech zavedeno od roku 1976 a data jsou sbírána v Národním onkologickém registru (NOR). V současnosti se několik dostupných zdravotnických databází propojuje v rámci Ústavu zdravotnických informací a statistiky, aby informace byly snadněji použitelné a poskytovaly komplexnější obraz o onemocněních.

V naší práci „**Comparison of different treatment modalities outcomes in clinically node-positive bladder cancer: analysis of a population-based cancer registry**„ (příloha 10.1) (6) jsme se zaměřili na nemocné s postižením regionálních uzlin v čase diagnózy podle zobrazovacích metod (cN1-3M0), kteří spadají do stádia IIIA a IIIB podle 8. edice TNM klasifikace. Tato skupina nemocných byla historicky řazena mezi metastatické pacienty (klinické stádium IV) a většinou jim byla nabízená paliativní chemoterapie (7). Nedávné retrospektivní studie naznačují, že kombinace předoperační (indukční) chemoterapie s navazující konsolidační cystektomií a lymfadenektomií má lepší výsledky ve srovnání se samotnou chemoterapií (8). Jedním z cílů bylo zhodnotit jaká část nemocných je v posledních 20 letech v ČR léčena s kurativním záměrem i přes nález uzlinových metastáz.

Na základě údajů z NOR bylo za období 1996-2015 diagnostikováno 1410 případů nádorů měchýře cN1-3M0, z nichž pouze 676 (47,9%) bylo léčeno operací, radioterapií nebo chemoterapií. U zbytku pacientů nedošlo k léčbě pro existující kontraindikaci k chemoterapii, rychlou progresi nebo špatný celkový stav. V rané fázi sledovaného období byla operace obecně opomíjenou volbou u tohoto stádia onemocnění.

Radikální cystektomii s perioperační chemoterapií podstoupilo 232 pacientů (16,4%), ale v rámci této skupiny pouze 1,3% dostalo chemoterapii před operací, což je aktuálně doporučovaným postupem. Alternativou je adjuvantně podána chemoterapie. Cystektomie s perioperační chemoterapií byly více využívány až v poslední dekádě, ale i v posledních 5 letech pořád tvořily pouze 44% ze všech aktivně léčených případů. Do budoucna jsou nutné randomizované studie s předoperační chemoterapií a imunoterapií, které by přinesly silnější stupeň důkazu pro volbu léčebných modalit. Zároveň je zapotřebí zvýšit povědomí o této méně časté skupině nemocných, neomezit se v léčbě na paliativní přístup, ale přistupovat k nim s kurativním záměrem.

3 Etiologie nádorů močového měchýře

Nejdůležitějším rizikovým faktorem pro vznik karcinomu měchýře, zodpovědným za přibližně 50% případů, je kouření. Efekt je kumulativní, tedy riziko se zvyšuje s délkou a intenzitou kouření. Tabákový dým obsahuje aromatické aminy a polycyklické sloučeniny, které se vylučují močí a způsobují poškození DNA. Podle metaanalýzy je riziko vzniku nádoru u aktivního kuřáka vůči nekuřákovi zvýšené 3,5krát, u osoby která přestala kouřit je riziko již pouze 2násobné (3). Důležitým faktem je, že u aktivního kuřáka je zvýšená také nádorově-specifická mortalita o 50% oproti nekuřákovi (2).

Pracovní expozice přispívá ke vzniku nádoru u přibližně 6% nemocných. Riziková je práce v barvířském (riziko zvýšené 13krát), gumárenském, tabákovém, textilním nebo petrochemickém průmyslu. Dalšími rizikovými faktory jsou vystavení ionizujícímu záření, chronické dráždění měchýře způsobené např. litiázou, infekcí nebo dlouhodobě zavedeným močovým katetrem, léčba cyklofosfamidem a znečištění pitné vody arzémem (3).

Ženy jsou postiženy nádorem méně, ale mají vyšší mortalitu. Diagnóza bývá opožděná (hematurie bývá připisována cystitidě) a nádory se prezentují ve vyšším stádiu. Z genetických změn je prokázáno vyšší riziko v případě poruchy detoxifikačních mechanismů jako jsou N-acetyl transferáza (*NAT1*, *NAT2*) a

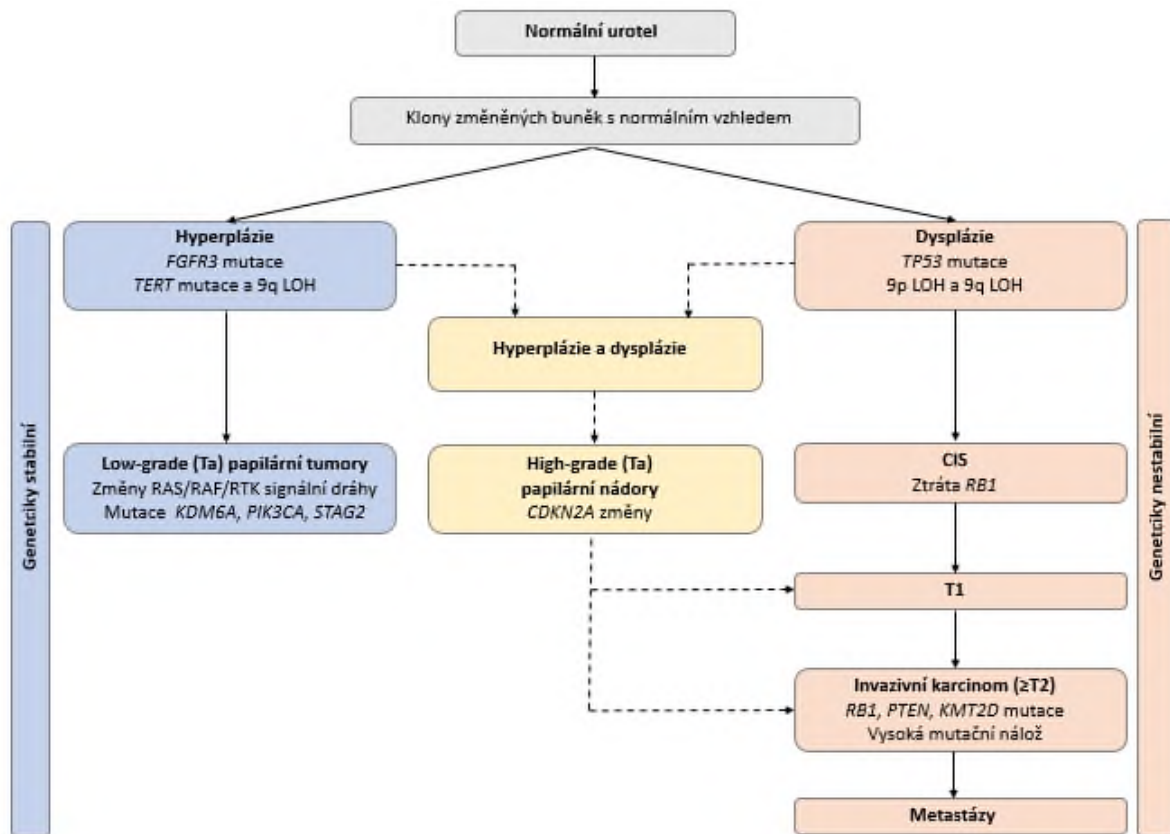
glutathion S-transferázy M1 (*GSTM*) (3). U velké části solidních nádorů sehrávají podstatnou roli germinální mutace DNA reparačních genů. Tato vazba byla doposud méně patrná u karcinomu měchýře, ale v nedávné době vícero studií potvrdilo zvýšené riziko nádorů měchýře u Lynchova syndromu (9). Kumulativní riziko vzniku do 70 let dosáhlo v jedné studii 7,5% u mužů a 1% u žen, což představovalo zvýšení relativního rizika 4,2krát u mužů a 2,2krát u žen (10). Nejvíce ohroženi byli nosiči *MSH2* mutace.

4 Patogeneze karcinomu měchýře

Nádory močového měchýře lze hrubě rozdělit na dvě jednotky, které se liší na molekulární úrovni a svým klinickým průběhem. První skupinu tvoří low-grade svalovinu neinvadující nádory, které málokdy progredují do vyšších stádií, ale typicky recidivují v měchýři u více než poloviny nemocných. Ve druhé skupině jsou svalovinu invadující nádory, které mají již schopnost metastázovat a vyžadují agresivní léčbu. Makroskopicky je můžeme odlišit také charakteristickým typem růstu: pro NMIBC je typický papilární typ růstu, u MIBC nádory obvykle progredují z plošných lézí typu carcinoma in situ (CIS) a poté vykazují solidní typ růstu. Rané studie s expresí genů prokázali, že u papilárního růstu je nejčastější přítomná aktivační mutace *FGFR3*, naopak u solidního růstu jsou běžné inaktivační mutace *RB1* a *TP53* (11).

4.1 Model patogeneze nádorů močového měchýře

Na základě histopatologických a molekulárních změn byl navržen model patogeneze nádorů měchýře (Obr.2). Low-grade papilární NMIBC nádory mohou vzniknout hyperplazií nebo mírnou dysplazií urotelu (11). Prvními změnami jsou ztráta heterozygoty chromozomu 9 a aktivační mutace nebo zvýšená exprese *FGFR3*. Delece chromozomu 9 se vyskytuje u více než poloviny nádorů měchýře. Postiženými mohou být tumor-supresorové geny jako inhibitor cyklin-dependentní kinázy 2A (*CDKN2A*) a 2B (*CDKN2B*) na 9p21, gen Patched-1 (*PTCH1*) na 9q22 nebo *TSC1* na 9q34. V dalším průběhu se přidávají další mutace, např. *PIK3CA* nebo *STAG2*. Tyto nádory jsou geneticky relativně stabilní a pouze zřídka progredují. Podtyp MIBC s mutací *FGFR3* a *CDKN2A* může představovat zřídka cestu progresse původně low-grade léze do invazivního karcinomu (12). Prekurzorem MIBC nádorů je dysplazie, ze které se může vyvinout carcinoma in situ (CIS). Tyto změny jsou molekulárně charakterizovány delecí chromozomu 9 a na rozdíl od low-grade lézí také mutacemi a poruchou exprese regulátorů buněčného cyklu *TP53* a *RB1*. Vyznačují se genetickou nestabilitou a akumulací dalších mutací, které vedou k progresi onemocnění.



Obr.2 Model patogeneze karcinomu měchýře. Čárkovaně jsou vyznačeny hypotetické mezikroky. Upraveno podle Audenet et al (12). LOH = ztráta heterozygoty.

4.2 Molekulární klasifikace

V nedávné době provedené sekvenační genomové studie identifikovaly hlavní geny a molekulární cesty, které jsou zodpovědné za vývoj karcinomu měchýře. Nejčastěji změněnými oblastmi a signálními dráhami byly regulace buněčného cyklu (*TP53*, *MDM2*, *RB1*), tyrozinkinázové receptory (*FGFR3*, *RAS*, *PIK3CA*, *ERBB2*), chromatin-modifikující geny (*KDM6A*, *KMT2A*, *ARID1A*) a DNA-reparační geny (*ATM*, *ERCC2*, *RAD51B*) (13). Ve srovnání s ostatními solidními nádory je u karcinomu měchýře přítomná vysoká mutační nálož, která odráží vysokou nestabilitu genomu s častým výskytem chromozomálních změn, poškození DNA-reparačních genů a alteraci buněčného cyklu. Původní patogenetický model dvou evolučních cest nádorů měchýře se těmito studiemi komplikuje a poukazuje na jejich velikou heterogenitu.

V posledních pěti letech několik výzkumných týmů klasifikovalo na základě genomových studií MIBC nádory do skupin podle charakteristické exprese genů (13-17). Jednotlivé klasifikace vykazovaly průnik v rozlišení dvou hlavních skupin, které byly nazvány luminální a bazální, podobně jako je tomu u nádorů prsu. Jednou z nejdůležitějších prací byla analýza 412 vzorků MIBC konsorciem TCGA (The Cancer Genome Atlas), která popsala 5 podtypů nádorů na základě zhodnocení somatických změn DNA, mRNA exprese, miRNA (mikroRNA), lncRNA (long noncoding RNA; dlouhé nekódující RNA) a epigenetických změn (18). V roce 2019 byl publikován návrh konsenzuální molekulární klasifikace MIBC nádorů

měchýře, který měl překonat jednotlivé rozdíly a usnadnit přijetí klasifikace do klinické praxe. Na základě 1750 transkriptomů MIBC autoři charakterizovali 6 podtypů: luminální papilární (luminal papillary - LumP; 24%), luminální nespécifický (luminal nonspecified - LumNS; 8%), luminální nestabilní (luminal unstable - LumU; 15%), bohatý na stromu (stroma-rich; 15%), bazální/skvamózní (basal/squamous – Ba/Sq; 35%) a neuroendokrinní (neuroendocrine-like – NE-like; 3%) (19). Tyto podtypy se liší mechanismem vzniku, expresí genů, infiltrací imunitních nebo stromálních buněk a klinickými charakteristikami.

Tři luminální podtypy měli vysokou expresi genů zodpovědných za diferenciaci urotelu (*FOXA1*, *PPARG*, *GATA3*), ale lišily se další molekulární charakterizací. U LumP nádorů byla zaznamenána mutace *FGFR3* až v 40%, ztráta funkce *CDKN2A*, dále byly časté mutace *KDM6A* (38%). Převažovali papilární, cT2N0 nádory s dobrou prognózou. LumNS nádory byly definovány mutacemi *ELF3* a *PPARG* (76%), přítomná byla vyšší buněčná infiltrace stromy, zejména fibroblasty a výrazně častěji byly zastoupeny mikropapilární tumory. U LumU se jednalo o skupinu nádorů s největší genetickou nestabilitou, mutační náloží a špatnou prognózou. Ve vysoké míře byly zaznamenány změny buněčného cyklu, mutace *TP53* se vyskytly v 76%. Stroma-rich nádory vykazovaly infiltraci stromálními a imunitními buňkami, z nichž převažovaly T- a B- lymfocyty. Ba/Sq a NE-like nádory vykazovali expresi genů spojených se skvamózní a neuroendokrinní diferenciací, častými změnami byly mutace *TP53* a *RB1*. Oba typy nádorů mají špatnou prognózu. U Ba/Sq tumorů byla často přítomná buněčná infiltrace, vyšší exprese *EGFR* a jeho ligandů, s častějším zastoupením žen (19).

První práce ukazují, že odpověď na neoadjuvantní chemoterapii může být lepší u Ba/Sq a LumNS nádorů (19,20). Studie IMvigor210 s atezolizumabem ukázala větší efekt PD-L1 (programmed cell death ligand 1) inhibitoru u LumU, LumNS a NE-like tumorů (21). Cílená léčba s FGFR inhibitorem bude mít pravděpodobně největší efekt u podtypu LumP (22).

Podobně u NMIBC umožnily studie posuzující genovou expresi rozdělit tyto nádory na 2-3 podtypy. Skupiny z Lundu, Leedsu a skupina UROMOL používají vlastní terminologii, jejich klasifikace se částečně překrývají a v současnosti lze hlavní rozdělení shrnout na dvě klinické skupiny: s nízkým a vysokým rizikem, které se liší podle exprese genů zodpovědných za progresi nebo asociovaných s CIS (23-25). U NMIBC budou potřebné další studie ke sjednocení terminologie, k optimalizaci klasifikace, např. také ve vztahu k odpovědi na imunoterapii, jelikož BCG a PD-1/PD-L1 inhibitory budou důležitou součástí léčby těchto nádorů.

Za poslední dekádu významně pokročilo porozumění molekulárním dějům v pozadí vzniku a vývoje nádorů měchýře, což nám umožnilo lépe stratifikovat nemocné, identifikovat nové léčebné cíle a do budoucna získat prognostické a prediktivní biomarkery pro klinickou praxi.

4.3. Vlastní příspěvek k problematice

Nekódující RNA, kam se zařazují mikroRNA nebo lncRNA, ovlivňují transkripci a expresi genů zodpovědných za vznik a progresi nádorů měchýře a mají velký potenciál jako biomarkery nebo léčebné

cíle. Funkčně můžou mít roli jak onkogenní, tak tumor-supresivní (26). Expresní profily miRNA i lncRNA dokázaly v projektu TCGA oddělit molekulární podtypy, které korelovaly s podtypy na bázi mRNA a umožňovaly jemnější rozlišení uvnitř těchto skupin (18). Zajímavou předností nekódujících RNA je jejich stabilita v moči, v séru a zejména použitelnost formalinových vzorků tkání pro analýzu.

Díky spolupráci s pracovištěm molekulární onkologie solidních nádorů prof. Slabého (výzkumné centrum CEITEC v Brně) se podílíme na výzkumu v této oblasti od roku 2014. Spolupráce vedla k přehledové práci „**Urine microRNAs as potential noninvasive biomarkers in urologic cancers**“ (příloha 10.2) (27), ve které jsme popsali postavení miRNA v karcinogenezi a jejich potenciál v roli biomarkerů. MiRNA jsou nekódující úseky RNA dlouhé 18-25 nukleotidů, které na úrovni mRNA regulují genovou expresi. Více studií prokázalo jejich vliv na buněčnou proliferaci, diferenciaci a apoptózu. Například miRNA-200 ovlivňuje epitel-mesenchymální transici regulací ZEB1 a ZEB2, které za normálních podmínek potlačují expresi epitelálních markerů (28). Jedním z mechanismů zvýšené exprese *FGFR3* u nádorů měchýře je jeho regulace cestou miR-99a/100 (29).

V další práci „**Overexpression of long non-coding RNA TUG1 predicts poor prognosis and promotes cancer cell proliferation and migration in high-grade muscle-invasive bladder cancer**“ (příloha 10.3) (30) jsme hodnotili funkci lncRNA *TUG1* (taurine-upregulated gene 1) u invazivních nádorů močového měchýře. LncRNA jsou větší nekódující RNA dlouhé 200 nukleotidů až přibližně 100 kilobází. Více s nádorem-asociovaných lncRNA je zvýšeně exprimováno u MIBC (*MALAT1*, *UCA1*, *DANCR*). *TUG1* byl poprvé popsán ve studii, která zkoumala jeho vliv na normální vývoj fotoreceptorů v retině. Nedávné studie prokázaly efekt *TUG1* při vzniku a progresi mnoha solidních nádorů.

V samotné práci jsme hodnotili expresi *TUG1* v 47 párových vzorcích nádorové a nenádorové tkáně u MIBC z tkáňové banky MOÚ. Prokázali jsme, že exprese *TUG1* byla sedmkrát vyšší v nádorové tkáni než v přilehlé nenádorové oblasti ($p < 0,0001$). Hladiny *TUG1* byly vyšší u metastatických nádorů ($p = 0,014$) a korelovaly s kratším celkovým přežitím ($p = 0,024$). Dále jsme na buněčné linii T-24 funkčně *TUG1* charakterizovali pomocí interferujících molekul siRNA (small interfering RNA). Cílený útlum exprese *TUG1* pomocí siRNA vedl k 34% poklesu proliferace nádorových buněk a 23% poklesu jejich migrační kapacity. Výsledky naznačují onkogenní roli *TUG1* u MIBC a potenciál jeho využití jako prognostického biomarkeru.

5 Diagnostické metody u nádorů močového měchýře

Pokrok v diagnostice nádorů měchýře se v posledních letech ubíral hlavně třemi směry. K lepší vizualizaci tumoru při endoskopickém vyšetření, ke zlepšení zobrazovacích metod při posouzení lokálního rozsahu nádoru a k výzkumu neinvazivních biomarkerů, které by umožnili časnou diagnózu a mohli by částečně nahradit kontrolní cystoskopie v rámci sledování po léčbě.

5.1 Symptomy

Nejčastějším příznakem poukazujícím na nádorové onemocnění močového měchýře je makroskopická hematurie, která musí být důvodem kompletního vyšetření močových cest. U carcinoma in situ (CIS) se můžou vyskytnout mikční potíže charakteru dysurií a urgencí. Lumbalgie můžou být projevem hydronefrózy při obstrukci ureterálního ústí nádorem. S nespecifickými systémovými projevy, jako jsou hubnutí, nechutenství nebo febrilie se setkáváme až při metastatickém onemocnění.

5.2 Zobrazovací metody

Při hematurii nebo podezření na nádor měchýře můžeme provést ihned dobře dostupné ultrazvukové vyšetření, které rychle vyloučí větší intraluminální postižení měchýře nebo hydronefrózu. Vzhledem k nízké senzitivitě ale nemůže při detekci nádoru močových cest a posouzení příčin hematurie nahradit CT-urografii a cystoskopii. Standardním vyšetřením je CT-urografie, kterým posoudíme stav horních močových cest a v případě nádoru měchýře zhodnotíme také stupeň infiltrace stěny měchýře, perivesikálních struktur a případnou lymfadenopatii (31). Otázkou zůstává, jestli v případě již známé diagnózy drobného Ta low-grade nádoru měchýře, potřebuje každý pacient CT vyšetření. S vysokou pravděpodobností v takovém případě CT nepřinese novou informaci, jelikož riziko lymfadenopatie nebo synchronního postižení horních močových cest je velmi nízké.

Slibným přístupem k lokálnímu stagingu je využití multiparametrického vyšetření magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging, MRI). Podobně jako u karcinomu prostaty byla nedávno publikována standardizovaná terminologie VIRADS a další studie ukáží, jestli a v jakých indikacích má MRI přínos (32). Podle metaanalýzy dokáže 3 Tesla MRI kombinací T2 a DWI (diffusion-weighted imaging; DWI) zobrazení velice přesně odlišit $\leq T1$ nádory od $\geq T2$ (senzitivita 92%, specificita 96%) (33).

V případě potvrzení MIBC je standardním vyšetřením k vyloučení metastáz CT hrudníku, břicha a pánve. V diagnostice metastatického onemocnění nebo při posouzení odpovědi na léčbu může mít roli 18-FDG-PET/CT, nicméně v současnosti není dostatek dat pro jeho běžné využití (34,35).

5.3 Endoskopie

Pro diagnózu nádoru močového měchýře je zásadní cystoskopické vyšetření v bílém světle (dále cystoskopie), které poskytuje informaci o postižení dolních močových cest, o velikosti a počtu tumorů, o jejich lokalizaci a charakteru růstu (5). Histologickou diagnózu můžeme potvrdit biopsií při ambulantní cystoskopii nebo častěji v celkové anestezii při transuretrální resekci tumoru (transurethral resection of bladder; TURB).

Mezi nové metody endoskopického zobrazení patří fotodynamická diagnostika fluorescenční cystoskopií (FC) a vyšetření v úzkopásmovém zobrazení (narrow-band imaging; NBI). Obě metody zvyšují záchyt nádorů měchýře oproti běžné cystoskopii na úkor nižší specificity (36,37). V metaanalýze studií s FC byla dosažena vyšší senzitivita 92% versus 71% u běžné cystoskopie (38). Obě metody snižují

díky lepší vizualizaci nádorů jejich rekurenci, zatím ale není prokázáný efekt na progresi onemocnění a mortalitu (5,37). Při FC je nutné před operací do měchýře instilovat fotosenzibilizační látku hexylester kyseliny aminolevulové, která je zvýšeně absorbována maligními buňkami. Při vyšetření v modrém světle se místa s absorbovanou látkou vizualizují červenou fluorescencí. Vyšetření NBI využívá zúžení světelného spektra na vlnové délky 415 a 540nm, které jsou dobře absorbovány hemoglobinem, a proto dochází ke zvýraznění cévní kresby sliznice, což při patologické vaskularizaci nádorů vede k jejich lepší identifikaci.

5.4 TNM klasifikace

Základem pro určení stádia onemocnění je histopatologické zhodnocení preparátu z TURB a výsledek zobrazovacího vyšetření (nejčastěji CT). Tato klasifikace určuje další léčebný postup a má velkou prognostickou hodnotu. Přehled 8. vydání TNM klasifikace z roku 2017 je uveden v tabulce č.1 a 2 (39).

TNM 8.vydání (2017)	
T	Primární nádor
Tx	Primární nádor nelze hodnotit
T0	Bez známek primárního nádoru
Ta	Neinvazivní papilární karcinom
Tis	Uroteliální karcinom in situ
T1	Nádor invaduje lamina propria
T2a	Nádor invaduje vnitřní polovinu muscularis propria
T2b	Nádor invaduje zevní polovinu muscularis propria
T3a	Nádor prorůstá do perivesikálních tkání mikroskopicky
T3b	Nádor prorůstá do perivesikálních tkání makroskopicky
T4a	Nádor prorůstá do stromatu prostaty, semenných váčků, dělohy, pochvy
T4b	Nádor invaduje pánevní nebo břišní stěnu
N	Regionální mízní uzliny
Nx	Uzlinové metastázy nelze hodnotit
N0	Bez známek uzlinových metastáz
N1	Solitární regionální uzlinová metastáza (perivesikální, obturatorní, zevní a vnitřní ilická, presakrální)
N2	Mnohočetné regionální uzlinové metastázy (perivesikální, obturatorní, zevní a vnitřní ilické, presakrální)
N3	Metastáza v společných ilických uzlinách

M	Vzdálené metastázy
M0	Bez vzdálených metastáz
M1a	Metastázy v supraregionálních uzlinách
M1b	Orgánové metastázy

Tab.1 TNM klasifikace karcinomu měchýře, 8. vydání z roku 2017 (39).

TNM 8.vydání (2017)	
Stádium 0a	Ta N0 M0
Stádium 0is	Tis N0 M0
Stádium I	T1 N0 M0
Stádium II	T2 N0 M0
Stádium IIIA	T3-4a N0 M0
	T1-4a N1 M0
IIIB	T1-4a N2-3 M0
Stádium IVA	T4b nebo M1a
IVB	M1b

Tab.2 Stádia karcinomu měchýře dle TNM, 8. vydání z roku 2017 (39).

5.5 Cytologie moči

Cytologické vyšetření moči je standardní součástí diagnostického postupu a slouží k záchytu high-grade karcinomu měchýře. Nedávno byla publikována nová klasifikace, která standardizovala její terminologii (40). Cytologie moči má vysokou senzitivitu při detekci high-grade karcinomu (84%) a CIS, ale nízkou u low-grade nádorů (41). Falešně pozitivní nálezy jsou zřídka v 5-10%.

5.6 Nové biomarkery

Vzhledem k nízké senzitivě cytologie moči u low-grade nádorů bylo vyvinuto celé spektrum molekulárních diagnostických testů, ale žádný z nich se v běžné klinické praxi neprosadil a v současnosti nelze při diagnostice karcinomu měchýře nahradit cystoskopií žádným biomarkerem. Z molekulárních testů vyvinutých v posledních 20 letech jenom několik bylo schválených pro klinické použití (např. BTA test, NMP-22, UroVysion FISH) a jejich senzitivita a specifita se pohybuje v rozpětí 57-82%, resp. 74-88% (42). Mají tedy vyšší senzitivitu než cytologie na úkor vyššího podílu falešně pozitivních výsledků. Požadavky na jejich analytické vlastnosti (senzitivita, specifita, negativní prediktivní hodnota) jsou určovány klinickou situací (záchyt karcinomu, sledování po léčbě atd.) (43). V diagnostice mohou být doplňkem cystoskopie k omezení výskytu falešně negativních vyšetření. V této indikaci je důležitá vysoká senzitivita pro high-grade nádory.

S rozvojem genomových vyšetření se objevilo celé spektrum potenciálních biomarkerů. Velice atraktivní cestou je neinvazivní vyšetření moči se zaměřením na různé produkty jako jsou volné buňky (cytologie, UroVysion FISH), nádorová DNA (circulating tumor DNA; ctDNA), mRNA (CxBladder), miRNA, exozomy, proteiny (NMP-22, BTA) nebo epigenetické změny (UroMark) (43,44). Některé testy jsou postaveny na detekci mutace genů, jež se vyskytují s vysokou frekvencí u nádorů měchýře, např. *FGFR3* nebo *TERT* (45,46). Takový test může mít využití zejména v rámci sledování nemocných po léčbě NMIBC, kteří mají prokázanou danou mutaci. U pacientů s mutací *FGFR3* mělo sledování této mutace v moči v průběhu onemocnění senzitivitu 73% a negativní prediktivní hodnotu (NPV) 94% (46).

V posledních letech byly publikovány velice slibné výsledky u několika testů, u nichž zatím ale chybí rozsáhlejší externí validace a zejména posouzení dopadu na klinickou praxi v prospektivních studiích. Jedním z těchto testů je CxBladder, který vyšetřuje expresi 5 mRNA v nefrakcionované moči (*IGF*, *HOXA*, *MDK*, *CDC*, *IL8R*). Existuje ve 3 variantech pro různé klinické situace. CxBladder *Detect* slouží k určení pacientů s vysokým rizikem nádoru měchýře, má vysokou senzitivitu 82%, která je vyšší než 90% u high-grade nádorů a vysokou negativní prediktivní hodnotu 97% (47,48). Ribal et al publikovali výsledky diagnostického testu, který posuzuje expresi dvou genů *IGF-2* a *MAGE-A3*. Ve validační fázi dosáhli vysoké přesnosti testu s AUC (area under curve) 0,92, senzitivitou 81% a specifíciou 91% (49). Vynikající výsledky byly publikovány u testu UroMark, jež hodnotí DNA metylaci 150 CpG lokusů. Ve validační fázi popsali autoři senzitivitu 98% a NPV 97% (50). Tento test je nyní hodnocen ve dvou prospektivních observačních studiích (51). Další z metylačních testů AssureMDX je určen k detekci nádorů měchýře při nálezů hematurie. Hodnotí metylaci 3 genů a mutace *FGFR*, *TERT* a *HRAS* (52). Ve validační fázi dosáhl tento test senzitivity 93% a NPV 99% (AUC 0,96), což by vedlo k redukci diagnostických cystoskopií až o 77%.

5.7 Vlastní příspěvek k problematice

Jedním z hlavních výzkumných cílů u NMIBC je vývoj biomarkeru, který by umožnil neinvazivní cestou spolehlivou diagnózu a detekci recidivy. Z tohoto pohledu je optimálním materiálem k vyšetření moč pacientů. V již uvedené přehledové práci „**Urine microRNAs as a potential non-invasive diagnostic biomarkers in urologic cancers**„(příloha 10.2) (27) jsme popsali potenciální využití miRNA jako diagnostických a prognostických biomarkerů. Následně jsme formou grantového projektu provedli analýzu expresních profilů miRNA v moči pacientů s nádory měchýře a výsledky jsme publikovali v práci „**Genome-wide identification of urinary cell-free microRNAs for non-invasive detection of bladder cancer**“ (příloha 10.4) (53). Ve studii jsme vyšetřili supernatant ze vzorků moči u 205 nemocných s karcinomem měchýře a 99 zdravých kontrol pomocí mikroRNA čipů (celkem detekce 2578 miRNA). Prokázali jsme odlišnou expresi u 76 miRNA, z nichž jsme vybrali pro další hodnocení trojici miR-31-5p, miR-93-5p a miR-191-5p, které byly signifikantně zvýšené v moči pacientů s nádorem měchýře. Metodou logistické regrese jsme stanovili diagnostický panel dvou miRNA – DxScore (miR-93-5p a miR-31-5p), který umožnil detekci karcinomu měchýře s poměrně dobrou přesností, senzitivita dosáhla 82% (tréninková fáze AUC 0,84; validační fáze AUC 0,81). Hodnoty DxScore se signifikantně lišily mezi low-

grade a high-grade nádory ($p=0,006$) a mezi NMIBC a MIBC ($p=0,005$). Dále jsme prokázali snížení hladin těchto miRNA po endoskopickém odstranění nádoru.

Deregulace miR-93-5p a miR-191-5p byly popsány i v práci TCGA konsorcia, která prokázala možnost molekulární klasifikace nádorů měchýře na základě čtyř miRNA klastrů (18). Předchozí studie, které hodnotily miRNA v moči pacientů s nádory měchýře byly často zatíženy chybami, jako např. malou velikostí souboru, špatně definovanou preanalytickou fází nebo chybějící validační fází. Srovnatelnou práci publikovali Menguel *et al.*, ve které hodnotili expresi miRNA v moči 181 pacientů s nádory měchýře a u 136 kontrol. Vytvořili diagnostický panel 6 miRNA, který v trénigové fázi dosáhl výborných výsledků (AUC 0,92) (54). Na rozdíl od naší práce vyšetřovali buněčnou složku moči a neprovedli validaci na nezávislých vzorcích. Výsledky těchto prací podtrhují problémy s reprodukovatelností a validací výsledků, které často mohou být způsobeny odlišnými preanalytickými postupy. Po vyřešení těchto problémů mohou mít miRNA roli při časně detekci recidivy NMIBC, buď samostatně nebo v kombinaci s jinými biomarkery.

6 Léčba nádorů močového měchýře

6.1 Neinvazivní nádory močového měchýře

NMIBC tvoří heterogenní skupinu z hlediska jejich biologické povahy. Low-grade nádory jsou typické častou rekurencí, což ale většinou nemá vliv na nádorově-specifické přežití (cancer-specific survival; CSS), a proto se jedná o onemocnění s vysokou prevalencí. Na druhém konci spektra jsou nádory T1 high-grade, u kterých se hledají nové způsoby, jak spolehlivě předpovědět jejich chování a určit, kteří nemocní jsou ohroženi progresí a potřebují radikální léčbu. Výzkum je zaměřen také na nové léčebné postupy, které by byly využitelné zejména v případě selhání intravesikální léčby.

6.1.1 Transuretrální resekce nádorů měchýře

Základem léčby je správně provedena transuretrální resekce tumoru, která poskytuje histologickou diagnózu, umožňuje stratifikovat nemocné podle rizika a její kvalita ovlivňuje další průběh onemocnění (5,55). TURB by měl být proveden systematicky a mělo by být dosaženo makroskopicky kompletní resekce v několika krocích. Obvykle se začíná resekci exofytické části, poté báze tumoru až do detrusoru měchýře a na závěr posouzení okrajů resekce (5). Všechny místa sliznice měchýře s abnormálním vzhledem by měla být bioptována, protože změny při carcinoma in situ nemají specifický charakter. V případě pozitivní cytologie nebo u pacientů s nádory, které neměli papilární vzhled v minulosti, se doporučuje odebrat biopsie z předdefinovaných míst i u normálního urotelu (5).

Zvláštností endoskopické léčby NMIBC je, že klasicky provedený TURB jde proti základním principům onkochirurgie. Tumor je při operaci uříznutý po částech, přičemž dochází k uvolnění nádorových buněk do moči s rizikem vzniku implantačních metastáz. Na tuto skutečnost reagoval vývoj operační techniky „en bloc“ TURB, který se provádí pomocí monopolární/bipolární kauterizace, laseru nebo hydrodisekce (56). Tumor je odstraněn vcelku, což by mohlo snížit riziko recidivy a navíc „en bloc“ resekce zásadně

zlepšuje možnosti posouzení invaze svaloviny patologem díky lepší kvalitě odstraněného preparátu. V současnosti probíhají studie, které posoudí přínos „en bloc“ resekce oproti klasickému postupu (57).

Nové metody vizualizace nádorů byly rozebrány v kapitole 5.3. Fotodynamická diagnostika pomocí fluorescenční cystoskopie i vyšetření v úzkopásmovém zobrazení zvyšují detekci nádorů, snižují riziko recidivy, ale zatím nebyl prokázán vliv na progresi onemocnění a na přežití (5,37). Optická koherentní tomografie (OCT) se zkoumá jako doplněk cystoskopie. Využívá infračerveného záření k vytvoření příčných řezů stěnou měchýře do hloubky 2-3 mm a očekává se od ní, že by mohla zpřesnit posouzení invaze u nádorů T1 (58). Ve studii Schmidbauera *et al.* dokázala OCT odlišit benigní léze a zvýšila specifitu fluorescenční cystoskopie na 98% (59). Dalším zkoumaným doplňkem cystoskopie je konfokální laserová mikroskopie, která poskytuje v reálném čase mikroskopický obraz stěny měchýře a záměrem je umožnit peroperační rozlišení benigní tkáně od low-grade a high-grade lézí (60,61).

Jedním ze základních ukazatelů kvality TURB je přítomnost tkáně detrusoru v odstraněném materiálu, jež je předpokladem správného stagingu. Aby se předešlo vlivu nerovnoměrné kvality primárního TURB na prognózu pacienta, prosadil se v posledních dvou dekadách princip re-resekce po 2-6 týdnech u pacientů s vyšším rizikem podhodnocení stagingu (62,63). Studie hodnotící re-TURB prokázaly přítomnost detrusoru ve 30-100% případů, přičemž úspěšnost zachytu byla spojena se zkušeností operátora. Reziduální nádor byl detekován u 55% (17-67%) pacientů s původně Ta nádorem při primárním TURB a u 51% (20-71%) s T1. Progrese do MIBC byla zastižena u 8% (0-32%) případů s T1 nádory (64). Co se týká vlivu re-resekce na rekurenci nebo přežití, jsou dostupná data nejednoznačná a k definitivnímu zhodnocení bude nutná randomizovaná studie (64-66). V retrospektivní studii hodnotící 2541 pacientů s T1 high-grade léčených BCG vakcínou byl prokázán pozitivní vliv re-TURB na rekurenci, progresi, CSS a celkové přežití (overall survival; OS) pouze v případě nepřítomnosti detrusoru v preparátu primárního TURB (62). V současnosti je re-resekce doporučována v případech, kdy preparát neobsahuje detrusor (s výjimkou Ta low-grade nádorů nebo izolovaného CIS) a u všech T1 tumorů (5).

6.1.2 Stratifikace pacientů do rizikových skupin

Po TURB můžeme na základě klinických a histopatologických kritérií zařadit pacienty do rizikových skupin, které se liší pravděpodobností rekurence a progresi a také určují další léčebný postup. Běžně používané EORTC tabulky jsou založeny na datech 2596 pacientů Ta-T1, do hodnocení nebyli zařazeni nemocní s izolovaným CIS nebo léčení BCG vakcínou (67). V multivariátní analýze byly nejsilnějšími prediktory rekurence multifokalita (HR 1,56), velikost tumoru (HR 1,54) a předchozí frekvence recidiv (HR 1,35). Naopak, při hodnocení rizika progresi byly prediktory CIS (HR 3,41), grade 3 (HR 2,67) a T1 kategorie (HR 2,19). U pacientů léčených BCG lze využít španělských CUETO tabulek nebo aktualizovaných EORTC tabulek, které určují riziko rekurence a progresi u této specifické skupiny. Silnými prediktory recidivy jsou předchozí výskyt recidiv a četnost nádorů (68,69). Jednodušší alternativou k EORTC tabulkám je rozdělení do rizikových skupin podle Evropské urologické společnosti

(Tab.3) (5,70). V blízké budoucnosti se očekává zařazení molekulárních faktorů do stratifikace nemocných, což by mělo tyto systémy zpřesnit.

Rozdělení do rizikových skupin	Charakteristika
Nízké riziko	Primární, solitární Ta G1 (PUNLMP, low-grade), <3 cm, bez CIS
Střední riziko	Všechny tumory mezi nízkým a vysokým rizikem
Vysoké riziko	Cokoliv z: T1 / high-grade / CIS nebo Multifokální, recidivující, >3 cm Ta low-grade
Nejvyšší riziko	T1 high-grade + CIS Multifokální / veliký >3 cm T1 high-grade nebo Recidivující T1 high-grade + CIS prostatické uretry Variantní histologie Lymfovaskulární invaze

Tab.3 Stratifikace do rizikových skupin (volně podle doporučení Evropské urologické asociace) (5). PUNLMP – papilární uroteliální neoplázie s nízkým maligním potenciálem, CIS – carcinoma in situ.

Přibližně 20% nádorů T1 progreduje do stádia T2 (71). Hloubka invaze do podslizniční tkáně odpovídá riziku progresu a její rozsah hodnotí dvě metody patologické stratifikace. První z nich posuzuje invazi do lamina muscularis mucosae (T1a/b), druhá sleduje, jestli je hloubka invaze >0,5 mm (mikroinvazivní / extenzivní invaze). Ze srovnání těchto dvou přístupů na kohortě 601 nemocných s primárními T1 nádory vyšel podstatně lépe metrický systém, který dokázal lépe odlišit pacienty ohrožené progresí a v multivariátní analýze byl nezávislým prediktorem progresu (72).

6.1.3 Adjuvantní intravesikální léčba

Přes 30 let jsou výplachy močového měchýře BCG vakcínou nebo chemoterapií (Epirubicin, Mitomycin) součástí adjuvantní léčby u nemocných s NMIBC. Pooperační instilace chemoterapeutika snižuje podle metaanalýzy riziko rekurence v absolutních číslech o 14% (z 59% na 45%) ve srovnání se samotným TURB (73). Předpokládaným mechanismem účinku je zničení cirkulujících nádorových buněk a chemoablace reziduálního přehlédnutého nádoru po TURB. Jedna pooperační instilace je dostatečná pouze u nemocných s nejnižším rizikem rekurence stanoveném podle EORTC tabulek, u ostatních je nutné pokračovat v udržovacím režimu. Při pokračování v chemoterapii snížíme riziko rekurence o 38% oproti samotnému TURB (74).

Více metaanalýz potvrdilo, že BCG je účinnější v prevenci recidiv než samotný TURB nebo jeho kombinace s mitomycinem (MMC) (75,76). V metaanalýze individuálních dat 2820 pacientů snižovala BCG v udržovacím režimu riziko rekurence o 32% ve srovnání s MMC (75). Co je důležitější, BCG snižuje oproti MMC také riziko progresu o 27% (9,8% versus 13,8%) (77). Na druhé straně, BCG je mnohem toxičtější a v současnosti pouze omezeně dostupná. Pořád se ale jedná o léčbu volby u pacientů s vysokým rizikem progresu a u CIS.

I když je instilační léčba měchýře poměrně úspěšná, problémem zůstávají rekurence a progresu, ke kterým přesto dochází. Vývoj směřuje dvěma hlavními směry. Prvním je zlepšení efektu v současnosti používaných léčiv zvýšením průniku do nádoru a stěny měchýře. Patří sem chemohypertermie (ChHT), která kombinuje instilace MMC s hypertermií vyvolanou radiofrekvenční energií nebo EMDA (electromotive drug administration), jejíž princip je založen na usnadnění průniku léčiva pomocí elektrického proudu iontoforézou a elektroosmózou (78). ChHT se v klinické praxi používá již více než 15 let. V roce 2016 byla publikována první randomizovaná studie srovnávající hypertermii s Mitomycinem vůči BCG vakcině u NMIBC se středním a vysokým rizikem. Dvoutleté přežití bez recidivy dosáhlo 78,1% versus 64,8% ve prospěch ChHT, studie však neměla dostatečnou statistickou sílu ($p=0,08$) (79). Jedná se tedy o efektivní a bezpečnou léčbu, kterou lze navíc dosáhnout kompletní remise u téměř poloviny nemocných s BCG refrakterním onemocněním (80). Dalšími zkoumanými postupy jsou nové nosiče chemoterapeutik, mukoadhezivní látky, genetické modifikace BCG vakcin nebo intravesikální systémy s pomalým uvolňováním léčiva (78).

Druhou cestou výzkumu je vývoj léčiv s novými mechanismy působení. Velice slibná je imunoterapie s použitím checkpoint inhibitorů. V současnosti probíhá celá řada studií s PD1/PD-L1 inhibitory podávanými intravenózně, a dokonce i intravesikálně, samotné nebo v kombinaci s BCG (81). V nedávné studii fáze 2 s intravenózním podáním PD1 inhibitoru pembrolizumabu u 103 nemocných s BCG-refrakterním CIS byla dosažena kompletní odpověď u 39%, z nichž 80% mělo délku odpovědi delší než 6 měsíců (82). Dalšími slibnými strategiemi je cílená léčba FGFR inhibitory, léčba konjugáty protilátky a léčiva, nové cytotoxické látky (gemcitabin, taxany) nebo genová léčba pomocí adenovirového vektoru (Instiladrin®) (83,84).

6.1.4 Biomarkery využitelné při detekci recidivy

Pacienti s NMIBC jsou v dalším průběhu onemocnění ohroženi rizikem rekurence a progresu, a proto musí být dlouhodobě sledováni pomocí cystoskopie a cytologie moči. Atraktivním přístupem je nahrazení invazivní cystoskopie neinvazivním vyšetřením moči, které předpokládá uvolňování nádorových buněk a jejich součástí do moči. Požadované analytické vlastnosti biomarkerů se liší podle grade onemocnění a klinické situace. Pokud je cílem alespoň snížit frekvenci cystoskopií, tak u high-grade nádorů je vyžadována vyšší senzitivita a negativní prediktivní hodnota než u low-grade nádorů, jelikož přehlédnutí recidivy by u high-grade tumoru mohlo vést k progresi onemocnění (43,85). Naopak u nádorů zařazených do nízkého rizika se téměř vždy jedná o low-grade recidivy, kde časná detekce není pro úspěšnou léčbu nevyhnutelná.

Stručný přehled nových molekulárních testů a jejich využití v primární diagnostice byl uveden v kapitole 5.6. Tyto testy se většinou skládají z panelu biomarkerů a dosahují velice slibných analytických vlastností, chybí u nich ale rozsáhlejší externí validace (Tab.4).

Test	Všechny NMIBC			High-grade NMIBC		
	Senzitivita	NPV	AUC	Senzitivita	NPV	AUC
Xpert BC Monitor ⁸⁷	74%	93%	79%	83%	98%	77%
Cxbladder Monitor ⁸⁶	93%	97%	73%	95%		
Bladder EpiCheck ⁸⁸	68%	95%	82%	92%	99%	94%

Tab.4 Přehled analytických vlastností nových testů sloužících k monitoraci karcinomu měchýře.

CxBladder Monitor detekuje recidivy vyšetřením 5 mRNA v moči. Při interní validaci dosáhla senzitivita 93%, NPV 97% a AUC 0,73. Vysokou senzitivitu 86% popsali autoři i pro low-grade léze (86). Xpert BC Monitor je také vyšetření založené na detekci 5 mRNA. V nedávné multicentrické prospektivní studii zahrnující 239 nemocných s NMIBC, kteří byli sledováni pomocí Xpert testu, cytologie a UroVysion, byla nejvyšší senzitivita a NPV prokázána u testu Xpert (senzitivita 74%, NPV 93%) (87). Bladder EpiCheck test je panelem 15 metylačních biomarkerů. V prospektivní multicentrické studii u 353 pacientů sledovaných s NMIBC byla dosažena senzitivita 68%, specifická 88% a NPV 95%. Pokud by se vyloučily recidivy Ta low-grade, tak výsledky byly ještě lepší s AUC 0,94, senzitivitou 92% a NPV 99% (88).

Výzkum je zaměřen také na predikci odpovědi na BCG vakcínu. Abnormální nález UroVysion FISH po indukční dávce BCG byl spojen se selháním léčby, podobně jako vysoká hodnota IL-2 v moči. Dalšími potenciálními biomarkery jsou různé cytokiny (IL-8, IL-18), které odráží intenzitu imunitní odpovědi vyvolané BCG instilací (89).

6.1.5 Časná cystektomie u pacientů s vysokým rizikem

Riziko podhodnocení stagingu u T1 nádorů může dosáhnout až 50% (90). Část NMIBC nádorů progreduje časem do vyššího stádia, a je zajímavé, že přežití v této skupině je horší než u primárních MIBC. Proto je pacientům s nejvyšším rizikem progresu (Tab. 3), zejména v případě selhání BCG instilací, doporučována časná radikální cystektomie. Pětileté CSS u T1 high-grade nádorů obvykle přesahuje 80%, ale záleží na skladbě nemocných a kdy je časná cystektomie indikována (71, 90). V multicentrické retrospektivní studii 1136 T1 high-grade pacientů, kteří postoupili RC, mělo 16% prokázané uzlinové metastázy a 36% zemřelo na metastatické onemocnění (90). Rozhodování o provedení cystektomie u nemocných s NMIBC je komplexní, pacient musí být poučen o riziku komplikací, o kvalitě života po radikální léčbě a onkologickém riziku konzervativního postupu.

Pouze limitována data jsou publikována k parciální cystektomii u NMIBC, kterou lze selektivně zvážit u starších nemocných se solitárním onemocněním bez CIS. V americké populační studii, která hodnotila 7243 pacientů léčených radikální nebo parciální cystektomii v letech 1988-2004 se pohybovalo 10leté CSS u Ta-T1 nádorů kolem 85% a nelišilo se od výsledků po radikální cystektomii (91).

6.1.6 Radioterapie u T1 nádorů

Pro pacienty s NMIBC s vysokým rizikem progresu, kteří nejsou schopni podstoupit nebo odmítají časnou cystektomii, je alternativou trimodální léčba (trimodal therapy, TMT), kdy po kompletním TURB následuje radiochemoterapie (92,93). Ve studii z Erlangenu bylo léčeno 141 pacientů s T1 nádory (z toho 81 T1 high-grade) trimodální léčbou a 10leté CSS dosáhlo 73% (94). Neexistují ale žádné randomizované studie, které by srovnávaly TMT s observací nebo s časnou cystektomií. Britská randomizovaná studie pouze prokázala, že samotná radioterapie bez chemoterapie nezlepšila čas do progresu ani OS ve srovnání s observací nebo intravesikální léčbou (94).

6.1.7 Vlastní příspěvek k problematice

NMIBC mají vysokou prevalenci s vysokou frekvencí recidiv a zejména u high-grade nádorů vyžadují dlouhodobé sledování. Snahou je nahradit při sledování invazivní cystoskopii neinvazivním stanovením biomarkeru v moči.

V práci „**Genome-wide identification of urinary cell-free microRNAs for non-invasive detection of bladder cancer**„(příloha 10.4) (53), jež byla již podrobně popsána v kapitole 5.7, jsme stanovili diagnostický panel dvou miRNA DxScore (miR-31-5p, miR-93-5p). Dosáhli jsme senzitivity 82% (AUC 0,81), při hodnocení hladin vybraných miRNA byl patrný pokles jejich koncentrace 3 měsíce po operaci a prokázali jsme, že jejich hladiny můžou sledovat průběh onemocnění v případě recidivy. Validace na větším prospektivním souboru pacientů by mohla posoudit přínos tohoto vyšetření. Jedná se o slibný biomarker, další zpřesnění testu by bylo možné kombinací s cytologií moči nebo s jinými močovými biomarkery.

Každé onemocnění NMIBC by mělo být stratifikováno podle rizika rekurence a progresu. V současnosti používané EORTC tabulky (viz kap. 6.1.2), které na základě počtu tumorů, jejich velikosti, frekvence recidiv, T kategorie, grade a přítomnosti CIS zařazují pacienty do 4 prognostických skupin, mají velice nízkou přesnost zejména při odhadu rekurence. Při externích validacích dosáhli C-indexy (index konkordance, odpovídá AUC) 0,55-0,61 v případě posuzování rizika recidivy a o něco lepší výsledky 0,66-0,81 u rizika progresu (95,96).

V práci „**Tumor expression of miR-34a-3p is an independent predictor of recurrence in non-muscle-invasive bladder cancer and promising additional factor to improve predictive value of EORTC nomogram**“ (příloha 10.5) (97) jsme se snažili najít biomarker na bázi miRNA, který by zpřesnil EORTC tabulky při posuzování rizika recidivy. Jednalo se o první práci, která zkoumala globální expresi miRNA v tkáni nádorů po TURB ve vztahu k jejich rekurenci. Do studie bylo zařazeno 78 nemocných, z nichž u

32 došlo k recidivě do 18 měsíců od operace a u 46 nebyla pozorována recidiva po dobu 30 měsíců. Celkem 137 miRNA mělo odlišnou expresi mezi těmito dvěma skupinami, z nichž jsme vybrali sedm, které byly dál zkoumány ve validační fázi. Z těchto pouze miR-34-3p byla spojena s rekurencí, přičemž její vyšší exprese znamenala nižší riziko recidivy u NMIBC ($p=0,01$; AUC 0,72). Přesnost samotných EORTC tabulek byla nízká (AUC 0,64), přidáním miR-34-3p do společného modelu se výrazně zvýšila přesnost predikce rekurence (AUC 0,84; $p<0,0001$). Existuje pouze několik studií hodnotících přínos molekulárních markerů k zpřesnění EORTC tabulek. Van Rhijn *et al.* hodnotili tzv. molekulární grade, který byl tvořen vyšetřením FGFR3 mutace a exprese MIB-1 (98). Molekulární grade byl nezávislým prediktorem progresu a zpřesňoval EORTC tabulky (AUC 0,82). V naší práci byl miR-34-3p v multivariátní analýze nezávislým prediktorem recidivy NMIBC (HR 0,32; $p=0,03$). Potenciální funkce miR-34 v patogenezi karcinomu měchýře byla popsána cestou Wnt signální dráhy a zejména *MDM2*, který je regulátorem *p53* (99). Naše studie byla limitována malým souborem nemocných, opět je nutná externí validace a zvýšení přesnosti je možné cestou kombinace s dalšími biomarkery.

6.2 Invazivní nádory močového měchýře

Dominantní postavení v léčbě invazivních nádorů měchýře má chirurgická léčba, která se drží stejných principů poslední čtyři dekády. Slibným přístupem je roboticky-asistovaná radikální cystektomie, která i když nezlepšuje onkologické výsledky, je atraktivní svým miniinvazivním přístupem a rychlejší rekonvalescencí. Invazivní karcinom měchýře je onemocnění 6.-7. dekády, a proto celkový stav nemocného, komorbidita a stádium onemocnění výrazně ovlivňují výběr jak primární léčby, tak i typu derivace moči. Standardní součástí je perioperační systémová léčba. Několik randomizovaných studií prokázalo efekt neoadjuvantní chemoterapie (NACHT) u karcinomu měchýře a v poslední době jsou dostupné i první nadějně výsledky studií s předoperační imunoterapií. Pro selektované pacienty s onemocněním ohraničeným na měchýř je možnou alternativou k radikální cystektomii kombinace kompletní transuretrální resekce tumoru s následnou chemoradioterapií. K lepší volbě léčby by měla přispět i rodící se molekulární klasifikace invazivních nádorů (viz výše).

6.2.1 Operační léčba

6.2.1.1 Radikální cystektomie

Radikální cystektomie s pánevní lymfadenektomií (lymph node dissection, LND) je základem léčby invazivních nádorů měchýře cT2-4aNO. Dalšími indikacemi jsou neinvazivní nádory T1 high-grade s vysokým rizikem progresu, refrakterní na léčbu BCG nebo endoskopicky neřešitelné objemné papilární nádory (31). Operační léčba má výborné výsledky u nádorů ohraničených na stěnu měchýře. V klasické studii Stein *et al.* hodnotili onkologické výsledky u 1054 pacientů se samotnou chirurgickou léčbou a dosáhli 5-letého přežití bez progresu (progression-free survival, PFS) 76% u nádorů pT1, 74% u pT2, 52% u pT3 a 36% u pT4 (100). Nález uzlinových metastáz se pohybuje kolem 25% a výrazně zhoršuje prognózu nemocných. Jejich 5leté CSS se pohybuje mezi 22-44% (101-103).

Pánevní lymfadenektomie je považována za nedílnou součást radikální cystektomie od 80. let minulého století, kdy vedla ke snížení lokálních recidiv a dlouhodobému přežití u části nemocných s minimálním uzlinovým postižením (104). Nejasnou zůstávala otázka, jaký je její optimální rozsah. V roce 2019 byly publikovány výsledky dlouho očekávané německé studie, ve které bylo na souboru 401 pacientů s uroteliálním karcinomem cT1-T4N0 srovnáno pětileté přežití bez recidivy (recurrence-free survival, RFS) u dvou templátů LND (105). První z nich byl kraniálně ohraničen bifurkací společných ilických cév (limitovaná LND), druhý z nich odstupem dolní mesenterické arterie (rozšířená LND). Studie neprokázala superioritu rozšířené oproti limitované LND ve vztahu k RFS (5leté RFS 65% vs 59%; HR 0,84; p=0,36) ani CSS (5leté CSS 76% vs 65%; HR 0,70; p=0,10). Studie byla široce komentována a za důvody jejího negativního výsledku byly uváděny nedostatečná velikost souboru a zejména skutečnost, že do studie bylo zařazeno příliš mnoho nádorů omezených na stěnu močového měchýře (až 60% pT1-2 případů). U těchto pacientů je frekvence lymfadenopatie příliš nízká k tomu, aby se mohl projevit efekt rozšíření templátu LND. Očekávaná je nyní americká studie SWOG S1011 s podobným dizajnem ale vyšším počtem nemocných a s vyloučením časných nádorů cT1N0.

Radikální cystektomie je operace s vysokou morbiditou, i v centrech s velkými zkušenostmi se výskyt závažných komplikací (grade 3-4) pohybuje kolem 13-22% (106-108), 30denní mortalita dosahuje 1,2-3,2% a 90denní mortalita až 8,4%. Podle retrospektivní studie hodnotící výsledky 7922 cystektomií byly prediktory časně mortality stoupající věk, Charlson comorbidity index, T kategorie a ročně provedených méně než 15 cystektomií (109). Výrazný nárůst komplikací je patrný ve vyšším věku. V multicentrické studii hodnotili autoři komplikace u 199 a 52 pacientů ve věku 75-84, resp. >85 let a zaznamenali 90denní mortalitu u 14%, resp. 32% (110).

Jedním ze způsobů, jak omezit komplikace, je obecně miniinvazivní operační přístup. V roce 2003 se začala rozvíjet roboticky-asistovaná radikální cystektomie (RARC). Původní nadšení bylo přibržděno popisem atypicky lokalizovaných metastáz, případů peritoneální diseminace a nutností selekce vhodných nemocných s lokalizovaným onemocněním. Zdlouhavý byl také vývoj a rozšíření operační techniky, zejména přechod z extrakorporální na intrakorporální provedení derivace moči. V nedávných dvou randomizovaných studiích, které srovnávaly klasickou cystektomii s RARC s extrakorporální derivací u 118, resp. 302 nemocných, nebyl prokázán rozdíl v OS nebo CSS, avšak studie neměly dostatečnou statistickou sílu (111,112). Komplikace byly ve studii RAZOR srovnatelné, RARC byla spojena pouze s menší krevní ztrátou a kratší dobou hospitalizace (112). Výtkou k oběma studiím je, že se nejednalo o skutečně miniinvazivní RARC, jelikož derivace moči nebyla provedena intrakorporálně. Od RARC nelze očekávat zlepšení onkologických výsledků, proto pro budoucí postavení RARC bude zásadní výsledek studie iROC, která srovnává klasickou cystektomii s RARC s intrakorporální derivací a zhodnotí efekt RARC na výskyt komplikací, délku hospitalizace a kvalitu života (113).

Po cystektomii je častý výskyt erektilní dysfunkce a v případě ortotopické derivace také inkontinence moči. Ke zlepšení funkčních výsledků byly popsány techniky šetřící pánevní orgány. I když se jedná o relativně malé retrospektivní soubory s kratší délkou sledování, zdá se, že u vysoce selektovaných a motivovaných pacientů s klinicky lokalizovaným karcinomem měchýře je možné bezpečně ušetřit u

mužů prostatu, kapsulu prostaty nebo semenné váčky a u žen dělohu a pochvu (114). U mužů je nutné před operací vyloučit karcinom prostaty.

6.2.1.2 Derivace moči

Volba derivace moči záleží na stádiu onemocnění, celkovém stavu nemocného a jeho preferencích. Vzhledem k relativně vysokému riziku pozdních komplikací, je nutné sledovat tyto pacienty doživotně. Obecně lze derivace rozdělit na několik základních typů:

1. Ureterokutaneostomie

Jedná se o nejjednodušší variantu, kdy se močovody vyšijí na kůži. Používá se u starších nemocných se závažnými komorbiditami, kde je požadavek na co nejkratší operaci, a kde se očekávají komplikace spojené s použitím střevního segmentu k derivaci. Kvalita života je srovnatelná jako při ileální konduitu, z komplikací je častější stenóza stomie (115).

2. Ileální konduit (ureteroileostomie)

Jedna z nejběžnějších derivací, při které se uretery našijí na 15-20 cm exkludovaného terminálního ilea. Populační studie naznačují, že se používá až u 80% nemocných (116). Pozdní komplikace se vyskytnou u přibližně poloviny nemocných, nejčastěji stenóza stomie, parastomální kýla, stenóza uretero-intestinální anastomózy, uroinfekce nebo urolitiáza. U nemocných s vysokým ozářením pánve je vhodné místo ilea použít 15 cm colon transversum (kolonický konduit).

3. Ortotopická derivace (ileální neovesika)

Existuje více technik konstrukce ileální neovesiky, společnými principy jsou detubularizace ilea a vytvoření nízkotlakového rezervoáru, který se našije na močovou trubici (117). K vytvoření neovesiky se obvykle použije 50-60cm terminálního ilea. Nutná je pečlivá selekce nemocných, neovesika vyžaduje motivovaného a spolupracujícího pacienta k dosažení požadovaného objemu rezervoáru, k návniku jeho vyprazdňování a dosažení kontinence. V publikovaných velkých sériích jsou udávány denní a noční kontinence kolem 80-100%, resp. 70-90% (118). Při sledování musí být vyloučeny poruchy vnitřního prostředí, zejména metabolická acidóza.

4. Heterotopická derivace (kontinentní kutánní derivace)

Jedná se o méně využívanou derivace, k jejíž konstrukci se využívá detubularizované colon descendens, ileocékum nebo ileum. K dispozici je několik technik vytvoření kontinentního mechanismu. Nevýhodou je nutnost cévkování a větší komplexnost operace, s čímž souvisí vyšší riziko reoperací a pozdních komplikací.

5. Anální derivace (ureterosigmoideostomie)

Při této málo využívané derivaci se detubularizuje a rekonfiguruje sigma do sférického tvaru, čímž je dosaženo nižšího tlaku, a tím snížení rizika uroinfekce a inkontinence. Noční kontinence se uvádí nad 90% (119). Před operací je nutno vyloučit patologii tlustého střeva a 5 let od operace se doporučují pravidelné kolonoskopie k vyloučení sekundárního karcinomu.

6.2.2 Perioperační systémová léčba

U téměř poloviny pacientů s MIBC po radikální cystektomii dojde k progresi onemocnění. Předpokládá se, že i přes negativní zobrazovací vyšetření mají tito pacienti již v čase diagnózy mikrometastatické postižení. První studie naznačují, že časný záchyt metastatického onemocnění je v současnosti možný pomocí detekce cirkulujících nádorových buněk nebo jejich volné DNA (ctDNA) (120,121). Autoři z Aarhusu publikovali výsledky detekce ctDNA v plazmě u 68 nemocných s MIBC pomocí sekvenování somatických mutací specifických pro jednotlivé pacienty (120). Nález ctDNA kdykoliv v průběhu onemocnění byl silným prognostickým ukazatelem. V případě pozitivního nálezu ctDNA u MIBC po TURB byla zaznamenána recidiva v 46% ve srovnání s 3% při negativním nálezu. Podobně po neoadjuvantní chemoterapii (NACHT) se recidiva vyskytla u 75% versus 11% podle positivity ctDNA v plazmě.

Proto je u MIBC, podobně jako u jiných solidních nádorů, prosazován koncept neoadjuvantní systémové léčby, jejíž cílem je ovlivnit mikrometastatické postižení. Podle registrových studií je však NACHT pořád málo využívána (122,123). Cestou ke zlepšení je zavedení mezioborových komisí, správná indikace systémové léčby, úzká spolupráce při koordinaci chemoterapie a operace, aby se co nejvíce omezilo riziko opoždění radikální léčby.

6.2.2.1 Neoadjuvantní chemoterapie

Neoadjuvantní chemoterapie je v současnosti doporučována u pacientů s cT2-4aN0 onemocněním (31,124). Podání chemoterapie před operací má několik výhod. Stav nemocných není ovlivněn operací, pacienti lépe tolerují chemoterapii a může dojít ke zmenšení, downstagingu nádoru (125). Nevýhodou je naopak skutečnost, že nemáme spolehlivé prediktivní biomarkery odpovědi na léčbu, část nemocných bez mikrometastáz je zbytečně léčena a u nemocných bez odpovědi na NACHT hrozí progresse z opoždění radikální operace (126).

V metaanalýze 11 randomizovaných studií s 3005 pacienty byl prokázán benefit NACHT 5% u celkového přežití a 9% u nádorově-specifického přežití (127). Většina zařazených studií byla zatížena různými chybami jako malý počet pacientů, nestandardní protokol chemoterapie nebo radikální léčby. Pokud by byly brány v úvahu pouze studie s moderními kombinacemi chemoterapie založenými na cisplatině, tak absolutní benefit by byl 8% (45% versus 53%) a NACHT by snížila riziko úmrtí o 18% (128). Jedna z největších studií byla SWOG 8710, která randomizovala 317 pacientů s MIBC (cT2-4aN0) k samotné cystektomii nebo k neoadjuvantní chemoterapii MVAC (metotrexát, vinblastin, adriamycin, cisplatin) s následnou cystektomií (129). Medián přežití byl 77 měsíců při NACHT oproti 46 měsícům při samotné cystektomii ($p=0,06$) a bylo prokázáno snížení rizika úmrtí na karcinom měchýře o 33%. Nepřítomnost reziduálního nádoru v definitivním preparátu (pT0) byla silným prognostickým faktorem, a co je důležité, po NACHT bylo pT0 dosaženo mnohem častěji než po samotné chirurgické léčbě (38% versus 15%).

Nález pT0 při cystektomii je spojen s výbornými onkologickými výsledky nezávisle od toho, jestli byl dosažen po samotném TURB nebo jeho kombinací s NACHT (130). Rozdíl v přežití se zdá být způsoben vyšším podílem 25–38 % pacientů s pT0 po NACHT oproti 12–15 % po samotném TURB (129,131,132).

V metaanalýze studií s NACHT byla popsána kompletní odpověď u 29 % nemocných a u této skupiny bylo sníženo riziko úmrtí o 55 % (133).

Z klasických chemoterapeutických protokolů jsou dostupná randomizovaná data pouze pro MVAC, jenž je ale pro svou toxicitu málo využíváný. V současnosti jsou v rámci NACHT doporučovány gemcitabin s cisplatinou (GC) a dose-dense MVAC (ddMVAC), účinnost kterých je ale potvrzena z randomizovaných studií pouze u metastatického karcinomu měchýře (134). Nicméně z výsledků retrospektivních studií se zdá, že jejich účinnost je stejná jako u MVAC a jsou méně toxické (135-137). U pacientů neschopných podání cisplatinu není v současnosti indikována NACHT, jelikož kombinace s karboplatinou mají menší procento odpovědí (127). Tito pacienti by mohli být již v krátké době na základě probíhajících studií fáze II kandidáty neoadjuvantní imunoterapie.

Jak již bylo uvedeno, v současnosti není k dispozici spolehlivý prediktor odpovědi na chemoterapii. Proto se některé výzkumné skupiny zaměřili na možnost selekce nemocných podle běžných klinických faktorů. Culp *et al.* definovali pacienty s vysokým rizikem, u kterých má NACHT největší přínos. Mezi rizikové faktory patří onemocnění cT3b-4a, přítomnost hydronefrózy, lymfovaskulární invaze a variantní histologie (mikropapilární, neurendokrinní). Autoři prokázali, že pacienti s rizikovými faktory měli horší 5leté CSS 64% ve srovnání s 84% ve skupině bez rizikového faktoru (138).

6.2.2.2 Adjuvantní chemoterapie

Jak již bylo diskutováno v předešlém textu, výhodou adjuvantní chemoterapie (AČT) oproti NACHT je skutečnost, že u pacientů nedochází k opoždění chirurgické léčby a systémová léčba je podána pouze nemocným s vysokým rizikem recidivy (lokálně pokročilý nádor pT3-4 nebo uzlinové postižení pN1-3). Zastánci NACHT ale naopak poukazují, že pacienti jsou v lepším fyzickém stavu před operací, u části pacientů s pokročilým onemocněním bude systémová léčba podána opožděně a někteří z nich chemoterapii kvůli zhoršení stavu po operaci vůbec nedostanou. Donat *et al.* hodnotili retrospektivně soubor 1142 cystektomií a zjistili, že 30% pacientů nebylo schopno podání adjuvantní chemoterapie kvůli pooperačním komplikacím (139). Navíc po cystektomii může dojít ke zhoršení renálních funkcí, což znemožní podání cisplatinu až u 25% nemocných (140).

Studie s AČT byly většinou malé, zatížené četnými metodologickými chybami. V metaanalýze studií z roku 2005 AČT snižovala riziko úmrtí o 25%, což v absolutních číslech představovalo zlepšení 3-letého OS o 9% (141). Aktualizovaná analýza 9 studií s 949 pacienty z roku 2016 potvrdila snížení rizika úmrtí o 23% (HR 0,77; p=0,002) (142). Doposud největší studií je EORTC 30994, která randomizovala 284 pacientů (pT3-4 nebo pN+) z plánovaných 660 do skupin s okamžitou chemoterapií (4 cykly po operaci) nebo odloženou (6 cyklů při progresi) (142). Povolnými protokoly byly GC, MVAC nebo ddMVAC. Studie neprokázala zlepšení celkového přežití, 5leté OS bylo 53,6% u okamžité a 47,7% u odložené chemoterapie (HR 0,78; p=0,13). Při analýze podskupin bylo zajímavým zjištěním, že největší prospěch z okamžité chemoterapie měli pacienti bez uzlinového postižení pN0 (5leté OS 79,5% versus 59%; HR 0,37; p=0,012).

Podle současných doporučení by pacient měl dostat NACHT, ale pokud se tak nestalo a po operaci má potvrzené lokálně pokročilé onemocnění pT3-4 nebo pN+, je indikována adjuvantní chemoterapie

(31,124). V blízké budoucnosti může být algoritmus léčby zásadně ovlivněn výsledky studií fáze III s adjuvantní imunoterapií.

6.2.2.3 Predikce odpovědi na chemoterapii

U přibližně poloviny nemocných s MIBC nezaznamenáme odpověď na chemoterapii (CHT), tito pacienti jsou zbytečně vystaveni toxicitě léčby a potenciálně ohroženi oddálením radikální operace. Výzkum v této oblasti se orientuje na molekulární typizaci karcinomu měchýře a vývoj spolehlivého prediktivního biomarkeru na základě hodnocení mutace genů nebo expresní analýzy.

V nedávné době byly identifikovány mutace několika genů, zejména ze skupiny DNA reparačních genů (DNA damage repair, DDR), které vykazovaly spojitost s odpovědí na kombinační chemoterapii založené na cisplatině (143,144). Van Allen *et al.* popsali výskyt mutace genu *ERCC2* (součást nukleotidové excizní reparace) pouze u nemocných s odpovědí na CHT (143). Podobně Plimack *et al.* dosáhli vysoké predikce odpovědi, která byla vázaná na zjištěnou mutaci alespoň jednoho z genů *ATM*, *FANCC* nebo *RB1* (144). V současnosti je mutace DDR genů jedním z nejslibnějších biomarkerů odpovědi na CHT, což je podtrženo nedávnou studií Iyer *et al.*, ve které autoři prokázali pozitivní prediktivní hodnotu 89% v případě popsané mutace (145). Na druhé straně frekvence těchto mutací není vysoká, což znamená že u většiny responderů se musí jednat také o odlišné mechanismy chemosenzitivity.

Druhou oblastí zájmu je definování molekulárních podtypů karcinomu měchýře pomocí exprese genů (viz kapitola 4.2), kdy samotné podtypy mají prediktivní hodnotu. Všechny publikované klasifikace se shodují, že v nejvyšším stupni hierarchie se karcinomy měchýře dělí na luminální a bazální typ. Zjednodušeně lze říct, že luminální typ má lepší prognózu a horší odpověď na CHT a u bazálního typu je to obráceně (14,18,146). V nedávné studii Seiler *et al.* hodnotili asociaci molekulárních podtypů a chemosenzitivity u 343 MIBC s NACHT a 476 bez chemoterapie. Žádný z podtypů nebyl spojen s vyšší frekvencí patologické odpovědi ($\leq pT1N0$). Největší vliv NACHT byl patrný u bazálního podtypu, u kterého bylo 3leté OS 49% ve skupině bez CHT ve srovnání s 78% po NACHT (147). Molekulární klasifikace má prediktivní hodnotu i ve vztahu k imunoterapii nebo cílené léčbě, a proto bude pravděpodobně hrát důležitou roli ve volbě optimální systémové léčby (147).

6.2.2.4 Imunoterapie

Lepší porozumění odpovědi imunitního systému na nádorové onemocnění a mechanismům, kterými nádory unikají imunitnímu dohledu, vedlo k zavedení nových léků, tzv. checkpoint inhibitorů. Tyto léky působí na imunosupresivní dráhy blokadou PD-1/PD-L1 a CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4), což má za následek mobilizaci imunitní reakce. Inhibitory PD-1/PD-L1 a CTLA-4 našly své místo nejdříve v léčbě metastatického onemocnění. V současnosti ale probíhá více studií, které hodnotí jejich přínos v časnějších fázích onemocnění, před a po radikální cystektomii, jako součást trimodální léčby, a dokonce již u NMIBC (148).

Nádory měchýře mají mezi solidními nádory vysokou imunogenicitu, sekvenační studie u nich prokázaly vysokou mutační nálož, což je předurčuje k dobrému efektu imunoterapie. Ve fázi MIBC probíhá řada studií fáze II s neoadjuvantním podáním PD1/PD-L1 inhibitorů. Ve studii PURE-01 bylo 50 pacientů léčeno 3 cykly pembrolizumabu (149). Kompletní (ypT0) a parciální (\leq pT1) patologické odpovědi bylo dosaženo u 42%, resp. u 54% nemocných. Při hodnocení prediktorů odpovědi byla prokázána spojitost s vysokou mutační náloží, aktivací signální dráhy IFN- γ a expresí PD-L1 vyjádřenou CPS (combined positive score) \geq 10%. Kompletní odpověď byla zaznamenána u 54% s CPS \geq 10% ve srovnání s 13%, pokud bylo CPS $<$ 10%. Imunoterapie byla velice dobře tolerována, komplikace grade 3-4 se vyskytly pouze u 6% nemocných. Ve studii s atezolizumabem bylo neoadjuvantně léčeno dvěma cykly 95 pacientů, u kterých byla kontraindikována cisplatina. Kompletní odpovědi dosáhlo 31% nemocných. PD-L1 bylo pozitivní u 40% pacientů a v této skupině bylo pozorováno 39% kompletních odpovědí (150). V kontrastu k předchozí studii nebyla mutační nálož spojená s odpovědí na imunoterapii. Pozitivními prediktory byla míra T-buněčné imunity, zejména CD8+ fenotyp a rezistence byla spojena se stromálním faktorem TGF- β a aktivací fibroblastů. Výsledky biomarkerových studií ukazují na komplexnost interakce imunity a nádoru, která není zatím úplně objasněna a v současnosti chybí jasný prediktor odpovědi (148,150). Aktuálně probíhají studie s imunoterapií v neoadjuvanci, které hodnotí kombinace PD-1/PD-L1 inhibitorů s chemoterapií nebo s anti-CTLA-4 protilátkou a v adjuvantním režimu jsou krátce před ukončením tři studie fáze 3, jejichž výsledky jsou očekávány v roce 2020 (151).

6.2.3 Perioperační radioterapie

Většina randomizovaných studií s předoperační radioterapií jsou staré několik desítek let a kromě downstagingu neprokázaly jednoznačný vliv na přežití (152). Obvyklá perioperační dávka je 45-50 Gy v 1,8-2,0 Gy frakcích. Pouze velice omezená data existují pro pooperační radioterapii. U lokálně pokročilých nádorů pT3-4N0-2, zejména s pozitivním resekcčním okrajem, je možné zvážit adjuvantní radioterapii ke snížení lokálního relapsu (153). V případě, že chemoterapie nebyla podána neoadjuvantně, lze ji podat konkomitantně.

6.2.4 Měchýř-záchovné postupy

6.2.4.1 Transuretrální resekce měchýře

Část nemocných s MIBC není schopna radikální léčby kvůli celkovému stavu nebo ji odmítá z důvodů vysoké morbiditity. U vysoce selektovaných nemocných je alternativou měchýř-záchovný postup samotným TURB. Podmínkou je dosažení makroskopicky kompletního TURB, postižení pouze povrchové části detrusoru, negativní biopsie spodiny, bez nálezu hydronefrózy a CIS. Několik studií prokázalo u takto vybrané populace pacientů 5leté CSS 76-93% a zachování měchýře v 57-76% (154-156). Přesto, pokud je pacient s cT2N0 nádorem v dobrém celkovém stavu, měl by podstoupit radikální cystektomii nebo TMT (31,124).

6.2.4.2 Radioterapie

Obvyklá dávka kurativní radioterapie je 64-66 Gy, další eskalace dávky do 70 Gy nezlepšuje OS (157). Analýza amerického registru prokázala lepší 2leté OS u chemoradioterapie (54%) ve srovnání se samotnou radioterapií (42%) (158). Naopak v britské randomizované studii s 360 pacienty nezlepšila chemoradioterapie (s fluorouracilem a mitomycinem C) signifikantně 5leté OS (48% versus 35%; HR 0,82; p=0,16) (159). Jako prediktory přežití jsou udávány kompletní TURB, odpověď na radioterapii, velikost nádoru a nepřítomnost hydronefrózy.

Samotná radioterapie v léčbě MIBC má horší výsledky než chirurgická léčba nebo její kombinace s chemoterapií. Proto je na místě pouze v případech, kdy pacient není schopen radikální cystektomie nebo chemoterapie v rámci trimodální léčby. V paliativním režimu se radioterapie využívá také ke zvládnutí hematurie.

6.2.4.3 Trimodální léčba

Trimodální léčba sestává optimálně z kompletního TURB, po kterém následuje konkomitantní chemoradioterapie. Tato metoda vyžaduje velice úzkou mezioborovou spolupráci. Radioterapie spolu s TURB zajišťují lokoregionální kontrolu a chemoterapie působí jako radiosenzitizér, a zároveň má potenciál ovlivnit mikrometastatické postižení. Nejčastěji se používají protokoly založené na cisplatině nebo mitomycin s 5-fluorouracilem. Radioterapie může být aplikována kontinuálně nebo rozdělena na 2 bloky s indukční fází 40Gy. Tyto postupy se liší načasováním přešetření pomocí cystoskopie s biopsií měchýře. Součástí strategie TMT je časná indikace záchranné cystektomie, pokud nebylo dosaženo kompletní odpovědi nebo došlo k progresi onemocnění (160).

TMT cílí na dvě skupiny nemocných. V prvním případě se jedná o vysoce selektovanou skupinu pacientů v dobrém stavu, schopných cystektomie, pro které je TMT alternativou. Jedná se o pacienty s cT2N0 onemocněním po radikálním TURB, bez CIS a hydronefrózy a s dobrou funkcí měchýře. Neexistují žádné randomizované studie srovnávající radikální cystektomii s TMT. Na základě retrospektivních populačních studií a párových analýz se však zdá, že u takto vybrané populace nemocných jsou výsledky radikální cystektomie a TMT srovnatelné (161,162). Pětileté CSS dosahuje v publikovaných studiích 50-82% (160,163). V druhém případě jsou cílovou skupinou pacienti neschopni cystektomie, kteří jsou často starší, s komorbiditami, nicméně schopni chemoterapie a pro ně je TMT optimálním postupem. Vylučovací kritéria již nejsou tak přísná, ale CIS a malá kapacita měchýře zůstávají kontraindikací.

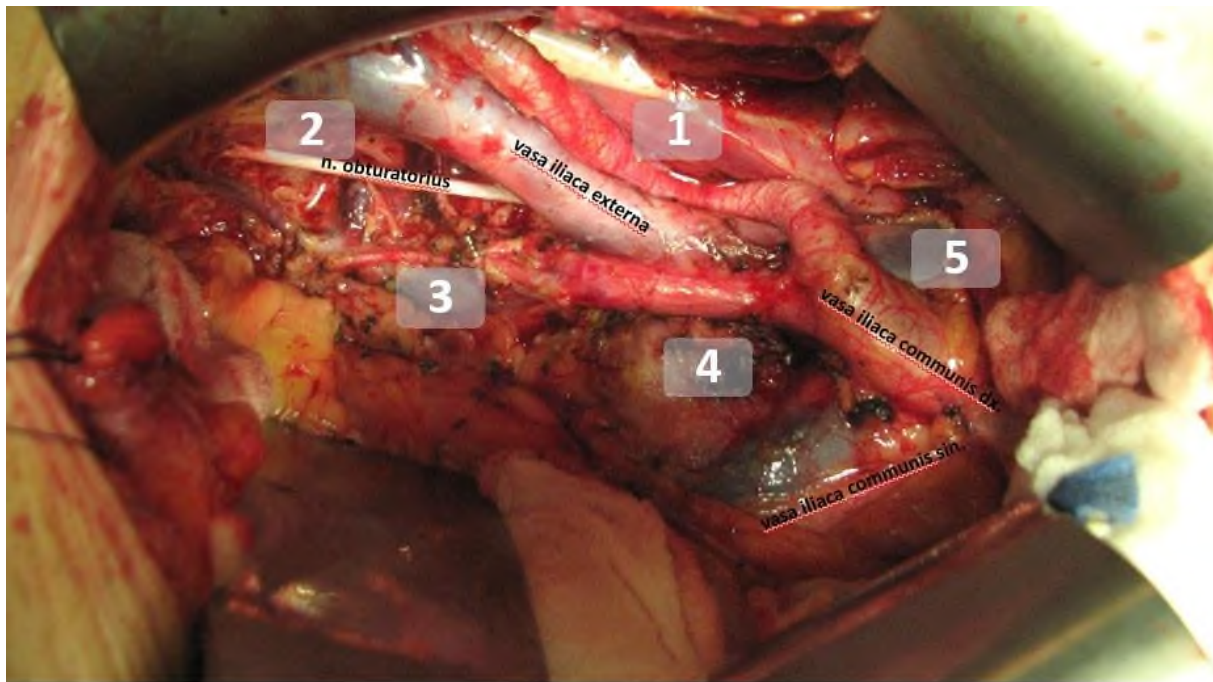
Navíc se musí jednat o dobře spolupracující pacienty, jelikož je nutné doživotní sledování zachovaného měchýře. Recidivy jsou nejčastěji povrchové, často zvládnutelné endoskopicky. Ve studii 342 pacientů s kompletní odpovědí na TMT se objevila recidiva u 25% a tito pacienti měli horší 10leté CSS (78% versus 72%) (164). Celkově musí přibližně 30% nemocných počítat s nutností podstoupit záchrannou cystektomii pro progresi onemocnění.

6.2.5 Vlastní příspěvek k problematice

Radikální chirurgická léčba představuje velikou zátěž pro nemocné, kteří jsou nejčastěji v šestém a sedmém decéniu, obvykle s četnými komorbiditami, proto je důležitá optimální předoperační příprava a pooperačně kvalitní intenzivní péče. Na našem pracovišti se dlouhodobě snažíme optimalizovat provedení radikální cystektomie, veliký důraz klademe na pečlivé provedení pánevní lymfadenektomie, která je jednou z mála chirurgických proměnných, které mohou zásadně ovlivnit onkologické výsledky. Při rekonstrukční fázi jsme hledali postupy, které by snížily riziko komplikací jako je např. striktura ureteroenterální anastomózy. V dalších pracích jsme se věnovali vývoji prognostických biomarkerů vhodných pro různé fáze léčby MIBC.

Péče o pacienty s invazivními nádory močového měchýře je velice komplexní a vyžaduje úzkou mezioborovou součinnost. Díky výborné spolupráci s onkology jsme v roce 2010 zavedli u MIBC neoadjuvantní chemoterapii. Principy a výsledky NACHT jsme popsali v přehledové práci **„Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních nádorů močového měchýře“** (příloha 10.6) (165). V roce 2016 jsme publikovali vlastní zkušenosti s NACHT na větším souboru nemocných v práci **„Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních uroteliálních nádorů měchýře: korelace léčebné odpovědi a přežití pacientů“** (příloha 10.7) (166). Do studie bylo zařazeno 27 pacientů s cT2-4N0 a 14 s cT2-4N1-3 onemocněním. Všichni postoupili NACHT a následně radikální cystektomii s LND. Odpověď na chemoterapii jsme definovali jako kompletní (ypT0N0) nebo parciální (\leq pT1N0). Nejčastěji (v 85%) byla podána kombinace gemcitabinu a cisplatiny, v případě renální insuficience byla cisplatina u šesti pacientů nahrazena karboplatinou. Dvouleté přežití bez progresu (PFS) pro celý soubor bylo 69%. U pacientů bez vstupní lymfadenopatie (cT2-4N0) dosáhlo až 81% ve srovnání s 52% u nemocných se vstupním postižením uzlin (cN1-3). Kompletní nebo parciální odpověď jsme zaznamenali u 41 %, resp. 59 % pacientů. Výrazně lepší odpověď (67%) byla dosažena v podskupině 27 pacientů s klinicky negativními uzlinami cT2-4N0, u níž jsme zaznamenali kompletní odpověď až v 48%. Dosažení kompletní odpovědi bylo spojeno s výbornou prognózou. Dvouleté PFS bylo 93% u patologického ypT0, 83% u ypT1, 50% u ypT2 a 31% u ypT3-4 ($p=0,003$).

Je nutné opět připomenout, že i přes pokroky v systémové léčbě je pro prognózu pacienta rozhodující kvalita chirurgické léčby, z nichž především pečlivost lymfadenektomie a výskyt pozitivních okrajů jsou nejdůležitějšími ukazateli. V jedné z randomizovaných studií s NACHT (SWOG 8710) byl signifikantní rozdíl v pětiletém celkovém přežití 44 %, resp. 61 %, pokud měli pacienti při operaci odstraněno méně nebo více než deset uzlin (167). V našem souboru byl medián odstraněných uzlin 24 (IQR 18–30). Všichni pacienti podstupují pánevní LND s kraniálním ohraničením v místě křížení ureteru se společnými ilickými cévami, u nemocných s lokálně pokročilým onemocněním posouváme kraniální hranici na bifurkaci aorty a jak bude dále v textu rozebráno, u selektovaných nemocných s postižením uzlin retroperitonea provádíme i retroperitoneální LND po odstup renálních cév. Při obvyklém rozsahu LND odstraňujeme zevní ilické, obturatorní, vnitřní ilické, presakrální a společné ilické uzliny (Obr.3).



Obr.3 Stav po pánevní lymfadenektomii, pohled do pánve vpravo. Oblasti disekce: 1 – zevní ilická, 2 – obturatorní, 3 – vnitřní ilická, 4 – presakrální, 5 – společná ilická. Zdroj: archiv autora.

V současnosti náš soubor čítá 37 pacientů cT2-4N0 (bez klinické lymfadenopatie) léčených s NACHT. Aktuální výsledky a srovnání s retrospektivním souborem nemocných léčených radikální cystektomií bez NACHT (celkem 144 pacientů) jsme publikovali formou abstraktu v roce 2019 (168). U skupiny pacientů s onemocněním ohraničeným na močový měchýř (cT2N0) jsme dosáhli vynikajícího 5letého CSS 90% ve skupině s NACHT a 87% bez chemoterapie. I to je důvodem, proč jsme od roku 2014 omezili indikaci NACHT u cT2N0 pouze na pacienty s rizikovými klinickými faktory jako jsou hydronefróza, lymfovaskulární invaze nebo variantní histologie (138). Pokud byl přítomen rizikový faktor, měli nemocní bez NACHT signifikantně horší 5leté CSS 67% než zbytek kohorty ($p=0,03$). Větší efekt měla NACHT u lokálně pokročilého onemocnění cT3-4N0, kde skupina s NACHT dosáhla 5letého CSS 79% ve srovnání s 47% bez chemoterapie ($p=0,09$).

Radikální cystektomie je spojena s vysokým rizikem komplikací v pooperačním průběhu. Jednou z častých pozdních komplikací je zúžení uretero-enterální anastomózy při rekonstrukci močových cest. Obvyklou technikou napojení močovodů na tenkostřevní kličku představuje technika podle Nesbíta nebo Wallace. U Nesbitovy techniky se jedná o prosté našití močovodu end-to-side ke střevní kličce. U Wallacovy techniky našíváme spatulované uretery k proximálnímu konci střevní kličky.

Na našem pracovišti byla vyvinuta nová technika provedení anastomózy, tzv. flap-and-trough technika (F-T), která sestává z everze spatulované části ureteru (flap) a poté její všítky do demukozované části střevní kličky (trough). V práci „**Effect of ureterointestinal anastomosis on renal function and morbidity in intestinal urinary diversion**“ (příloha 10.8) (169) jsme na prospektivním souboru 49 pacientů srovnali výsledky antirefluxní anastomózy F-T ($n=20$) a refluxní ureterointestinální

anastomózy podle Nesbita nebo Wallace (n=29). Výskyt infekcí ledviny se nelišil v obou souborech, nesignifikantně vyšší byla striktura anastomózy u refluxní techniky (p=0,16). Dále jsme hodnotili změnu v glomerulární filtraci a velikosti ledviny. Pouze v případě kontinentních derivací jsme zaznamenali zhoršení parametrů při refluxní anastomóze ve srovnání s antirefluxní. Naše technika ureterointestinální anastomózy s sebou nese dlouhodobě minimální riziko vzniku ureteroenterální stenózy a poskytuje ochranu ledvinám před infekcí a zhoršením funkce, a to i v terénu kontinentních análních derivací (sigma-rectum pouch typu Mainz II).

V posledních letech se díky výraznému pokroku v molekulární biologii nádorů objevilo velké množství potenciálních prognostických a prediktivních biomarkerů. Velikou výpovědní hodnotu můžou mít ale i běžně dostupné laboratorní parametry. Jednoduchými klinickými ukazateli jsou CRP, poměr neutrofilů k lymfocytům (neutrophil-to-lymphocyte ratio; NLR) nebo odvozený NLR (dNLR; poměr neutrofilů k rozdílu leukocytů a neutrofilů), které odrážejí stupeň aktivace systémové zánětlivé reakce v přítomnosti nádorového onemocnění. V nádorovém mikroprostředí podporuje zánětlivá reakce růst a invazi nádoru, na systémové úrovni má nepříznivý vliv na nutriční a funkční stav nemocných. Metaanalýza studií u různých solidních nádorů prokázala, že elevace NLR znamená pro pacienty o 81% vyšší riziko úmrtí (170).

V naší práci „**Prognostický význam parametrů vycházejících z poměru neutrofilů k lymfocytům u invazivních nádorů močového měchýře**“ (příloha 10.9) (171) z roku 2017 jsme hodnotili NLR a dNLR longitudálně před radikální cystektomií, tři měsíce po cystektomií a v čase recidivy. Celkem jsme do studie zahrnuli 110 nemocných s MIBC, kteří podstoupili radikální cystektomií bez NACHT. Arbitrárně jsme stanovili cut-off hodnoty 3,9 pro NLR a 2,7 pro dNLR. Pooperačně zvýšené hodnoty NLR a dNLR byly negativními prediktory nádorově-specifického přežití. Pacienti s pooperačním dNLR vyšším než cut-off 2,7 měli více než třikrát větší riziko úmrtí a pětileté CSS bylo 63% (dNLR ≤ 2,7) versus 30% (dNLR > 2,7) (HR 3,7; p=0,002). Oproti jiným studiím jsme hodnotili tyto ukazatele i v čase recidivy, kde se také potvrdil jejich prognostický potenciál. Medián přežití po recidivě ve skupinách pacientů s NLR větším a menším než hodnota cut-off 3,9 dosáhl 4, resp. 14 měsíců. U odpovídajících skupin dNLR se jednalo o 3, resp. 12 měsíců. Markery systémové zánětlivé odpovědi NLR a dNLR jsou jednoduché, levné a jejich monitoring umožňuje identifikovat vysoce rizikové pacienty po radikální cystektomií, kterým hrozí progresse a také určují prognózu pacientů v čase recidivy onemocnění.

V již zmiňované práci (kapitola 4.3) „**Overexpression of long non-coding RNA TUG1 predicts poor prognosis and promotes cancer cell proliferation and migration in high-grade muscle-invasive bladder cancer**“ (příloha 10.3) (30) jsme hodnotili funkci lncRNA *TUG1* u 47 invazivních nádorů močového měchýře a její prognostický potenciál. Expres *TUG1* byla vyšší u metastatických nádorů (p=0,014) a byla spojena s horším celkovým přežitím (HR 2,54; p=0,024). Možnými mechanismy je zvýšená proliferace a podpora epitel-mesenchymálního přechodu. *TUG1* je slibným negativním prognostickým biomarkerem nejenom u nádorů měchýře, ale také u žaludečního nebo kolorektálního karcinomu.

6.3 Metastatické nádory močového měchýře

Pacienti s metastatickými nádory močového měchýře mají špatnou prognózu, při samotné chemoterapii je medián přežití 15 měsíců a 5 let se dožije přibližně 15% nemocných (7,31). V první linii je standardem kombinační chemoterapie gemcitabin + cisplatina, klasický MVAC nebo ddMVAC. Randomizovaná studie prokázala stejnou účinnost u GC a MVAC, nicméně GC je spojen s nižší toxicitou, a proto široce preferován (7). V další randomizované studii se ddMVAC ukázal být bezpečnější a účinnější než MVAC, přičemž oba tyto protokoly by měli být doplněny o růstové faktory (172). Pokud je cisplatina kontraindikována, může být nahrazena karboplatinou. Ve druhé linii mají své místo taxany, pemetrexed nebo vinflunin (31).

Nové metody molekulární biologie přinesly vzhled do etiopatogeneze onemocnění a vedly k vývoji nových léčebných přístupů, jako jsou imunoterapie nebo cílená léčba, které umožňují dlouho požadovanou individualizaci léčby. Po 30 letech relativní stagnace v léčbě metastatických nádorů byly v roce 2016 publikovány výsledky léčby inhibitory imunitních kontrolních bodů (checkpoint inhibitory) PD-1/PD-L1, které značně rozšířily možnosti paliativní léčby (173,174). Klinicky důležitý je poznatek, že pokud dojde k odpovědi na checkpoint inhibitory, tak ta bývá často dlouhodobá (175). V současnosti jsou standardní druhou linií léčby, u nemocných neschopných léčby cisplatinou se používají již v první linii, avšak pouze pokud exprimují PD-L1. V současnosti jsou očekávány výsledky dvou studií chemoterapie s checkpoint inhibitory IMvigor130 (PD-L1 inhibitor atezolizumab) a Keynote-361 (PD-1 inhibitor pembrolizumab), od nichž se očekává důkaz synergického efektu obou léčebných modalit na přežití a tyto studie by mohly mít dopad na volbu terapie v první linii. Nedávno prezentované průběžné výsledky studie IMvigor130 prokázaly prodloužení celkového přežití při kombinaci GC + atezolizumab ve srovnání se samotnou chemoterapií o 2,6 měsíce (medián OS 16,0 versus 13,4 měsíce). Při kombinační léčbě byla srovnatelná odpověď na léčbu 47%, resp. 44%, ale vyšší zastoupení kompletních odpovědí 13% versus 7% (176).

Odlíšným směrem se ubírá cílená léčba, která předpokládá identifikaci mutace nebo zvýšené exprese některých z genů zodpovědných za progresi onemocnění. V roce 2019 byla publikována první studie fáze 2 s inhibitorem FGFR (receptor fibroblastového růstového faktoru) erdafitinibem (177). U pacientů předléčených chemoterapií byla zaznamenána odpověď v 40% případů a byl dosažen medián přežití 13,8 měsíců. Dalším z možných přístupů je použití složených molekul (konjugátů) léčiva s protilátkou, které se vážou cíleně na nádorové antigeny a léčebný účinek je teoreticky omezený na samotný nádor s menší toxicitou a větším účinkem (178).

Z hlediska chirurgické léčby jsou v současnosti zkoumány možnosti lokální konsolidační léčby u nemocných s uzlinovými metastázemi v rámci multimodálního přístupu po předchozí systémové terapii, jak bude rozebráno dále v textu (179). Optimálními kandidáty jsou pacienti s limitovaným rozsahem postižení a s kompletní nebo alespoň částečnou odpovědí na chemoterapii. Slibnou indikací pro chirurgickou léčbu jsou metachronní solitární plicní metastázy, u těchto nemocných lze metastazektomií dosáhnout dlouhodobého přežití až v polovině případů (180,181). Luzzi *et al.* na

souboru 69 pacientů, z nichž 76% mělo solitární plicní metastázu, dosáhli 5-letého OS 52%, medián času do progresu byl 37 měsíců (181).

6.3.1 Regionální uzlinové metastázy (cN1-3)

Postižení pánevních uzlin v čase diagnózy (cN1-3) je spojeno s nepříznivou prognózou. V důsledku nedostatku randomizovaných studií, které by jasně prokázaly optimální postup, chybí dlouhodobě jasné doporučení léčby pro tuto klinickou situaci (31). I když byli tyto nemocní v minulosti v běžné klinické praxi často léčeni kombinací chemoterapie a radikální cystektomie s lymfadenektomií, historicky byli nabíráni pouze do klinických studií s paliativní CHT. Tato léčba dosáhla ve vybrané skupině nemocných v dobrém klinickém stavu 5letého celkového přežití 20% (7).

V současnosti tedy nemáme důkaz podložený randomizovanou studií, že lokální léčba má přínos v tomto stádiu onemocnění ve srovnání s paliativní CHT. Nicméně více retrospektivních studií poukazuje na efekt konsolidační cystektomie s LND, zejména u pacientů s minimálním uzlinovým postižením, kdy se pětileté CSS pohybuje až kolem 50 % (182,183). U pacientů s regionální lymfadenopatií nepanuje jednoznačná shoda na rozsahu LND. Obvykle se provádí po bifurkaci aorty a zahrnuje zevní ilické, vnitřní ilické, obturatorní, společné ilické a presakrální uzliny.

Co je důležité, z retrospektivních studií vyplývá, že samotná chirurgická léčba není postačující a v současnosti je optimální ji kombinovat s indukční CHT, kterou dosáhneme zmenšení primárního nádoru, ovlivnění mikrometastáz a následně pacient podstupuje konsolidační chirurgický zákrok (182,184). V největší retrospektivní studii Galsky *et al.* zhodnotili 1739 případů z americké National Cancer Database za období 2003-2012 a prokázali nejlepší přežití při kombinaci chirurgie a perioperační CHT (184). Pětileté OS pro samotnou CHT, samotnou cystektomii, kombinaci cystektomie s adjuvantní CHT a pro indukční CHT s cystektomií bylo 14%, 19%, 26% a 31%. Ve srovnání se samotnou CHT snižovala kombinace indukční CHT s cystektomií riziko úmrtí o 20% [HR 0,80 (95% CI: 0,66-0,97)]. Hermans *et al.* v holandské multicentrické studii popsali dosažení kompletní patologické odpovědi v 39% u cN1 a v 27% u cN2-3 po indukční CHT (182). Kombinace indukční CHT a cystektomie vedlo ke snížení rizika úmrtí o 53%. Negativními prediktory přežití bylo klinické stádium cT4 (HR 1,6) a větší uzlinové postižení cN2-3 (HR 1,6).

6.3.1.1 Změny v TNM klasifikaci

Osmé vydání TNM klasifikace reflektovalo výsledky retrospektivních studií, které demonstrovaly lepší prognózu, pokud jsou postiženy pouze uzliny na rozdíl od viscerálních metastáz (39). Přispěly k tomu i nedávné práce, které prokázaly slibné výsledky celkového přežití v případě regionální lymfadenopatie léčené indukční CHT a konsolidační cystektomií. Došlo k rozdělení stádia III a IV na podskupiny A a B. Co je nejdůležitější, postižení regionálních uzlin bylo přesunuto do stádia III a v rámci stádia IV bylo vyděleno postižení supraregionálních uzlin (stádium IVA) (185).

	TNM 7.vydání (2010)	TNM 8.vydání (2017)
Stádium I	T1 N0 M0	T1 N0 M0
Stádium II	T2 N0 M0	T2 N0 M0
Stádium IIIA	T3-4a N0 M0	T3-4a N0 M0
		T1-4a N1 M0
IIIB		T1-4a N2-3 M0
Stádium IVA	T4b nebo N1-3 nebo M1	T4b nebo M1a
IVB		M1b

Tab.5 Změny v TNM klasifikaci mezi 7. a 8. vydáním (39).

6.3.2 Supraregionální uzlinové metastázy (cM1a)

V poslední dekádě se ojediněle setkáváme s retrospektivním zhodnocením chirurgické léčby u malých souborů pacientů se supraregionální lymfadenopatií, postihující retroperitoneální uzliny v oblasti od bifurkace aorty kraniálně k renálním cévám (179). Jedná se o experimentální postup, jelikož opět nemáme k dispozici randomizovanou studii srovnávající výsledky se standardní paliativní CHT. Tato léčba je nabízená pouze vysoce selektované skupině pacientů s nejlepší odpovědí na chemoterapii, kteří dosáhli kompletní nebo minimálně částečné odpovědi, a je proto sporné, jestli by se jejich relativně vysoké pětileté CSS 24-36% lišilo i bez chirurgické léčby (186-188). DeVries *et al.* publikovali zkušenosti s léčbou 14 pacientů s kompletní nebo částečnou odpovědí na chemoterapii. Třileté CSS bylo 36 %, ale medián přežití pouze 10 měsíců i přes dobrou odpověď na CHT (186). Podobné výsledky uvádí Sweeney *et al.* na skupině 11 nemocných, kteří dosáhli 4-letého CSS 36% s mediánem přežití 14 měsíců (187). Největší soubor 61 pacientů léčených v 34 centrech publikoval v roce 2019 Necchi *et al.* Autoři při retrospektivním srovnání celkového přežití u 116 nemocných léčených samotnou CHT a 61 s konsolidační operací s retroperitoneální LND neprokázali přínos chirurgické léčby [HR 1,12 (95% CI: 0,68-1,84)] (189). Výsledky mohou být ovlivněny heterogenitou zkoumané populace a poskytnuté péče, spolehlivější data by přinesla pouze randomizovaná studie.

6.3.3 Vlastní příspěvek k problematice

Na našem pracovišti se dlouhodobě věnujeme chirurgické léčbě lokálně pokročilých nádorů močového měchýře. V případě klinického nálezu uzlinových metastáz byla historicky pacientům nabízená radikální cystektomie s lymfadenektomií a pacienti v dobrém zdravotním stavu, bez pooperačních komplikací, pokračovali adjuvantní CHT. Od roku 2010 jsme změnili přístup a pacientům je nabízená předoperační indukční CHT v protokolu 4 cyklů gemcitabinu a cisplatinu. Následnou konsolidační cystektomií s pánevní LND po bifurkaci aorty podstoupili všichni nemocní, u kterých nedošlo k progresi onemocnění během chemoterapie.

V našich analýzách jsme zhodnotili jak zkušenosti s multimodální léčbou na vlastním souboru nemocných s regionální a supraregionální lymfadenopatií, tak aktuální stav péče na celorepublikové úrovni podle dat z Národního onkologického registru. V roce 2018 jsme publikovali krátkodobé onkologické výsledky u 25 pacientů v práci „**Clinically node-positive bladder cancer: oncological results of induction chemotherapy and consolidative surgery**“ (příloha 10.10) (190). Při interpretaci našich výsledků jsme byli limitováni malým rozsahem souboru, nicméně jsme ukázali, že část nemocných, zejména s minimálním uzlinovým postižením, se může vyléčit kombinací indukční CHT a konsolidační cystektomie s LND. Tříleté CSS a PFS dosáhlo 52% a 39%, což odpovídá jiným publikovaným pracím (186-188). Prognóza nemocných se odvíjela od rozsahu uzlinového postižení a odpovědi na chemoterapii. Tříleté PFS bylo 56% u cN1 na rozdíl od 33% u cN2-3 onemocnění. Kompletní patologickou odpověď (ypT0N0) jsme zaznamenaly u 28% nemocných, což je v souladu s frekvencí 15-30% v jiných studiích. Kompletní uzlinová odpověď (ypN0) byla dosažena dokonce u 40% pacientů. Pacienti s kompletní odpovědí (ypT0N0) měli nejlepší prognózu s 3letým CSS 83%. Vzhledem k malému souboru nebylo v univariátní analýze dosaženo signifikantních výsledků, nicméně byl patrný trend k snížení rizika recidivy o 79% při dosažení kompletní odpovědi (HR 0,21; p=0,13). Naopak, přetrvávání uzlinových metastáz po CHT významně riziko recidivy po operaci zvyšuje (HR 2,94; p=0,10).

Dosažení klinické kompletní odpovědi na chemoterapii podle zobrazovacích metod je velice nespolehlivé a neznamena, že pacienti již nepotřebují konsolidační chirurgickou léčbu. V naší práci měla třetina nemocných s radiologickou kompletní odpovědí nález reziduálního nádoru v definitivním preparátu. V budoucnu zlepšení zobrazovacích metod může vést k lepší selekci nemocných, kteří budou mít prospěch z chirurgické léčby.

V současnosti máme odléčených 43 pacientů, z nichž 5 nepodstoupilo konsolidační operaci pro rychlou progresi. Je pravděpodobné, že i okamžitá operace bez předchozí CHT by u těchto nemocných nemohla změnit průběh onemocnění, a z tohoto hlediska představuje indukční CHT i způsob selekce nemocných, kteří budou nejvíce profitovat z lokální léčby.

V práci „**Comparison of different treatment modalities outcomes in clinically node-positive bladder cancer: analysis of a population-based cancer registry**“ (příloha 10.1) (6) jsme zkoumali, jaký typ léčby podstupují pacienti v rámci celé České republiky a jaké jsou trendy. Analyzovali jsme data z Národního onkologického registru za období 1996-2015 a identifikovali jsme 1410 případů s nádorem močového měchýře cN1-3M0. Po vyřazení pacientů, kteří nepodstoupili žádnou léčbu kvůli progresi onemocnění, nebo u kterých chyběla data, zůstalo k zhodnocení 661 případů. Z tohoto počtu 234 mělo kombinaci cystektomie a CHT, 195 mělo samotnou CHT a 232 pouze cystektomii. Pětileté celkové přežití bylo u jednotlivých skupin 25,4%, 21,7% a 12,1%, s mediány přežití 23, 17 a 10 měsíců. V multivariátní analýze byly negativními prediktory přežití věk nad 60 let (HR 1,29; p=0,011) a klinické stádium cT3-4 (HR 1,39; p=0,002). Ve srovnání se samotnou CHT snížila kombinační léčba riziko úmrtí o 21% (p=0,044). Při analýze dat podle pětiletých období byl patrný trend k častějšímu zastoupení kombinační léčby v posledním sledovaném období (49 % nemocných) ve srovnání s obdobím 1996-2000 (10 %) a tyto údaje odpovídají postupům podle aktuálních doporučení.

Co bylo zajímavým zjištěním, pouze 44% operovaných pacientů mělo provedenou pánevní LND, která by měla být standardní součástí operace. Při hodnocení efektu LND se v univariátní analýze ukázalo, že kombinační léčba snižuje riziko úmrtí oproti samotné CHT pouze v případě provedené LND (HR 0,69; $p=0,012$). Pokud nebyla provedena LND, tak tento efekt vymizel (HR 0,94; $p=0,62$). Pětileté celkové přežití stouplu u kombinační léčby při provedené LND na 31,9% a bylo významně vyšší než 21,7% při samotné CHT. Tyto výsledky jsou velice podobné výsledkům již zmíněné americké registrové studie, kde dosáhlo 5leté OS při kombinační léčbě s předoperační CHT 32%.

Oproti jiným registrovým studiím jsme měli dostupná data o nádorově-specifickém přežití. Celkem zemřelo během sledování 507 nemocných (77%), z nichž 83% na karcinom měchýře. Pětileté CSS bylo 40% v případě kombinační léčby s LND, 30,5% při samotné CHT a 18,2% při samotné cystektomii. Kombinační léčba s LND snížila riziko úmrtí na nádor měchýře o 30% ve srovnání se samotnou CHT (HR 0,70; $p=0,035$). Pokud nemocní nejsou schopni podstoupit chemoterapii, jejich prognóza je velice nepříznivá. Limitací naší práce byla skutečnost, že data z NOR neobsahují některé typy údajů, a proto jsme nemohli posoudit efekt různých protokolů CHT, komorbidit, rozsahu LND nebo typu nemocnic na onkologické výsledky.

V současnosti se zdá, že nejlepším léčebným postupem u této skupiny nemocných je radikální cystektomie s perioperační CHT, což je i trendem v České republice v posledních 5 letech. Na druhé straně předoperační CHT je stále málo využívána i přes jasná mezinárodní doporučení. Jejeho většího využití lze dosáhnout pouze lepší edukací a zejména úzkou spoluprací urologů a onkologů. V blízké době můžou výsledky studií s předoperační léčbou checkpoint inhibitory zásadně změnit terapeutické postupy.

Pacientům se supraregionální lymfadenopatií v dobrém klinickém stavu nabízíme od roku 2010 indukční CHT, po které v případě dosažení kompletní nebo parciální odpovědi přistupujeme ke konsolidační cystektomii s pánevní a retroperitoneální LND. Předpokladem je malé uzlinové postižení retroperitonea a jistota resektability reziduálního onemocnění. Samotná retroperitoneální LND může být komplikována desmoplastickou reakcí po proběhlé CHT. Jedná se o relativně zřídka klinickou situaci a bez multicentrického hodnocení není možné dosáhnout větších počtu pacientů k zhodnocení. Krátkodobé onkologické výsledky u této skupiny nemocných jsme publikovali v již zmiňované práci „**Clinically node-positive bladder cancer: oncological results of induction chemotherapy and consolidative surgery**“ (příloha 10.10) (190). Medián odstraněných uzlin při pánevní a retroperitoneální LND byl 36 (21-40). Tříleté CSS dosáhlo optimistických 40%, což je srovnatelné s publikovanými pracemi (Tab.6), nicméně interpretace musí být opatrná vzhledem k velikosti souboru a s vědomím, že medián doby do progresu byl 8 měsíců.

	N	3leté CSS
Sweeney et al	11	36% ¹
De Vries et al	14	36%
Liu et al	13	42% ²
MOÚ	7	39%

Tab.6 Srovnání výsledků u pacientů s cM1a léčených pomocí indukční chemoterapie a konsolidační cystektomie s lymfadenektomií. MOÚ – Masarykův onkologický ústav, CSS – nádorově-specifické přežití. ¹4leté CSS, ²2leté CSS.

V současnosti má soubor 7 pacientů, aktuální 3leté CSS je 39% (95%CI 9-77). U 6 ze 7 nemocných jsme zaznamenali progresi onemocnění, jeden pacient je v kompletní remisi po imunoterapii 66 měsíců, další přežívá 40 měsíců při paliativní CHT. U jedné pacientky jsme nezaznamenali recidivu po 20 měsících. U těchto nemocných se jedná o pokročilé systémové onemocnění, proto u nich bez zásadní odpovědi na systémovou léčbu nelze očekávat benefit od konsolidační chirurgické léčby. S nástupem moderní imunoterapie se může změnit role konsolidační chirurgie.

7 Závěr

Nádory močového měchýře jsou z hlediska jejich biologie a klinického průběhu velice heterogenní skupinou onemocnění. Pro neinvazivní nádory je typická vysoká prevalence a frekvence recidiv. V současnosti se hledají nové metody vizualizace nádorů a neinvazivních způsobů monitoringu onemocnění. U invazivních nádorů je v čase diagnózy přibližně u poloviny případů přítomné mikrometastatické onemocnění. Velikou důležitost má proto perioperační systémová léčba, z níž nejsilnější důkazy o přínosu máme u neoadjuvantní chemoterapie. Karcinom měchýře má všechny předpoklady pro dobrou účinnost imunoterapie, jelikož ze solidních nádorů má jednu z nejvyšších mutačních náloží a dobrou imunogenicitu. V blízké době budou ukončeny studie s perioperační imunoterapií, které stanoví její místo v léčebném algoritmu.

Velká očekávání jsou kladena do rodící se molekulární klasifikace karcinomu měchýře, která by mohla mít i prediktivní roli a napomáhat při volbě systémové léčby. Vývoj močových biomarkerů usnadní monitoring onemocnění u neinvazivních nádorů a povede k alespoň částečnému snížení frekvence kontrolních cystoskopií.

U metastatického onemocnění máme po dlouhém období stagnace nové možnosti léčby, jakou jsou checkpoint inhibitory a cílená léčba. Nemocní s metastatickým postižením regionálních uzlin mají pravděpodobně nejlepší výsledky při kombinaci indukční chemoterapie a konsolidační cystektomie. U pokročilých nádorů se jeví velice slibně nové metody tekuté biopsie, například vyšetření volné nádorové DNA v krvi, které může mít využití v monitoringu onemocnění a při individualizaci léčby díky vyšetření genových mutací.

8 Citace

1. Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Bladder cancer incidence and mortality: a global overview and recent trends. *Eur Urol*. 2017 Jan;71(1):96-108.
2. Fernández MI, Brausi M, Clark PE, et al. Epidemiology, prevention, screening, diagnosis, and evaluation: update of the ICUD-SIU joint consultation on bladder cancer. *World J Urol* 2019; 37(1): 3-13.
3. Cumberbatch MGK, Jubber I, Black PC, et al. Epidemiology of bladder cancer: a systematic review and contemporary update of risk factors in 2018. *Eur Urol* 2018; 74(6): 784-795.
4. Dušek L, Mužík J, Kubásek M, et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, [2005], [cit. 2019-10-20]. Dostupný z WWW: <http://www.svod.cz>. Verze 7.0 [2007], ISSN 1802–8861.
5. Babjuk M, Burger M, Compérat EM, et al. European Association of Urology Guidelines on Non-muscle-invasive bladder cancer (TaT1 and carcinoma in situ) - 2019 Update. *Eur Urol* 2019; 76: 639-657.
6. Staník M, Poprach A, Zapletalová M, et al. Comparison of different treatment modalities outcomes in clinically node-positive bladder cancer: analysis of a population-based cancer registry. *Clin Genitourin Cancer*. 2019; 17: e759-e767.
7. Von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT, et al. Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4602-4608.
8. Galsky MD, Stensland K, Sfakianos JP, et al. Comparative effectiveness of treatment strategies for bladder cancer with clinical evidence of regional lymph node involvement. *J Clin Oncol* 2016; 34: 2627-2635.
9. Huang D, Matin SF, Lawrentschuk N, Roupret M. Systematic review: an update on the spectrum of urological malignancies in Lynch syndrome. *Bladder Cancer* 2018; 4: 261-268.
10. Van der Post RS, Kiemeny LA, Ligtenberg MJ et al. Risk of urothelial bladder cancer in Lynch syndrome is increased, in particular among MSH2 mutation carriers. *J Med Genet* 2010; 47: 464-470.
11. Knowles MA, Hurst CD. Molecular biology of bladder cancer: new insights into pathogenesis and clinical diversity. *Nat Rev Cancer* 2015; 15: 25-41.
12. Audenet F, Attalla K, Sfakianos JP. The evolution of bladder cancer genomics: What have we learned and how can we use it? *Urol Oncol* 2018; 36: 313-320.
13. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature* 2014; 507: 315–322.
14. Choi W, Porten S, Kim S, et al. Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy. *Cancer Cell* 2014; 25: 152–165.

15. Sjobahl G, Lovgren K, Lauss M, et al. Toward a molecular pathologic classification of urothelial carcinoma. *Am J Pathol* 2013; 183: 681–691.
16. Damrauer JS, Hoadley KA, Chism DD, et al. Intrinsic subtypes of high-grade bladder cancer reflect the hallmarks of breast cancer biology. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 2014; 111: 3110–3115.
17. Rebouissou S, Bernard-Pierrot I, de Reynies A, et al. EGFR as a potential therapeutic target for a subset of muscle invasive bladder cancers presenting a basal-like phenotype. *Sci Transl Med* 2014; 6: 244ra291.
18. Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, et al. Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell* 2017; 171: 540–56.e25.
19. Kamoun A, Reyniès A, Allory Y, et al. A consensus molecular classification of muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2019 Sep 26. pii: S0302-2838(19)30695-5. doi: 10.1016/j.eururo.2019.09.006.
20. Seiler R, Ashab HAD, Erho N, et al. Impact of molecular subtypes in muscle-invasive bladder cancer on predicting response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Eur Urol* 2017; 72: 544–554.
21. Mariathasan S, Turley SJ, Nickles D, et al. TGF β attenuates tumour response to PD-L1 blockade by contributing to exclusion of T cells. *Nature* 2018; 554: 544–548.
22. Loriot Y, Necchi A, Park SH, et al. Erdafitinib in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 381: 338-348.
23. Hurst CD, Alder O, Platt FM, et al. Genomic subtypes of non-invasive bladder cancer with distinct metabolic profile and female gender bias in KDM6A mutation frequency. *Cancer Cell* 2017; 32: 701–15.e7.
24. Hedegaard J, Lamy P, Nordentoft I, et al. Comprehensive transcriptional analysis of early-stage urothelial carcinoma. *Cancer Cell* 2016; 30: 27–42.
25. Patschan O, Sjobahl G, Chebil G, et al. A molecular pathologic framework for risk stratification of stage T1 urothelial carcinoma. *Eur Urol* 2015; 68: 824–832.
26. Catto JW, Alcaraz A, Bjartell AS, et al. MicroRNA in prostate, bladder, and kidney cancer: a systematic review. *Eur Urol* 2011; 59: 671-681.
27. Mlcochova H, Hezova R, Stanik M, Slaby O. Urine microRNAs as potential noninvasive biomarkers in urologic cancers. *Urol Oncol* 2014; 32: 41.e1-9.
28. Lamouille S, Subramanyam D, Blelloch R, Derynck R. Regulation of epithelial–mesenchymal and mesenchymal–epithelial transitions by microRNAs. *Curr Opin Cell Bio* 2013; 25: 200–207.
29. Catto JW, Miah S, Owen HC, et al. Distinct microRNA alterations characterize high and low grade bladder cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 8472-8481.

30. Iliev R, Kleinova R, Juracek J, et al. Overexpression of long non-coding RNA TUG1 predicts poor prognosis and promotes cancer cell proliferation and migration in high-grade muscle-invasive bladder cancer. *Tumour Biol* 2016; 37: 13385-13390.
31. Witjes J, Lebre T, Compérat EM, et al. Updated 2016 EAU guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer. *Eur Urol* 2017; 71: 462-475.
32. Panebianco V, Narumi Y, Altun E, et al. Multiparametric magnetic resonance imaging for bladder cancer: Development of VI-RADS (Vesical Imaging-Reporting And Data System). *Eur Urol* 2018; 74: 294-306.
33. Huang L, Kong Q, Liu Z, Wang J, Kang Z, Zhu Y. Diagnostic Value of MR Imaging in Differentiating T Staging of Bladder Cancer: A Meta-Analysis. *Radiology* 2018; 286: 502-511.
34. Zattoni F, Incerti E, Dal Moro F, et al. 18F-FDG PET/CT and urothelial carcinoma: Impact on management and prognosis - a multicenter retrospective study. *Cancers (Basel)* 2019; 11: 700.
35. Van de Putte EEF, Vegt E, Mertens LS, et al. FDG-PET/CT for response evaluation of invasive bladder cancer following neoadjuvant chemotherapy. *Int Urol Nephrol* 2017; 49: 1585-1591.
36. Drejer D, Béji S, Munk Nielsen A, et al. Clinical relevance of narrow-band imaging in flexible cystoscopy: the DaBlaCa-7 study. *Scand J Urol* 2017; 51: 120-123.
37. Chou R, Selph S, Buckley DI, et al. Comparative effectiveness of fluorescent versus white light cystoscopy for initial diagnosis or surveillance of bladder cancer on clinical outcomes: Systematic review and meta-analysis. *J Urol* 2017; 197: 548-558.
38. Mowatt G, N'Dow J, Vale L, et al. Photodynamic diagnosis of bladder cancer compared with white light cystoscopy: Systematic review and meta-analysis. *Int J Technol Assess Health Care* 2011; 27: 3-10.
39. Amin MB, Edge SB, Greene F, et al, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8th ed. New York, NY: Springer International Publishing; 2017.
40. Barkan GA, Wojcik EM, Nayar R, et al. The Paris System for reporting urinary cytology: The quest to develop a standardized terminology. *Acta Cytol* 2016; 60: 185-197.
41. Yafi FA, Brimo F, Steinberg J, et al. Prospective analysis of sensitivity and specificity of urinary cytology and other urinary biomarkers for bladder cancer. *Urol Oncol* 2015; 33: 66.e25-31.
42. Chou R, Gore JL, Buckley D, et al. Urinary biomarkers for diagnosis of bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med* 2015; 163: 922-931.
43. Mbeutcha A, Lucca I, Mathieu R, Lotan Y, Shariat SF. Current status of urinary biomarkers for detection and surveillance of bladder cancer. *Urol Clin North Am* 2016; 43: 47-62.
44. Tan WS, Tan WP, Tan MY, et al. Novel urinary biomarkers for the detection of bladder cancer: A systematic review. *Cancer Treat Rev* 2018; 69: 39-52.

45. Descotes F, Kara N, Decaussin-Petrucci M, et al. Non-invasive prediction of recurrence in bladder cancer by detecting somatic TERT promoter mutations in urine. *Br J Cancer* 2017; 117: 583–7.
46. Couffignal C, Desgrandchamps F, Mongiat-Artus P, et al. The diagnostic and prognostic performance of urinary FGFR3 mutation analysis in bladder cancer surveillance: a prospective multicenter study. *Urology* 2015; 86: 1185–1190.
47. O’Sullivan P, Sharples K, Dalphin M, et al. A multigene urine test for the detection and stratification of bladder cancer in patients presenting with hematuria. *J Urol* 2012; 188: 741–747.
48. Lotan Y, O’Sullivan P, Raman JD, et al. Clinical comparison of noninvasive urine tests for ruling out recurrent urothelial carcinoma. *Urol Oncol* 2017; 35: 531.e15-531.e22.
49. Ribal MJ, Mengual L, Lozano JJ, et al. Gene expression test for the non-invasive diagnosis of bladder cancer: A prospective, blinded, international and multicenter validation study. *Eur J Cancer* 2016; 54: 131-138.
50. Feber A, Dhami P, Dong L, et al. UroMark—a urinary biomarker assay for the detection of bladder cancer. *Clin Epigenetics* 2017; 9: 8.
51. Tan WS, Feber A, Dong L, et al. DETECT I & DETECT II: a study protocol for a prospective multicentre observational study to validate the UroMark assay for the detection of bladder cancer from urinary cells. *BMC Cancer* 2017; 17: 767.
52. van Kessel KE, Beukers W, Lurkin I, et al. Validation of a DNA methylation-mutation urine assay to select patients with hematuria for cystoscopy. *J Urol* 2017; 197: 590-595.
53. Juracek J, Peltanova B, Dolezel J, et al. Genome-wide identification of urinary cell-free microRNAs for non-invasive detection of bladder cancer. *J Cell Mol Med* 2018; 22: 2033-2038.
54. Mengual L, Lozano JJ, Ingelmo-Torres M, et al. Using microRNA profiling in urine samples to develop a non-invasive test for bladder cancer. *Int J Cancer* 2013; 133: 2631-2641.
55. Brausi M, Collette L, Kurth K, et al. Variability in the recurrence rate at first follow-up cystoscopy after TUR in stage Ta T1 transitional cell carcinoma of the bladder: a combined analysis of seven EORTC studies. *Eur Urol* 2002; 41: 523-531.
56. Kramer MW, Rassweiler JJ, Klein J, et al. En bloc resection of urothelium carcinoma of the bladder (EBRUC): a European multicenter study to compare safety, efficacy, and outcome of laser and electrical en bloc transurethral resection of bladder tumor. *World J Urol* 2015; 33: 1937-1943.
57. Kramer MW, Altieri V, Hurle R, et al. Current evidence of transurethral en-bloc resection of nonmuscle invasive bladder cancer. *Eur Urol Focus*, 2017; 3: 567-576.
58. Lerner SP, Goh A. Novel endoscopic diagnosis for bladder cancer. *Cancer* 2015; 121: 169-178.

59. Schmidbauer J, Remzi M, Klätte T, et al. Fluorescence cystoscopy with high-resolution optical coherence tomography imaging as an adjunct reduces false-positive findings in the diagnosis of urothelial carcinoma of the bladder. *Eur Urol* 2009; 56: 914-919.
60. Chen SP, Liao JC. Confocal laser endomicroscopy of bladder and upper tract urothelial carcinoma: A new era of optical diagnosis? *Curr Urol Rep* 2014; 15: 437.
61. Liem EI, Freund JE, Savci-Heijink CD, et al. Validation of confocal laser endomicroscopy features of bladder cancer: the next step towards real-time histologic grading. *Eur Urol Focus* 2018; Jul 19. pii: S2405-4569(18)30178-0. doi: 10.1016/j.euf.2018.07.012.
62. Gontero, P, Sylvester R, Pisano F, et al. The impact of re-transurethral resection on clinical outcomes in a large multicentre cohort of patients with T1 high-grade/Grade 3 bladder cancer treated with bacille Calmette-Guerin. *BJU Int* 2016; 118: 44-52.
63. Klaassen Z, Kamat AM, Kassouf W, et al. Treatment strategy for newly diagnosed T1 high-grade bladder urothelial carcinoma: new insights and updated recommendations. *Eur Urol* 2018; 74: 597-608.
64. Cumberbatch MGK, Foerster B, Catto JWF, et al. Repeat transurethral resection in non-muscle-invasive bladder cancer: a systematic review. *Eur Urol* 2018; 73: 925-933.
65. Divrik RT, Yildirim U, Zorlu F, et al. The effect of repeat transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with T1 tumors of the bladder who received intravesical mitomycin: a prospective, randomized clinical trial. *J Urol* 2006; 175: 1641-1644.
66. Sfakianos JP, Kim PH, Hakimi AA, et al. The effect of restaging transurethral resection on recurrence and progression rates in patients with nonmuscle invasive bladder cancer treated with intravesical bacillus Calmette-Guerin. *J Urol* 2014; 191: 341-345.
67. Sylvester RJ, van der Meijden APM, Oosterlinck W, et al. Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from seven EORTC trials. *Eur Urol* 2006; 49: 466-477.
68. Fernandez-Gomez J, Madero R, Solsona E, et al. Predicting nonmuscle invasive bladder cancer recurrence and progression in patients treated with bacillus Calmette-Guerin: the CUETO scoring model. *J Urol* 2009; 182: 2195-2203.
69. Cambier S, Sylvester RJ, Collette L, et al. EORTC nomograms and risk groups for predicting recurrence, progression, and disease-specific and overall survival in non-muscle-invasive stage Ta-T1 urothelial bladder cancer patients treated with 1-3 years of maintenance bacillus calmette-guerin. *Eur Urol* 2016; 69: 60-69.
70. Soukup V, Čapoun O, Cohen D, et al. Risk stratification tools and prognostic models in non-muscle-invasive bladder cancer: a critical assessment from the European Association of Urology Non-muscle-invasive bladder cancer guidelines panel. *Eur Urol Focus* 2018 Nov 20. pii: S2405-4569(18)30337-7. doi: 10.1016/j.euf.2018.11.005. [Epub ahead of print]

71. Dalbagni G, Vora K, Kaag M, et al. Clinical outcome in a contemporary series of restaged patients with clinical T1 bladder cancer. *Eur Urol* 2009; 56: 903-910.
72. van de Putte EF, Otto W, Hartmann A, et al. Metric substage according to micro and extensive lamina propria invasion improves prognostics in T1 bladder cancer. *Urol Oncol* 2018; 36: 361.e7-361.e13.
73. Sylvester RJ, Oosterlinck W, Holmang S, et al. Systematic review and individual patient data meta-analysis of randomized trials comparing a single immediate instillation of chemotherapy after transurethral resection with transurethral resection alone in patients with stage pTa-pT1 urothelial carcinoma of the bladder: which patients benefit from the instillation? *Eur Urol* 2016; 69: 231-244.
74. Huncharek M, McGarry R, Kupelnick B, et al. Impact of intravesical chemotherapy on recurrence rate of recurrent superficial transitional cell carcinoma of the bladder: results of a meta-analysis. *Anticancer Res* 2001; 21: 765-769.
75. Malmström PU, Sylvester RJ, Crawford DE, et al. An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guerin for non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2009; 56: 247-256.
76. Böhle A, Jocham D, Bock PR, et al. Intravesical bacillus Calmette-Guerin versus mitomycin C for superficial bladder cancer: a formal meta-analysis of comparative studies on recurrence and toxicity. *J Urol* 2003; 169: 90-95
77. Sylvester RJ, van der Meijden AP, Lamm DL, et al. Intravesical bacillus Calmette-Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol* 2002; 168: 1964-1970.
78. Douglass L, Schoenberg M. The future of intravesical drug delivery for non-muscle invasive bladder cancer. *Bladder Cancer* 2016; 2: 285-292.
79. Arends TJ, Nativ O, Maffezzini M, et al. results of a randomised controlled trial comparing intravesical chemohyperthermia with mitomycin C versus bacillus calmette-guérin for adjuvant treatment of patients with intermediate- and high-risk non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2016; 69: 1046-1052.
80. van Valenberg FJP, Kajtazovic A, Canepa G, et al. Intravesical radiofrequency-induced chemohyperthermia for carcinoma *in situ* of the urinary bladder: a retrospective multicentre study. *Bladder Cancer* 2018; 4: 365-376.
81. Doyle E, Crew J, Mostafid H, et al. Urothelial cancer: a narrative review of the role of novel immunotherapeutic agents with particular reference to the management of non-muscle-invasive disease. *BJU Int* 2019; 123: 947-958.
82. Balar AV, Kulkarni AV, Uchio EM, et al. Keynote 057: Phase II trial of Pembrolizumab (pembro) for patients (pts) with high-risk (HR) nonmuscle invasive bladder cancer (NMIBC) unresponsive to bacillus calmette-guérin (BCG). *J Clin Oncol* 2019; 37 (7 suppl.): 350.

83. Nykopp TK, Batista da Costa J, Mannas M, Black PC. Current clinical trials in non-muscle invasive bladder cancer. *Curr Urol Rep* 2018; 19: 101-113.
84. Shore ND, Boorjian SA, Canter DJ, et al. Intravesical rAd-IFN α /Syn3 for patients with high-grade, bacillus Calmette-Guerin-refractory or relapsed non-muscle-invasive bladder cancer: a phase II randomized study. *J Clin Oncol* 2017; 35: 3410–3416.
85. Soria F, Krabbe LM, Todenhöfer T, et al. Molecular markers in bladder cancer. *World J Urol* 2019; 37: 31-40.
86. Kavalieris L, O’Sullivan PJ, Frampton C, et al. Performance characteristics of a multigene urine biomarker test for monitoring for recurrent urothelial carcinoma in a multicenter study. *J Urol* 2017; 197: 1419-1426.
87. Valenberg FJPV, Hiar AM, Wallace E, et al. Prospective validation of an mRNA-based urine test for surveillance of patients with bladder cancer. *Eur Urol* 2019; 75: 853-860.
88. Witjes JA, Morote J, Cornel EB, et al. Performance of the bladder Epicheck™ methylation test for patients under surveillance for non-muscle-invasive bladder cancer: results of a multicenter, prospective, blinded clinical trial. *Eur Urol Oncol* 2018; 1: 307-313.
89. Tabayoyong W, Kamat AM. Current use and promise of urinary markers for urothelial cancer. *Curr Urol Rep* 2018; 19: 96-103.
90. Fritsche HM, Burger M, Svatek RS, et al. Characteristics and outcomes of patients with clinical T1 grade 3 urothelial carcinoma treated with radical cystectomy: results from an international cohort. *Eur Urol* 2010; 57: 300-309.
91. Capitanio U, Isbarn H, Shariat SF, et al. Partial cystectomy does not undermine cancer control in appropriately selected patients with urothelial carcinoma of the bladder: A population-based matched analysis. *Urology* 2009; 74: 858-864.
92. Wo JY, Shipley WU, Dahl DM, et al. The results of concurrent chemo-radiotherapy for recurrence after treatment with bacillus Calmette-Guerin for non-muscle invasive bladder cancer: is immediate cystectomy always necessary? *BJU Int* 2009; 104: 179–183.
93. Weiss C, Wolze C, Engehausen DG, et al. Radiochemotherapy after transurethral resection for high-risk T1 bladder cancer: An alternative to intravesical therapy or early cystectomy? *J Clin Oncol* 2006; 24: 2318-2324.
94. Harland SJ, Kynaston H, Grigor K, et al. A randomized trial of radical radiotherapy for the management of pT1G3 NXM0 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 2007; 178: 807-813.
95. Xylinas E, Kent M, Kluth L, et al. Accuracy of the EORTC risk tables and of the CUETO scoring model to predict outcomes in non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Br J Cancer* 2013; 109: 1460–1466.

96. Vedder MM, Márquez M, de Bekker-Grob EW, et al. Risk prediction scores for recurrence and progression of non-muscle invasive bladder cancer: an international validation in primary tumours. *PLoS One* 2014; 9: e96849.
97. Juráček J, Staník M, Veselá P, Fedorko M, Doležel J, Slabý O. Tumor expression of miR-34a-3p is an independent predictor of recurrence in non-muscle-invasive bladder cancer and promising additional factor to improve predictive value of EORTC nomogram. *Urol Oncol* 2019; 37: 184.e1-184.e7.
98. van Rhijn BW, Zuiverloon TC, Vis AN, et al. Molecular grade (FGFR3/ MIB-1) and EORTC risk scores are predictive in primary non-muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2010; 58: 433–441.
99. Cha Y, Kim N, Park C, Lee I, Kim H, Yook J. MiRNA-34 intrinsically links p53 tumor suppressor and Wnt signaling. *Cell Cycle* 2012; 11: 1273–1281.
100. Stein JP, Lieskovsky G, Cote R, et al. Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer: Long-term results in 1,054 patients. *J Clin Oncol* 2001; 19: 666–675.
101. Hautmann RE, de Petriconi RC, Pfeiffer C, Volkmer BG. Radical cystectomy for urothelial carcinoma of the bladder without neoadjuvant or adjuvant therapy: long-term results in 1100 patients. *Eur Urol* 2012; 61: 1039-1047.
102. Madersbacher S, Hochreiter W, Burkhard F, et al. Radical cystectomy for bladder cancer today--a homogeneous series without neoadjuvant therapy. *J Clin Oncol* 2003. 21: 690-696.
103. Bruins HM, Veskimäe E, Hernandez V, et al. The impact of the extent of lymphadenectomy on oncologic outcomes in patients undergoing radical cystectomy for bladder cancer: a systematic review. *Eur Urol* 2014; 66: 1065-1077.
104. Skinner DG. Management of invasive bladder cancer: a meticulous pelvic node dissection can make a difference. *J Urol* 1982; 128: 34–36.
105. Gschwend JE, Heck MM, Lehmann J, et al. Extended versus limited lymph node dissection in bladder cancer patients undergoing radical cystectomy: survival results from a prospective, randomized trial. *Eur Urol* 2019; 75: 604-611.
106. Shabsigh A, Korets R, Vora KC, et al. Defining early morbidity of radical cystectomy for patients with bladder cancer using a standardized reporting methodology. *Eur Urol* 2009; 55: 164-174.
107. Hautmann RE, de Petriconi RC, Volkmer BG. Lessons learned from 1,000 neobladders: the 90-day complication rate. *J Urol* 2010; 184: 990-994.
108. Johar RS, Hayn MH, Stegemann AP, et al. Complications after robot-assisted radical cystectomy: results from the International Robotic Cystectomy Consortium. *Eur Urol* 2013; 64: 52-57.
109. Marqueeen KE, Waingankar N, Sfakianos JP, et al. Early Mortality in Patients With Muscle-Invasive Bladder Cancer Undergoing Cystectomy in the United States. *JNCI Cancer Spectr* 2018; 2: pky075.
110. Comploj E, West J, Mian M, et al. Comparison of complications from radical cystectomy between old-old versus oldest-old patients. *Urol Int* 2015; 94: 25-30.

111. Bochner BH, Dalbagni G, Marzouk KH, et al. Randomized trial comparing open radical cystectomy and robot-assisted laparoscopic radical cystectomy: oncologic outcomes. *Eur Urol* 2018; 74: 465-471.
112. Parekh DJ, Reis IM, Castle EP, et al. Robot-assisted radical cystectomy versus open radical cystectomy in patients with bladder cancer (RAZOR): an open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet* 2018; 391: 2525-2536.
113. Catto JWF, Khetrpal P, Ambler G, et al. Robot-assisted radical cystectomy with intracorporeal urinary diversion versus open radical cystectomy (iROC): protocol for a randomised controlled trial with internal feasibility study. *BMJ Open* 2018; 8: e020500.
114. Veskimäe E, Neuzillet Y, Rouanne M, et al. Systematic review of the oncological and functional outcomes of pelvic organ-preserving radical cystectomy (RC) compared with standard RC in women who undergo curative surgery and orthotopic neobladder substitution for bladder cancer. *BJU Int* 2017; 120: 12-24.
115. Longo N, Imbimbo C, Fusco F, et al. Complications and quality of life in elderly patients with several comorbidities undergoing cutaneous ureterostomy with single stoma or ileal conduit after radical cystectomy. *BJU Int* 2016; 118: 521-526.
116. Bachour K, Faiena I, Salmasi A, et al. Trends in urinary diversion after radical cystectomy for urothelial carcinoma. *World J Urol* 2018; 36: 409-416.
117. Faba OR, Tyson MD, Artibani W, et al. Update of the ICUD-SIU International Consultation on Bladder Cancer 2018: urinary diversion. *World J Urol* 2019; 37: 85-93.
118. Lee RK, Abol-Enein H, Artibani W, et al. Urinary diversion after radical cystectomy for bladder cancer: options, patient selection, and outcomes. *BJU Int* 2014; 113: 11-23.
119. Gilja I, Kovacic M, Radej M et al. The sigmoidorectal pouch (Mainz pouch II). *Eur Urol* 1996; 29: 210-215.
120. Christensen E, Birkenkamp-Demtröder K, Sethi H, et al. Early detection of metastatic relapse and monitoring of therapeutic efficacy by ultra-deep sequencing of plasma cell-free dna in patients with urothelial bladder carcinoma. *J Clin Oncol* 2019; 37: 1547-1557.
121. Abrahamsson J, Aaltonen K, Engilbertsson H, et al. Circulating tumor cells in patients with advanced urothelial carcinoma of the bladder: Association with tumor stage, lymph node metastases, FDG-PET findings, and survival. *Urol Oncol* 2017; 35: 606.e9-606.e16.
122. Huo J, Ray-Zack MD, Shan Y, et al. Discerning patterns and quality of neoadjuvant chemotherapy use among patients with muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol Oncol* 2019; 2: 497-504.
123. Reardon ZD, Patel SG, Zaid HB, et al. Trends in the use of perioperative chemotherapy for localized and locally advanced muscle-invasive bladder cancer: a sign of changing tides. *Eur Urol* 2015; 67: 165-170.

124. Leow JJ, Bedke J, Chamie K, et al. SIU-ICUD consultation on bladder cancer: treatment of muscle-invasive bladder cancer. *World J Urol* 2019; 37: 61-83.
125. Meeks JJ, Bellmunt J, Bochner BH, et al. A systematic review of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2012; 62: 523–533.
126. Chang SS, Hassan JM, Cookson MS, et al. Delaying radical cystectomy for muscle invasive bladder cancer results in worse pathological stage. *J Urol* 2003; 170: 1085–1087.
127. Advanced Bladder Cancer (ABC) Meta-analysis Collaboration. Neoadjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: update of a systematic review and meta-analysis of individual patient data advanced bladder cancer (ABC) meta-analysis collaboration. *Eur Urol* 2005; 48: 202–205.
128. Yin M, Joshi M, Meijer RP, et al. Neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: a systematic review and two-step meta-analysis. *Oncologist* 2016; 21: 708-715.
129. Grossman HB, Natale RB, Tangen CM, et al. Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *N Engl J Med* 2003; 349: 859–866.
130. Lavery HJ, Stensland KD, Niegisch G, Albers P, Droller MJ. Pathological T0 following radical cystectomy with or without neoadjuvant chemotherapy: a useful surrogate. *J Urol* 2014; 191: 898–906.
131. Sherif A, Holmberg L, Rintala E, et al. Neoadjuvant cisplatin based combination chemotherapy in patients with invasive bladder cancer: a combined analysis of two Nordic studies. *Eur Urol* 2004; 45: 297–303.
132. Griffiths G, Hall R, Sylvester R, Raghavan D, Parmar MK. International phase III trial assessing neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: long-term results of the BA06 30894 trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2171–2177.
133. Petrelli F, Coiu A, Cabiddu M, et al. Correlation of pathologic complete response with survival after neoadjuvant chemotherapy in bladder cancer treated with cystectomy: a meta-analysis. *Eur Urol* 2014; 65: 350–357.
134. von der Maase H, Hansen SW, Roberts JT, et al. Gemcitabine and cisplatin versus methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin in advanced or metastatic bladder cancer: results of a large, randomized, multinational, multicenter, phase III study. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3068–3077.
135. Choueiri TK, Jacobus S, Bellmunt J, et al. Neoadjuvant dose-dense methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin with pegfilgrastim support in muscle-invasive urothelial cancer: pathologic, radiologic, and biomarker correlates. *J Clin Oncol* 2014; 32: 1889–1894.
136. Galsky MD, Pal SK, Chowdhury S, et al. Comparative effectiveness of gemcitabine plus cisplatin versus methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin as neoadjuvant therapy for muscle-invasive bladder cancer. *Cancer* 2015; 121: 2586–2593.

137. Zargar H, Shah JB, van de Putte EEF, et al. Dose dense MVAC prior to radical cystectomy: a real-world experience. *World J Urol* 2017; 35: 1729-1736.
138. Culp SH, Dickstein RJ, Grossman HB, et al. Refining patient selection for neoadjuvant chemotherapy before radical cystectomy. *J Urol* 2014; 191: 40–47.
139. Donat SM, Shabsigh A, Savage C, et al. Potential impact of postoperative early complications on the timing of adjuvant chemotherapy in patients undergoing radical cystectomy: a high-volume tertiary cancer center experience. *Eur Urol* 2009; 55: 177–185.
140. Dash A, Galsky MD, Vickers AJ, et al. Impact of renal impairment on eligibility for adjuvant cisplatin-based chemotherapy in patients with urothelial carcinoma of the bladder. *Cancer* 2006; 107: 506–513.
141. Advanced Bladder Cancer (ABC) Meta-analysis Collaboration. Adjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: a systematic review and metaanalysis of individual patient data Advanced Bladder Cancer (ABC) Meta-analysis Collaboration. *Eur Urol* 2005; 48: 189–199.
142. Sternberg CN, Skoneczna I, Kerst JM, et al. Immediate versus deferred chemotherapy after radical cystectomy in patients with pT3-pT4 or N1 M0 urothelial carcinoma of the bladder (EORTC 30994): an intergroup, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015; 16: 76–86.
143. Van Allen EM, Mouw KW, Kim P, et al. Somatic ERCC2 mutations correlate with cisplatin sensitivity in muscle-invasive urothelial carcinoma. *Cancer Discov* 2014; 4: 1140–1153.
144. Plimack ER, Dunbrack RL, Brennan TA, et al. Defects in DNA repair genes predict response to neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2015; 68: 959–967.
145. Iyer G, Balar AV, Milowsky MI, et al. Multicenter prospective phase II trial of neoadjuvant dose-dense gemcitabine plus cisplatin in patients with muscle-invasive bladder cancer. *J Clin Oncol* 2018; 36: 1949–1956.
146. Schardt J, Roth B, Seiler R. Forty years of cisplatin-based chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer: are we understanding how, who and when? *World J Urol* 2019; 37: 1759-1765.
147. Seiler R, Ashab HAD, Erho N, et al. Impact of molecular subtypes in muscle-invasive bladder cancer on predicting response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Eur Urol* 2017; 72: 544–554.
148. Tripathi A, Plimack ER. Immunotherapy for urothelial carcinoma: current evidence and future directions. *Curr Urol Rep* 2018; 19: 109-118.
149. Necchi A, Anichini A, Raggi D, et al. Pembrolizumab as neoadjuvant therapy before radical cystectomy in patients with muscle-invasive urothelial bladder carcinoma (PURE-01): an open-label, single-arm, phase II study. *J Clin Oncol* 2018; 36: 3353-3360.

150. Powles T, Kockx M, Rodriguez-Vida A, et al. Clinical efficacy and biomarker analysis of neoadjuvant atezolizumab in operable urothelial carcinoma in the ABACUS trial. *Nat Med* 2019 Nov 4. doi: 10.1038/s41591-019-0628-7.
151. Li R, Spiess PE, Gilbert SM, Necchi A. Towards personalized neoadjuvant therapy for muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2019; 76: 4-6.
152. Huncharek M, Muscat J, Geschwind JF. Planned preoperative radiation therapy in muscle invasive bladder cancer; results of a meta-analysis. *Anticancer Res* 1998; 18: 1931-1934.
153. Bayoumi Y, Heikal T, Darweish H. Survival benefit of adjuvant radiotherapy in stage III and IV bladder cancer: results of 170 patients. *Cancer Manag Res* 2014; 6: 459-465.
154. Solsona E, Iborra I, Collado A, Rubio-Briones J, Casanova J, Calatrava A. Feasibility of radical transurethral resection as monotherapy for selected patients with muscle invasive bladder cancer. *J Urol* 2010; 184: 475-480.
155. Leibovici D, Kassouf W, Pisters LL, et al. Organ preservation for muscle-invasive bladder cancer by transurethral resection. *Urology* 2007; 70: 473-476.
156. Herr HW. Transurethral resection of muscle-invasive bladder cancer: 10-year outcome. *J Clin Oncol* 2001; 19: 89-93.
157. Korpics M, Block AM, Altoos B, et al. Maximizing survival in patients with muscle-invasive bladder cancer undergoing curative bladder-preserving radiotherapy: the impact of radiotherapy dose escalation. *J Radiat Oncol* 2017; 6: 387.
158. Korpics M, Block AM, Martin B, et al. Concurrent chemotherapy is associated with improved survival in elderly patients with bladder cancer undergoing radiotherapy. *Cancer* 2017; 123: 3524-3531.
159. James ND, Hussain SA, Hall E, et al. Radiotherapy with or without chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer. *New Engl J Med* 2012; 366: 1477-1488.
160. Ploussard G, Daneshmand S, Efstathiou JA, et al. Critical analysis of bladder sparing with trimodal therapy in muscle-invasive bladder cancer: a systematic review. *Eur Urol* 2014; 66: 120-137.
161. Fahmy O, Khairul-Asri MG, Schubert T, et al. A systematic review and meta-analysis on the oncological long-term outcomes after trimodality therapy and radical cystectomy with or without neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. *Urol Oncol* 2018; 36: 43-53.
162. Cahn DB, Handorf EA, Ghiraldi EM, et al. Contemporary use trends and survival outcomes in patients undergoing radical cystectomy or bladder-preservation therapy for muscle-invasive bladder cancer. *Cancer* 2017; 123: 4337-4345.

163. Giacalone NJ, Shipley WU, Clayman RH, et al. Long-term outcomes after bladder-preserving trimodality therapy for patients with muscle-invasive bladder cancer: an updated analysis of the Massachusetts General Hospital experience. *Eur Urol* 2017; 71: 952-960.
164. Sanchez A, Wszolek MF, Niemierko A, et al. Incidence, clinicopathological risk factors, management and outcomes of nonmuscle invasive recurrence after complete response to trimodality therapy for muscle invasive bladder cancer. *J Urol* 2018; 199: 407-415.
165. Macík D, Staník M, Doležel J. Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních nádorů močového měchýře. *Urol praxi* 2017; 18: 162-164.
166. Staník M, Poprach A, Macík D, et al. Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních uroteliálních nádorů měchýře: korelace léčebné odpovědi a přežití pacientů. *Ces Urol* 2016; 20: 221-228.
167. Herr HW, Faulkner JR, Grossman HB, et al. Surgical factors influence bladder cancer outcomes: a cooperative group report. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2781–2789.
168. Staník M, Poprach A, Bezděková M, et al. Srovnání efektu neoadjuvantní chemoterapie u nádoru močového měchýře cT2N0 a cT3-4N0. *Ces Urol* 2019; 23(Suppl. A); 24.
169. Doležel J, Capák I, Valík D, Miklánek D, Macík D, Pacal M, Staník M, Jarkovský J. Effect of ureterointestinal anastomosis on renal function and morbidity in intestinal urinary diversion. *Scand J Urol* 2013; 47: 225-229.
170. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106: dju124.
171. Marečková N, Staník M, Čapák I, Macík D, Malúšková D, Jarkovský J, Doležel J. Prognostický význam parametrů vycházejících z poměru neutrofilů k lymfocytům u invazivních nádorů močového měchýře. *Ces Urol* 2016; 20: 293-301.
172. Sternberg CN, de Mulder P, Schornagel JH, et al. Seven year update of an EORTC phase III trial of high-dose intensity M-VAC chemotherapy and G-CSF versus classic M-VAC in advanced urothelial tract tumours. *Eur J Cancer* 2006; 42: 50-54.
173. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet* 2016; 387: 1909–1920.
174. Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, et al. Pembrolizumab as second-line therapy for advanced urothelial carcinoma. *N Engl J Med* 2017; 376: 1015-1026.
175. Fradet Y, Bellmunt J, Vaughn DJ, et al. Randomized phase III KEYNOTE-045 trial of pembrolizumab versus paclitaxel, docetaxel, or vinflunine in recurrent advanced urothelial cancer: results of > 2 years of follow-up. *Ann Oncol* 2019 May 3. pii: mdz127.
176. Grande E, Galsky M, Arranz Arija JA, et al. IMvigor130: efficacy and safety from a Phase III study of atezolizumab (atezo) as monotherapy or in combination with platinum-based chemotherapy (PBC)

vs placebo + PBC in previously untreated locally advanced or metastatic urothelial carcinoma (mUC). *Ann Oncol* 2019; 30 (Suppl 5); mdz394.047, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz394.047>

177. Loriot Y, Necchi A, Park SH, et al. Erdafitinib in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med* 2019; 381: 338-348.

178. Vlachostergios PJ, Jakubowski CD, Niaz MJ, et al. Antibody-Drug Conjugates in Bladder Cancer. *Bladder Cancer* 2018; 4: 247-259.

179. Abufaraj M, Dalbagni G, Daneshmand S, et al. The role of surgery in metastatic bladder cancer: a systematic review. *Eur Urol* 2018; 73: 543-557.

180. Matsuguma H, Yoshino I, Ito H, et al. Is there a role for pulmonary metastasectomy with a curative intent in patients with metastatic urinary transitional cell carcinoma? *Ann Thorac Surg* 2011; 92: 449–453.

181. Luzzi L, Marulli G, Solli P, et al. Long-term results and prognostic factors of pulmonary metastasectomy in patients with metastatic transitional cell carcinoma. *Thorac Cardiovasc Surg* 2017; 65: 567-571.

182. Hermans TJ, Fransen van de Putte EE, Horenblas S, et al. Pathological downstaging and survival after induction chemotherapy and radical cystectomy for clinically node-positive bladder cancer—results of a nationwide population-based study. *Eur J Cancer* 2016; 69: 1-8.

183. Zargar-Shoshtari K, Zargar H, Lotan Y, et al. A multi-institutional analysis of outcomes of patients with clinically node positive urothelial bladder cancer treated with induction chemotherapy and radical cystectomy. *J Urol* 2016; 195: 53-59.

184. Galsky MD, Stensland K, Sfakianos JP, et al. Comparative effectiveness of treatment strategies for bladder cancer with clinical evidence of regional lymph node involvement. *J Clin Oncol* 2016; 34: 2627-2635.

185. Flaig TW, Spiess PE, Agarwal N, et al. NCCN Guidelines Insights: Bladder cancer, version 5.2018. *J Natl Compr Canc Netw* 2018; 16: 1041-1053.

186. de Vries RR, Nieuwenhuijzen JA, Meinhardt W, Bais EM, Horenblas S. Long-term survival after combined modality treatment in meta-static bladder cancer patients presenting with supra-regional tumor positive lymph nodes only. *Eur J Surg Oncol* 2009; 35: 352–355.

187. Sweeney P, Millikan R, Donat M, et al. Is there a therapeutic role for post-chemotherapy retroperitoneal lymph node dissection in metastatic transitional cell carcinoma of the bladder? *J Urol* 2003; 169: 2113–2117.

188. Liu NW, Murray KS, Donat SM, Herr HW, Bochner BH, Dalbagni G. The Outcome of Post-Chemotherapy Retroperitoneal Lymph Node Dissection in Patients with Metastatic Bladder Cancer in the Retroperitoneum. *Bladder Cancer*. 2019 Jan 31;5(1):13-19.

189. Necchi A, Mariani L, Lo Vullo S, et al. Lack of effectiveness of postchemotherapy lymphadenectomy in bladder cancer patients with clinical evidence of metastatic pelvic or retroperitoneal lymph nodes only: a propensity score-based analysis. *Eur Urol Focus* 2019; 5: 242-249.

190. Staník M, Poprach A, Macík D, et al. Clinically node-positive bladder cancer: oncological results of induction chemotherapy and consolidative surgery. *Neoplasma* 2018; 65: 287-291.

9 Seznam zkratek

ACHT	adjuvantní chemoterapie
AUC	area under curve
ARID1A	AT-rich interactive domain-containing protein 1A
ATM	ataxia telangiectasia mutated
Ba/Sq	basal/squamous
BCG	bacillus Calmette-Guerin
BTA	bladder tumor antigen
CDKN2A	inhibitor cyklin-dependentní kinázy 2A
CEITEC	Central European Institute of Technology
CIS	carcinoma in situ
CPS	combined positive score
CRP	C-reaktivní protein
CSS	cancer-specific survival
CT	počítačová tomografie
ctDNA	circulating tumor DNA
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4
ČR	Česká republika
ddMVAC	dose-dense MVAC
DDR	DNA damage repair
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DWI	diffusion-weighted imaging
EGFR	receptor epidermálního růstového faktoru
EMDA	electromotive drug administration

EORTC	European organization for research and treatment of cancer
ERCC2	excision repair cross-complementation group 2
FANCC	Fanconi anemia complementation group C
FAT	flap-and-trough
FC	fluorescenční cystoskopie
FDG-PET	fluorodeoxyglukózová pozitronová emisní tomografie
FGFR	receptor fibroblastového růstového faktoru
FISH	fluorescence in situ
FOXA1	forkhead box protein 1
GATA3	GATA binding protein 3
GC	gemcitabin, cisplatina
GSTM	glutathion S-transferáza M1
CHT	chemoterapie
ChHT	chemohypertermie
HR	hazard ratio
IC	index konkordance
IFN γ	interferon gama
IGF	insuline-like growth factor
IL	interleukin
KDM6A	lyzín-specifická demetyláza 6A
KTM2A	histone-lysine-N-metyltransferase
lncRNA	long noncoding RNA; dlouhé nekódující RNA
LND	lymph node dissection
LOH	ztráta heterozygoty
LumNS	luminal nonspecified
LumP	luminal papillary
LumU	luminal unstable
MAGE-A2	melanoma-associated antigen 3
MALAT1	metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1
MDM2	mouse double minute 2

MIBC	muscle invasive bladder cancer
miRNA	mikroRNA
MMC	mitomycin
MOÚ	Masarykův onkologický ústav
MRI	magnetic resonance imaging; magnetická resonance
mRNA	messenger RNA
MSH2	mutS homolog 1
MVAC	metotrexát, vinblastin, adriamycin, cisplatina
NACHT	neoadjuvantní chemoterapie
NAT1	N-acetyl transferáza
NBI	narrow-band imaging
NE-like	neuroendocrine-like
NMIBC	non-muscle invasive bladder cancer
NMP22	nuclear matrix protein 22
NLR	neutrophil-to-lymphocyte ratio
NOR	Národní onkologický registr
NPV	negativní prediktivní hodnota
OCT	optická koherentní tomografie
OS	overall survival
PD-1	programmed cell death 1
PD-L1	programmed cell death ligand 1
PFS	progression-free survival
PPARG	peroxisome proliferator-activated receptor gamma
PIK3CA	katalytická subjednotka alfa fosfatidylinositol-kinázy
PTCH1	gen Patched-1
PUNLMP	papilární uroteliální neoplázie s nízkým maligním potenciálem
RARC	roboticky-asistovaná radikální cystektomie
RAS	rat sarcoma
RB1	retinoblastoma 1
RFS	recurrence-free survival

siRNA	small interfering RNA
TCGA	The Cancer Genome Atlas
TERT	telomerase reverse transcriptase
TGF- β	transforming growth factor beta
TMT	trimodal therapy
TP53	tumor protein p53
TSC1	tuberous sclerosis 1
TUG1	taurine-upregulated gene 1
TURB	transurethral resection of bladder
UCA1	urothelial cancer associated 1
VIRADS	vesical imaging reporting and data system
ZEB1	zinc finger E-box binding homeobox 1

10 Seznam příloh

Příloha 1

Staník M, Poprach A, Krejčí D, Zapletalová M, Macík D, Čapák I, Jarkovský J, Lakomý R, Doležel J. Comparison of different treatment modalities outcomes in clinically node-positive bladder cancer; analysis of a population-based cancer registry. Clin Genitourin Cancer 2019; 17: e759-e767.

Příloha 2

Mlcochova H, Hezova R, Stanik M, Slaby O. Urine microRNAs as potential noninvasive biomarkers in urologic cancers. Urol Oncol 2014; 32: 41.e1-9.

Příloha 3

Iliev R, Kleinova R, Juracek J, Dolezel J, Ozanova Z, Fedorko M, Pacik D, Svoboda M, Stanik M, Slaby O. Overexpression of long non-coding RNA TUG1 predicts poor prognosis and promotes cancer cell proliferation and migration in high-grade muscle-invasive bladder cancer. Tumour Biol 2016 ; 37: 13385-13390.

Příloha 4

Juracek J, Peltanova B, Dolezel J, Fedorko M, Pacík D, Radová L, Veselá P, Svoboda M, Slabý O, Staník M. Genome-wide identification of urinary cell-free microRNAs for non-invasive detection of bladder cancer. J Cell Mol Med 2018; 22: 2033-2038.

Příloha 5

Juráček J, Staník M, Veselá P, Fedorko M, Doležel J, Slabý O. Tumor expression of miR-34a-3p is an independent predictor of recurrence in non-muscle-invasive bladder cancer and promising additional factor to improve predictive value of EORTC nomogram. *Urol Oncol* 2019; 37: 184.e1-184.e7.

Příloha 6

Macík D, Staník M, Doležel J. Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních nádorů močového měchýře. *Urol praxi* 2017; 18: 162-164.

Příloha 7

Staník M, Poprach A, Macík D, Čapák I, Jarkovský J, Malúšková D, Marečková N, Lakomý R, Doležel J. Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních uroteliálních nádorů měchýře: korelace léčebné odpovědi a přežití pacientů. *Ces Urol* 2016; 20: 221-228.

Příloha 8

Doležel J, Čapák I, Valík D, Miklánek D, Macík D, Pacal M, Staník M, Jarkovský J. Effect of ureterointestinal anastomosis on renal function and morbidity in intestinal urinary diversion. *Scand J Urol* 2013; 47: 225-229.

Příloha 9

Marečková N, Staník M, Čapák I, Macík D, Malúšková D, Jarkovský J, Doležel J. Prognostický význam parametrů vycházejících z poměru neutrofilů k lymfocytům u invazivních nádorů močového měchýře. *Ces Urol* 2016; 20: 293-301.

Příloha 10

Staník M, Poprach A, Macík D, Čapák I, Maluskova D, Mareckova N, Lakomy R, Jarkovsky J, Dolezel J. Clinically node-positive bladder cancer: oncological results of induction chemotherapy and consolidative surgery. *Neoplasma* 2018; 65: 287-291.

Genome-wide identification of urinary cell-free microRNAs for non-invasive detection of bladder cancer

Jaroslav Juracek ^a, Barbora Peltanova ^a, Jan Dolezel ^b, Michal Fedorko ^c, Dalibor Pacik ^c, Lenka Radova ^a, Petra Vesela ^a, Marek Svoboda ^d, Ondrej Slaby ^{a, d, *} , Michal Stanik ^{b, *}

^a Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic

^b Department of Urologic Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

^c Department of Urology, University Hospital Brno, Masaryk University Brno, Brno, Czech Republic

^d Department of Comprehensive Cancer Care, Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno, Czech Republic

Received: July 12, 2017; Accepted: November 9, 2017

Abstract

Urinary microRNAs (miRNAs) are emerging as clinically useful tool for early and non-invasive detection of various types of cancer including bladder cancer (BCA). In this study, 205 patients with BCA and 99 healthy controls were prospectively enrolled. Expression profiles of urinary miRNAs were obtained using Affymetrix miRNA microarrays (2578 miRNAs) and candidate miRNAs further validated in independent cohorts using qRT-PCR. Whole-genome profiling identified 76 miRNAs with significantly different concentrations in urine of BCA compared to controls ($P < 0.01$). In the training and independent validation phase of the study, miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p were confirmed to have significantly higher levels in urine of patients with BCA in comparison with controls ($P < 0.01$). We further established 2-miRNA-based urinary DxScore (miR-93-5p, miR-31-5p) enabling sensitive BCA detection with AUC being 0.84 and 0.81 in the training and validation phase, respectively. Moreover, DxScore significantly differed in the various histopathological subgroups of BCA and decreased post-operatively. In conclusion, we identified and independently validated cell-free urinary miRNAs as promising biomarkers enabling non-invasive detection of BCA.

Keywords: bladder cancer • cell-free miRNAs • urine • biomarker • non-invasive diagnosis

Introduction

BCA is the most common cancer of the urinary tract, with approximately 430,000 new cases diagnosed in 2012 worldwide [1]. More than 90% of BCA are urothelial carcinoma, of which around 80% are non-muscle-invasive (superficial, NMIBC) tumours. Superficial tumours frequently recur (50–70%) and can progress to potentially lethal muscle-invasive form (MIBC, 10–15%) [1]. Patients with BCA are diagnosed and monitored by urethrocytoscropy and may undergo multiple resections because of the long-term follow-up. Urethrocytoscropy as a standard diagnostic method is expensive, invasive and in case of carcinoma *in situ* (CIS) or small papillary tumours, does not exhibit sufficient sensitivity [2]. A non-invasive tool for BCA diagnostics is urine cytology; however, this method suffers from low sensitivity for the detection of low-grade and early BCA [3]. In addition, several urine-based tests for BCA [4] have been approved for clinical

use, but are not suitable because of their low specificity. Thus, new both specific and sensitive non-invasive diagnostic biomarkers are needed for BCA detection and monitoring.

miRNAs are regulatory short non-coding RNAs involved in the pathogenesis of wide range of cancers including BCA [5]. Recently, numerous studies have proved that circulating cell-free miRNAs exist in various body fluids, such as urine [6]. Urinary miRNAs in particular present emerging novel class of molecular biomarkers because of their remarkably high stability and good analytical properties [7]. In this study, we aimed to identify the cell-free miRNA biomarkers in the urine for non-invasive detection of BCA by use of genomewide approach in patients with BCA and age-/gender matched healthy controls, and to validate the results in independent cohorts.

*Correspondence to: Michal STANIK, M.D., Ph.D.
E-mail: stanik@mou.cz

Assoc. Prof. Ondrej SLABY, Ph.D.
E-mail: on.slaby@gmail.com

Materials and methods

Patients and controls

Between September 2013 and May 2016, adults undergoing endoscopic treatment with transurethral resection or radical cystectomy for known or suspected BCA and healthy controls were recruited for participation in this prospective observational study at Department of Urologic Oncology, Masaryk Memorial Cancer Institute (MMCI). The study has been approved by ethical committee of MMCI and all participating individuals signed informed consent. Healthy controls included patients surgically treated for benign urological conditions. Patients with active malignancy or history of any cancer, urinary tract infection, and foreign bodies in urinary tract or urolithiasis were excluded from control group. Urine samples of the patients were collected prior to surgery. In 13 disease-free NMIBC patients, we collected urine also post-operatively, 3 months after surgery. In one case, urine was collected during the whole follow-up to enable analysis of the dynamics of identified biomarkers.

The median age of the 205 patients with BCA (154 males, 51 females) and 99 HC (71 males, 28 females) enrolled were 68 (range 31–86) and 66 (range 51–80) years, respectively. There were 68 cases of low-grade and 137 cases of high-grade tumours included in the study. NMIBC (Ta, T1, Tis) and MIBC (T2-4) patients were represented by 140 and 65 cases, respectively. Clinical-pathological characteristics of the cohorts are summarized in Table S1. We further enrolled 30 patients (20 males, 10 females) with non-metastatic clear-cell renal cell carcinoma (ccRCC) with median age 66 (range 33–87) years as a control cohort to evaluate specificity of the identified biomarkers for BCA.

Sample processing and RNA isolation

Samples of first morning voided urine were collected in 15 ml tubes with EDTA used for nucleic acid preservation, centrifuged at 4°C at 2000 *g* for 15 min. Supernatant was collected and stored at -80°C until analysed. Urine samples were centrifuged again before RNA isolation at 4°C at 12,000 *g* for 15 min. Total RNA from 1 ml of cell-free urine supernatant was isolated using Urine microRNA Purification Kit (Norgen Biotek, Thorold, ON, Canada). Tumour tissue and adjacent bladder non-tumour tissue were removed within transurethral resection of tumour or radical cystectomy, placed in in RNeasy Lysis Solution (Qiagen, Crawley, UK) and stored at -80°C until analysed. Total RNA enriched for fraction of small RNA was isolated using mirVana™ miRNA isolation kit (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) according to manufacturer's recommendations. Quality and quantity of RNA were determined using the NanoDrop™ 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

Whole-genome microRNA profiling (discovery phase)

In the discovery phase of the study, the cell-free urine supernatant of 15 patients with BCA and 16 HC was analysed using GeneChip miRNA

3.0 arrays (Affymetrix by Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) enabling detection of 2578 human mature miRNAs. The GeneChip raw data were normalized and statistically evaluated in the environment of statistical language R [8] using the Bioconductor package concerning miRNA profiling combined with hierarchical clustering. miRNAs meeting the pre-defined selection criteria (fold change > 2.5, average signal > 3, $P < 0.0025$) were forwarded to the training phase of the study.

Quantitative reverse transcription PCR (training and validation phase)

For validation of microRNA profiling data, concentrations of miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p were determined in the urinary samples of 140 patients with BCA, 67 HC and 30 RCC patients (training phase) and 50 patients with BCA and 16 HC (validation phase) by use of quantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR) accordingly to the standard TaqMan MicroRNA Assay protocol (miR-31-5p: ID002279, miR-93-5p: ID001090, miR-191-5p: ID002299; Thermo Fisher Scientific) on Roche LightCycler 480 PCR system. We included interplate calibrator on each plate for each assay enabling us to correct for interplate variability. Quantitatively, all measurements were standardized by use of the same amount of total RNA entering the reverse transcription and PCR reaction. Regarding absolute quantification approach, chemically synthesized miRNA oligos (IDT, Coralville, IA, USA) were serially diluted and carried out in parallel with qRT-PCR of biological samples. Ct values of biological samples were converted to absolute concentration of miRNAs in the cell-free supernatant of the urine (fmol/l) based on relevant calibration curve equation. For all qRT-PCR measurements, we used interplate controls and non-template negative controls to enable interplate comparisons and eliminate contaminations.

Statistical analysis

Differences in microRNA level between compared cohorts were evaluated by Mann–Whitney U-test and Kruskal–Wallis test. The ROC (receiver operating characteristic) analysis was performed to identify the optimal cut-off value enabling discrimination of patients with BCA and HC. Bidirectional stepwise logistic regression model was used to establish the combined miRNA diagnostic score. Statistical analysis was performed with GraphPad Prism version 6.00 for Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA, www.graphpad.com). $P < 0.05$ was considered to indicate a statistically significant difference.

Results

Using whole-genome profiling, we identified 76 miRNAs with significantly different levels in the urine of patients with BCA compared to the urine of HC ($P < 0.01$), thereof 64 had higher and 12 had lower levels in the urine of patients with BCA (Table S2, Fig. S1). Genome-wide microRNA expression data have been deposited in the ArrayExpress database at EMBL-EBI (www.ebi.ac.uk/arrayexpress) under accession number E-MTAB-6102. Based on the discovery phase data and using pre-defined selection criteria, we selected miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p for further independent validation.

Table 1 Analytical performance of miRNA and combined DxScores in training and validation phase of the study

miRNA	Training phase					Validation phase				
	Bladder cancer versus healthy controls*	Fold change	AUC (Cut-off value)	Sensitivity	Specificity	Bladder cancer versus healthy controls*	Fold change	AUC (Cut-off value)	Sensitivity	Specificity
miR-31-5p	<0.0001	4.9	0.78 (0.6)	74	73	0.0009	4.8	0.77	75	68
miR-93-5p	<0.0001	33.1	0.80 (0.2)	74	72	<0.0001	33.8	0.83	68	87
miR-191-5p	<0.0001	9.1	0.76 (0.3)	73	68	0.0061	7.6	0.73	74	50
DxScore (miR-31-5p, miR-93-5p, miR-191-5p)	<0.0001	5.7	0.83 (2.3)	81	70	0.0002	4.2	0.80	74	70
DxScore (miR-31-5p, miR-93-5p)	<0.0001	6.1	0.84 (2.2)	82	70	<0.0001	4.5	0.81	74	75

*P-value (Mann-Whitney test); AUC, area under curve.

Within training phase of the study, we determined expression level of miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p in urine samples of 140 patients with BCA, 67 HC and 30 RCC patients. The concentrations of miR-31-5p ($P < 0.0001$), miR-93-5p ($P < 0.0001$) and miR-191-5p ($P < 0.0001$) in the urine of patients with BCA were significantly higher in comparison with both control groups, healthy controls and patients with RCC (Table 1, Fig. S2A). Subsequent ROC analysis reflects ability of miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p to distinguish between BCA cases and controls with AUC being 0.78, 0.8 and 0.76, respectively (Fig. S2B). Further, we used logistic regression to establish diagnostic score (DxScore) combining expression of miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p. DxScore enables differentiate BCA and HC with the sensitivity of 81% and specificity of 70% (AUC = 0.83, $P < 0.0001$). In the logistic regression, miR-191-5p was not statistically significant and independent factor, therefore, we excluded this miRNA from further analysis and reduced the number of candidate diagnostic miRNAs from 3 to 2 that were subsequently included in the final 2-miRNA-based DxScore = 1.0349-1.7308*miR-31-5p-1.1144*miR-93-5p (cut-off = 2.2). ROC (receiver operating characteristic) analysis proved that usage of this 2-miRNA-based urinary DxScore enables to distinguish between patients with BCA from HC with the sensitivity of 82% and specificity of 70% and AUC being 0.84 (Table 1, Fig. 1A and B).

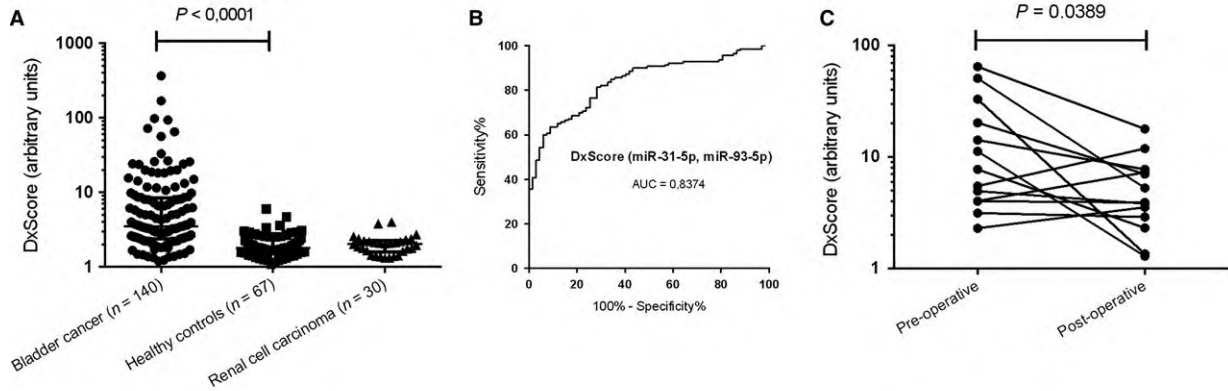
On independent cohort of 50 BCA cases and 16 HC, we confirmed significantly higher expression levels of miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p in patients with BCA ($P = 0.0009$, $P < 0.0001$ and $P = 0.0061$ resp., Fig. S2C and D). In the same cohort, we validated analytical performance of 2-miRNA-based DxScore using cut-off value obtained within training phase of the study. DxScore was able to differentiate patients with BCA and HC with the sensitivity of 74% and specificity of 75% and AUC being 0.81 (Fig. 1D and E). Moreover, DxScore allowed to discriminate low-grade and high-grade NMIBC cases ($P = 0.0066$, Fig. 1G) and MIBC and NMIBC ($P = 0.0058$, Fig. 1H). In addition, we observed significant decrease in miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p concentrations (Fig. S2E) and 2-miRNA-based DxScore in the urinary samples collected 3 months after surgery in disease-free patients compared to pre-operative samples (Fig. 1C). In one NMIBC case with recurrence and available set of follow-up urinary samples, we have shown that miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p (Fig. S2F) and 2-miRNA-based DxScore follows the status of the disease (Fig. 1F).

In BCA tumour tissue samples, we observed significantly higher expression levels of miR-93-5p and miR-191-5p ($P = 0.002$, fold change = 2.6 and $P = 0.002$, fold change = 2.5, resp.) in comparison with control non-tumour bladder tissues (Fig. S3).

Discussion

Urinary cell-free miRNAs are emerging as potential biomarkers of urologic cancers [7]. In our previous study, we have shown that cell-free miRNAs are abundant in urine of renal cell carcinoma patients and present promising non-invasive biomarkers [9]. Similarly, several reports described specific miRNA expression profiles in urine of patients with BCA indicating their potential usage for early detection of the disease,

TRAINING PHASE



VALIDATION PHASE

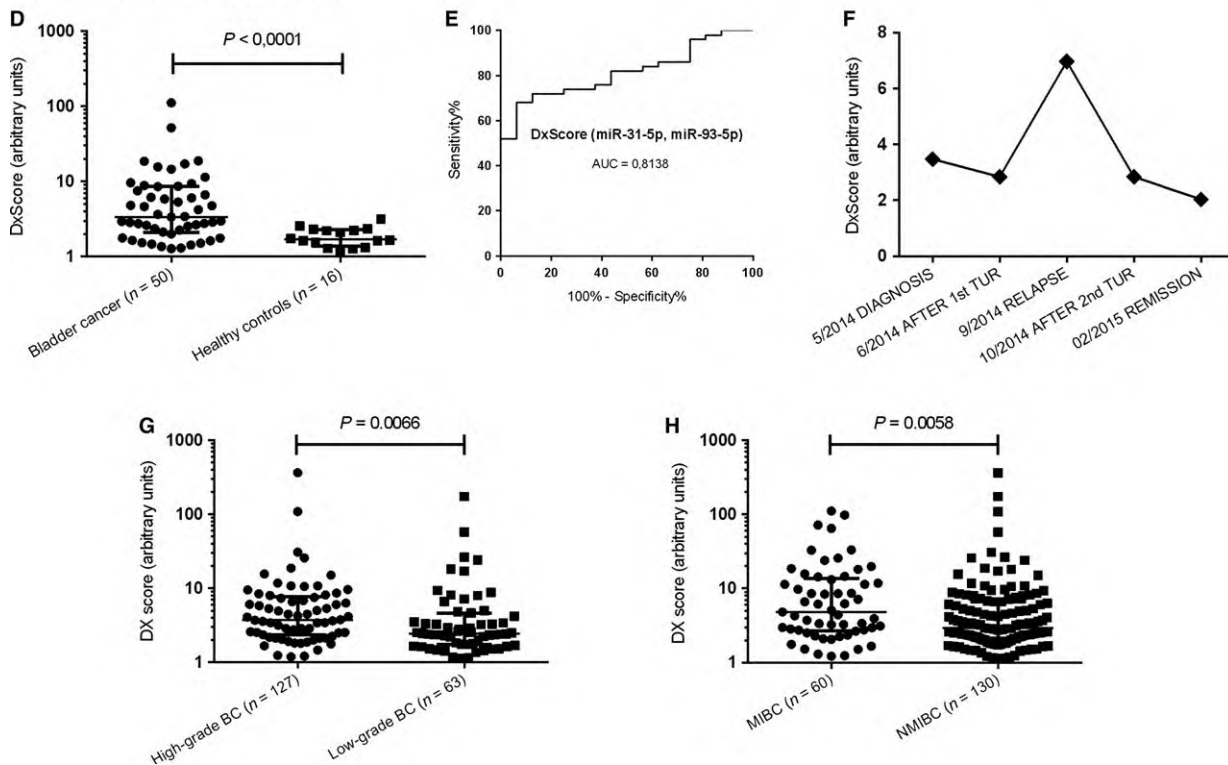


Fig. 1 Analytical characteristics of diagnostic scoring system (DxScore) based on the combination of cell-free miR-31-5p and miR-93-5p concentrations in the urine supernatant. **(A)** Training phase – DxScore in bladder cancer patients, healthy controls and renal cell carcinoma patients (ANOVA (Kruskal–Wallis test), $P < 0.0001$). **(B)** Training phase – ROC analysis of DxScore to evaluate the ability to distinguish patients with bladder cancer and healthy controls ($P < 0.0001$; AUC = 0.84; sensitivity 82%. specificity 70%). **(C)** Significant decrease in DxScore in urine samples collected 3 months after tumour resection in comparison with pre-operative samples (Wilcoxon Rank Sum Test; $P = 0.04$). **(D)** Validation phase – DxScore in patients with bladder cancer and healthy controls (Mann–Whitney U-test, $P < 0.0001$). **(E)** Validation phase – ROC analysis of DxScore to validate the ability to distinguish patients with bladder cancer and healthy controls using cut-off value from training phase ($P < 0.0001$; AUC = 0.81; sensitivity 74%. specificity 75%). **(F)** Dynamics of DxScore within follow-up of patient with bladder cancer developing recurrence of the disease. **(G)** DxScore in low-grade and high-grade NMIBC cases (Mann–Whitney U-test; $P = 0.0066$). **(H)** DxScore in MIBC and NMIBC patients (Mann–Whitney U-test; $P = 0.0058$).

prognosis prediction or therapy response [10–12]. However, there is a low overlap in identified miRNAs in independent studies. Majority of the studies published so far were statistically underpowered with low number of patients or with the absent independent validation cohort. Moreover, these studies suffer either with small analytical performance [13] or with diagnostic/prediction systems based on expression of large number of miRNAs [14] and differed in important technological aspects, mainly linked to the pre-analytical phase of the analysis, which can largely affect obtained results [15–17].

In our study, we identified and validated miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p to have significantly higher concentrations in urine of patients with BCA in comparison with controls. Concentration of miR-93-5p and miR-191-5p was significantly elevated also in tumour tissue compared to non-tumour urothelium, which may be associated with increased secretion of these miRNAs by BCA cells into the urine. Based on the TCGA BCA dataset, miR-93-5p is significantly up-regulated in tumour tissue in comparison with non-tumour urothelium and miR-31-5p is the most significantly deregulated miRNA defining class 4 BCA [18].

We further established and independently validated 2-miRNA-based urinary DxScore (miR-93-5p, miR-31-5p) enabling sensitive BCA detection. MiR-191-5p was omitted because of lowest statistical significance and other monitored outputs (AUC, specificity and sensitivity). Urquidi *et al.* presented diagnostic model predicting the presence of BCA with high sensitivity and specificity [14], but based on the combination of 25 miRNA levels. We believe that reduced number of biomarkers would be a great advantage for possible clinical application of such diagnostic score. In addition to BCA detection, our DxScore enabled also to distinguish between NMIBC and MIBC and low-grade and high-grade form of NMIBC and significantly decreased in the urinary samples collected after surgery in disease-free patients compared to pre-operative samples. When compared to previous studies [13, 17], our study is performed on the larger cohort of well-defined patients with BCA and healthy controls, showing more promising analytical characteristics of cell-free urinary miRNAs in BCA than described before.

To conclude, our study is clearly showing the diagnostic potential of urinary cell-free miRNAs, but further independent studies are needed to confirm our results and prove potential clinical utility of our 2-miRNA-based DxScore for non-invasive diagnosis and monitoring of BCA.

References

1. **Antoni S, Ferlay J, Soerjomataram I, et al.** Bladder cancer incidence and mortality: a global overview and recent trends. *Eur Urol.* 2017; 71: 96–108.
2. **Goodison S, Rosser C, Urquidi V.** Bladder cancer detection and monitoring: assessment of urine- and blood-based marker tests. *Mol Diagn Ther.* 2013; 17: 71–84.
3. **Raitanen MP, Aine R, Rintala E, et al.** Differences between local and review urinary cytology in diagnosis of bladder cancer. An interobserver multicenter analysis. *Eur Urol.* 2002; 41: 284–9.
4. **Boman H, Hedelin H, Holmäng S.** Four bladder tumor markers have a disappointingly low sensitivity for small size and low grade recurrence. *J Urol.* 2002; 167: 80–3.
5. **Enokida H, Yoshino H, Matsushita R, et al.** The role of microRNAs in bladder cancer. *Investig Clin Urol.* 2016; 57: S60.
6. **Weber JA, Baxter DH, Zhang S, et al.** The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem.* 2010; 56: 1733–41.
7. **Micochova H, Hezova R, Stanik M, et al.** Urine microRNAs as potential noninvasive biomarkers in urologic cancers. *Urol Oncol.* 2014; 32: 41. e1-41. e9.
8. **R Core Team.** *R: a language and environment for statistical computing.* Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. 2014. <http://www.R-project.org/>.
9. **Fedorko M, Juracek J, Stanik M, et al.** Detection of let-7 miRNAs in urine supernatant as potential diagnostic approach in

Acknowledgement

The project was supported by Ministry of Health of the Czech Republic. grant nrs. AZV 15-31071A. and MZCR RVO (MOU 00209805); the project CEITEC 2020 (LQ1601) provided by the Ministry of Education Youth and Sports of the Czech Republic. The sponsors played no direct role in the study.

J.J., B.P., P.V. and L.R. performed laboratory analysis and analysed experimental data. M.S. and O.S. conceptualized the idea designed the research and analysed data. J.D., M.F., D.P. and M.S. provided samples and data. J.J., O.S. and M.S. wrote the manuscript which was approved by all the authors.

Conflict of interests

No potential conflict of interests were disclosed.

Supporting information

Additional Supporting Information may be found online in the supporting information tab for this article:

Figure S1. Hierarchical clustergram discriminating bladder cancer patients and healthy controls according to differentially expressed miRNAs (blue color indicates healthy controls; yellow color indicates patients; $P < 0.01$).

Figure S2. Analytical characteristics of miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p.

Figure S3. Concentrations of miR-31-5p, miR-93-5p and miR-191-5p in BCA tumor tissue and adjacent bladder non-tumor tissue ($P = 0.1309$, fold change = 2.3; $P = 0.002$, fold change = 2.6 and $P = 0.002$, fold change = 2.5 resp).

Table S1. Clinicopathological characteristics of study subjects.

Table S2. MicroRNAs with different levels in the urine of bladder cancer patients compared with healthy controls (76 miRNAs with $P < 0.01$).

- non-metastatic clear-cell renal cell carcinoma. *Biochem Med (Zagreb)*. 2017; 27: 411–7.
10. **Hanke M, Hoefig K, Merz H, et al.** A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer. *Urol Oncol*. 2010; 28: 655–61.
 11. **Wang G, Chan E, Kwan B, et al.** Expression of microRNAs in the urine of patients with bladder cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2012; 10: 106–13.
 12. **Puerta-Gil P, García-Baquero R, Jia AY, et al.** miR-143, miR-222, and miR-452 are useful as tumor stratification and noninvasive diagnostic biomarkers for bladder cancer. *Am J Pathol*. 2012; 180: 1808–15.
 13. **Pospisilova S, Pazourkova E, Horinek A, et al.** MicroRNAs in urine supernatant as potential non-invasive markers for bladder cancer detection. *Neoplasma*. 2016; 63: 799–808.
 14. **Urquidi V, Netherton M, Gomes-Giacioia E, et al.** A microRNA biomarker panel for the non-invasive detection of bladder cancer. *Oncotarget*. 2016; 7: 86290–9.
 15. **Yun S, Jeong P, Kim W, et al.** Cell-free microRNAs in urine as diagnostic and prognostic biomarkers of bladder cancer. *Int J Oncol*. 2012; 41: 1871–8.
 16. **De Long J, Sullivan T, Humphrey J, et al.** A non-invasive miRNA based assay to detect bladder cancer in cell-free urine. *Am J Transl Res*. 2015; 7: 2500–9.
 17. **Yamada Y, Enokida H, Kojima S, et al.** MiR-96 and miR-183 detection in urine serve as potential tumor markers of urothelial carcinoma: correlation with stage and grade, and comparison with urinary cytology. *Cancer Sci*. 2011; 102: 522–9.
 18. **Robertson AG, Kim J, Al-Ahmadie H, et al.** Comprehensive molecular characterization of muscle-invasive bladder cancer. *Cell*. 2017; 171: 540–56. pii: S0092-8674 (17) 31056-5.

Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních nádorů močového měchýře

MUDr. Daniel Macík, MUDr. Michal Staník, Ph.D., doc. MUDr. Jan Doležel, PhD.

Klinika operační onkologie, oddělení urologické onkologie, Masarykův onkologický ústav Brno

Standardem léčby invazivních nádorů močového měchýře je radikální cystektomie s pánevní lymfadenektomií. Tato léčba bohužel nepřinesla za posledních 30 let zásadní změnu ve výsledcích léčby. Snahou o zlepšení přežívání pacientů bylo zavedení multimodální kombinované léčby. Na invazivní uroteliální karcinom se začalo pohlížet jako na systémové onemocnění, jelikož 30–50 % invazivních nádorů cT2–T4N0 má již v době radikální cystektomie okultní metastázy. Na základě zkušeností s podáváním paliativní chemoterapie u pacientů s diseminovaným onemocněním byla do léčebného algoritmu invazivního nádoru močového měchýře zařazena perioperační chemoterapie na bázi platiny. Randomizované studie s neoadjuvantní chemoterapií prokázaly 5% zlepšení celkového přežití pacientů s invazivními nádory močového měchýře.

Klíčová slova: invazivní nádor močového měchýře, radikální cystektomie, neoadjuvantní chemoterapie.

Neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer

Radical cystectomy with pelvic lymph node dissection is a standard of treatment for muscle-invasive bladder cancer. However, no major improvement of oncological results was seen in the last 30 years. The multimodal therapy was introduced to achieve better survival of the patients. The muscle-invasive bladder cancer started to be considered a systemic disease as 30–50% of cT2–4N0 tumors have occult metastatic disease at the time of radical cystectomy. Based on experience with palliative chemotherapy for metastatic disease, cisplatin-based perioperative chemotherapy was introduced into treatment algorithm of muscle-invasive tumors. In these patients, randomized trials with neoadjuvant chemotherapy showed a 5% benefit in overall survival.

Key words: muscle invasive bladder cancer, radical cystectomy, neoadjuvant chemotherapy.

Úvod

Karcinom močového měchýře je celosvětově nejčastější malignitou močového traktu. V České republice se jedná o 5. nejčastější malignitu u mužů a 14. u žen. Incidence v ČR se pohybuje souhrnně okolo 23/100 000 obyvatel (1, 2). U mužů je výskyt asi 3× častější (1). 75–85 % uroteliálních nádorů tvoří superficiální (svalovinu neinvadující) formy (T_a, T₁, T_{is}). Zbytek připadá na invazivní, svalovinu infiltrující nádory T₂–4 (3).

U pacientů s nádorem omezeným na měchýř (pT₂) a bez postižení lymfatických uzlin (pN₀) skýtá samotná radikální cystektomie 5leté přežití kolem 80%. Při extravasikálním šíření se šance na 5leté přežití snižuje na 40–50% a při pozitivním

uzlinovém pooperačním nálezu se dále snižuje na 15–35%. V případě recidivy je nález distantních metastáz častější než lokoregionálních recidiv (20–50 % vs. 5–15 % případů) (4–8). Tyto nálezy podporují tezi, že se jedná již v době diagnózy o systémové onemocnění a podporují zavedení perioperační chemoterapie do praxe (5–8).

Současná urologická a onkologická doporučení preferují neoadjuvantní chemoterapii před adjuvantní chemoterapií na základě výsledků kvalitnějších dat z randomizovaných studií (3). Metaanalýza studií s neoadjuvantní chemoterapií prokázala 5% zlepšení celkového přežití pacientů s invazivními nádory měchýře, což odpovídá efektu perioperační chemoterapie u jiných typů solidních nádorů (9).

Indikace perioperační chemoterapie

Racionálním odůvodněním k podání perioperační chemoterapie je chemosenzitivita uroteliálních nádorů a účinnost chemoterapie založené na cisplatině, která byla ověřena u nemocných s lokálně pokročilým, neoperabilním nebo diseminovaným onemocněním. Odpověď na chemoterapii u diseminovaného onemocnění byla 40–60 % (4–9).

Podání neoadjuvantní chemoterapie je indikováno u pacientů s vysokým rizikem systémového onemocnění. Tuto skupinu tvoří pacienti s lokálně pokročilým nádorem cT₃–4 N₀. U nádorů cT₂ se doporučuje neoadjuvantní chemoterapii zvážit ze-

jména v případě výskytu negativních prognostických faktorů (hydronefróza, lymfovaskulární invaze, variantní histologie – mikropapilární, malobuněčný) (10–13). U pacientů s N+ nálezem hovoříme o podání indukční chemoterapie s následnou konsolidační cystektomií při dobré klinické odpovědi na chemoterapii. EAU guidelines doporučují podání neoadjuvantní chemoterapie u všech pacientů s nálezem cT2–4 (3, 17). Pro riziko nadbytečné léčby může být problematická identifikace pacientů, kteří mohou mít z podání chemoterapie profit. Až u poloviny pacientů s klinickým stadiem cT2 může být staging podhodnocen, a po následné radikální cystektomii je potvrzeno onemocnění vyššího stadia (pT3–4, pozitivní uzlinový nález). Důležité je také, že až 40% pacientů se superficiálním uroteliálním karcinomem močového měchýře, kteří podstoupili primárně radikální cystektomii, může mít onemocnění stadia pT2 a vyšší. Ani snaha o vytvoření předoperačních nomogramů, které by predikovaly vysoce rizikové pacienty (pT3–4), nevedla k vyšší přesnosti stagingu onemocnění ve srovnání s rutinními klinickými vyšetřeními, která jsou standardně doporučena (6). Problematická je také identifikace non-respondérů, pro které znamená podání neúčinné chemoterapie pouze časovou prodlevu do provedení radikální cystektomie se všemi konsekvencemi.

Není přesně stanoven algoritmus počtu cyklů chemoterapie a načasování přešetření. Nejčastěji je indikováno přešetření pacientů po dvou cyklech a při dobré klinické odpovědi je na místě pokračování v CHT až do 4 cyklů (7). Prozatím nejsme schopni předpovídat vývoj onemocnění ani na základě pooperačních nomogramů, které zahrnují klinické a patologické proměnné, histologický grading, lymfovaskulární invazi a jiné (6). Důvodem může být molekulárně biologická heterogenita nádorů a tudíž rozdílný klinický vývoj onemocnění (4).

Více studií prokázalo jako příznivý prognostický faktor dosažení kompletní patologické odpovědi pT0 (14–16). V metaanalýze 13 studií a 886 pacientů byla popsána kompletní odpověď u 29% pacientů a u této skupiny bylo sníženo riziko úmrtí o 55% (15). V retrospektivní multicentrické studii 1 130 pacientů s onemocněním cT2–4N0 byla zaznamenána kompletní odpověď u 41%, resp. 23%. Riziko úmrtí bylo sníženo o 75% oproti skupině bez odpovědi (7).

Rutinní podávání neoadjuvantní chemoterapie se odráží i v dalších specifických kritériích jako je klinický stav pacienta, věk, performance

status (PS 0–1), renální funkce (eGFR 90+), neřešitelné krvácení z tumoru měchýře.

Výsledky studií s neoadjuvantní chemoterapií

Metaanalýza několika studií dokazuje, že neoadjuvantní chemoterapie před radikální cystektomií zlepšuje výsledky léčby pacientů s invazivním nádorem močového měchýře oproti pacientům, kteří podstoupili pouze radikální cystektomii. Recentní studie ukazují, že neoadjuvantní chemoterapie nezvyšuje morbiditu ani mortalitu v asociaci s radikální cystektomií. Bez ohledu na výsledky studií, neoadjuvantní chemoterapie je v uroonkologické obci zatím málo využívána (5). Některé práce uvádí ale vzestup v začlenění neoadjuvantní chemoterapie do multimodálního schématu terapie (7, 17–20).

Ve většině randomizovaných studií s neoadjuvantní chemoterapií byli zařazeni jen pacienti s klinicky negativními uzlinami cT2–4N0. Celkové pětileté přežití se pohybovalo v rozmezí 49–57% (16, 19, 20). V roce 2002 byla publikována první velká prospektivní randomizovaná studie s neoadjuvantní chemoterapií, kterou organizovala EORTC v kooperaci s Medical Research Council. Studie zahrnovala 976 pacientů stadií T2–4N0M0, kteří byli randomizováni do ramene s chemoterapií (cisplatina, methotrexát a vinblastin) a bez chemoterapie. Mortalita chemoterapie byla 1% a nebyl zaznamenán rozdíl v morbiditě mezi rameny. Jelikož cílem studie bylo zlepšení 3letého přežití o 10%, rozdíl ve výsledku nebyl pokládán za signifikantní (rozdíl v přežití byl 6%) (21, 22).

V roce 2003 byly publikovány výsledky multicentrické SWOG studie s 307 pacienty stadia T2–T4aN0, kteří byli randomizováni do dvou ramen. První skupina dostala neoadjuvantní chemoterapii M-VAC (methotrexát, vinblastin, adriamycin, cisplatina) ve třech cyklech s následnou radikální cystektomií a druhá skupina pouze radikální cystektomii. Signifikantně větší procento pacientů v rameni s kombinovanou léčbou nemělo reziduální onemocnění (pT0, 38% vs. 15%). Celkové pětileté přežití bylo prodlouženo u nemocných s chemoterapií. Ve srovnání s pacienty bez chemoterapie, neoadjuvantní chemoterapie prodloužila přežití ze 46 měsíců na 77 měsíců a snížila riziko úmrtí na karcinom o 25%. Největší benefit měli pacienti s lokálně pokročilým tumorem (cT3–T4a), 24 měsíců vs. 65 měsíců s chemoterapií (16).

Rozsáhlá metaanalýza 2 605 pacientů z 11 randomizovaných studií byla publikována v roce 2004. Neoadjuvantní chemoterapie obsahující platinu byla asociována se zlepšením nádorově specifického přežití, se snížením relativního rizika úmrtí o 13% a se zvýšením celkového přežití o 6,5%. Byla potvrzena souvislost mezi patologickou odpovědí a celkovým přežitím. Mortalita chemoterapie byla 1,1% (23).

Další metaanalýza z roku 2005 s 3 005 pacienty obsahovala data z 98% dostupných randomizovaných kontrolovaných studií s neoadjuvantní chemoterapií u invazivního nádoru močového měchýře. Výsledky potvrdily signifikantní prodloužení celkového přežívání o 5% a prodloužení intervalu 5letého nádorově specifického přežití o 9% (9).

M-VAC je standardní léčebnou modalitou pacientů s pokročilým a metastatickým onemocněním (20). Využití této kombinace je limitováno její toxicitou, především hematologickou. Podání kombinace gemcitabin-cisplatiny mělo stejné onkologické výsledky a účinnost u pacientů s pokročilým metastatickým onemocněním (25). Retrospektivním vyhodnocením Dash, et al. potvrdili účinnost a bezpečnost gemcitabin-cisplatiny v neoadjuvantním podání. Procento pacientů bez reziduální nemoci bylo po 4 cyklech podobné jako po podání M-VAC (26).

Recentní metaanalýza publikována v roce 2015 čítala 1 543 pacientů, kteří dostali neoadjuvantní chemoterapii. Ve studii byli zařazeni i pacienti s klinicky pozitivním uzlinovým nálezem (cN+, 17,7%). Výsledky potvrdily dobrou bezpečnost a srovnatelnou účinnost M-VAC i gemcitabin-cisplatiny. Stejně tak nejlepší výsledky a odpověď u pacientů s lokálně pokročilým high risk onemocněním (7).

Závěr

Radikální cystektomie s extenzivní pánevní lymfadenektomií je standardní léčbou invazivního nádoru močového měchýře. Metaanalýzy dat z randomizovaných prospektivních studií potvrzují zlepšení výsledků (celkového přežití a nádorově specifického přežití) u nemocných s podáním neoadjuvantní chemoterapie založené na platině, bez zvýšení celkové morbidity a mortality této kombinací léčby. Multimodální přístup s chemoterapií je indikován u pacientů s vyšším rizikem systémového onemocnění.

Podpořeno MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

Autor prohlašuje, že zpracování článku nebylo podpořeno žádnou společností.

LITERATURA

1. Český národní webový portál epidemiologie nádorů [online]. Masarykova univerzita, Česká republika; c2006. Dostupný z: <http://www.svod.cz/report.php?diag=C67>.
2. Ferlay J, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. 2013. 2015.
3. Witjes AJ, Lebtret T, Compérat EM. Updated 2016 EAU Guidelines on Muscle-invasive and Metastatic Bladder Cancer. *Eur Urol*. 2017; 71(3): 462–475.
4. Staník M, Poprach A, Macík D, Čapák I, Jarkovský J, Malúšková D, Marečková N, Lakomý R, Doležel J. Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních uroteliálních nádorů měchýře: korelace léčebné odpovědi a přežití pacientů. *Ces Urol* 2016; 20(3): 205–212.
5. Sternberg CN, Bellmunt J, Sonpavde G, et al. ICUD-EAU International consultation on bladder cancer 2012: chemotherapy for urothelial carcinoma – neoadjuvant and adjuvant settings. *Eur Urol* 2013; 63(1): 58–66.
6. Meeks JJ, Bellmunt J, Bochner BH, et al. A systematic review of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2012; 62: 523–533.
7. Zarger H, Espiritu PN, Fairey AS, et al. Multicenter assessment of neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2015; 67(2): 241–249.
8. Babjuk M. Current Value of Neoadjuvant Chemotherapy Prior to Cystectomy. *European Urology Supplements*. 2010; 9(3): 424–427.
9. Advanced Bladder Cancer (ABC) Meta-Analysis Collaboration: Neoadjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: update of a systematic review and meta-analysis of individual patient data: advanced bladder cancer (ABC) meta-analysis collaboration. *Eur Urol* 2005; 48: 202–205.
10. Culp SH, Dickstein RJ, Grossman HB, et al. Refining patient selection for neoadjuvant chemotherapy before radical cystectomy. *J Urol*. 2014; 191(1): 40–47.
11. Lotan Y, Gupta A, Shariat SF, et al. Lymphovascular invasion is independently associated with overall survival, cause-specific survival, and local and distant recurrence in patients with negative lymph nodes at radical cystectomy. *J Clin Oncol* 2005; 23(27): 6533–6539.
12. Stimson CJ, Cookson MS, Barocas DA, et al. Preoperative hydronephrosis predicts extravesical and node positive disease in patients undergoing cystectomy for bladder cancer. *J Urol*. 2010; 183(5): 1732–1737.
13. Ismaili N, Elkarak F. Small cell cancer of the bladder: The Leon-Berard cancer centre experience. *Indian J Urol*. 2008; 24(4): 494–497.
14. Lavery HJ, Stensland KD, Niegisch G, Albers P, Droller MJ. Pathological T0 following radical cystectomy with or without neoadjuvant chemotherapy: a useful surrogate. *J Urol*. 2014; 191(4): 898–906.
15. Petrelli F, Coiru A, Cabiddu M, et al. Correlation of pathologic complete response with survival after neoadjuvant chemotherapy in bladder cancer treated with cystectomy: a meta-analysis. *Eur Urol* 2014; 65(2): 350–357.
16. Grossman HB, Natale RB, Tangen CM, et al. Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *N Engl J Med*. 2003; 349: 859–866.
17. Stenzl A, Cowan NC, De Santis M, et al. Treatment of muscle-invasive and metastatic bladder cancer: update of the EAU guidelines. *Eur Urol* 2011; 59: 1009–1018.
18. Advanced Bladder Cancer Meta-analysis Collaboration. Neoadjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2003; 361: 1927–1934.
19. Griffiths G, Hall R, Sylvester R, Raghavan D, Parmar MK. International phase III trial assessing neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: long-term results of the BA06 30894 trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 2171–2177.
20. Sherif A, Holmberg L, Rintala E, et al. Neoadjuvant cisplatin based combination chemotherapy in patients with invasive bladder cancer: a combined analysis of two Nordic studies. *Eur Urol* 2004; 45: 297–303.
21. International collaboration of trialists on behalf of the Medical Research Council Advanced Bladder Cancer Working Party, EORTC Genito-Urinary Group, Australian Bladder Cancer Study Group, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group, Finnbladder, Norwegian Bladder Cancer Study Group, Club Urologico Espanol de Tratamiento Oncologico (CUETO) group. Neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: a randomized controlled trial. *Lancet* 1999; 354: 533–540.
22. Hall RR. Updated results of a randomised controlled trial of neoadjuvant cisplatin (C), methotrexate (M) and vinblastine (V) chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. International Collaboration of Trialists of the MRC Advanced Bladder Cancer Group. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21: Abstract 710.
23. Winquist E, Kirchner TS, Segal R, et al. Neoadjuvant chemotherapy for transitional cell carcinoma of the bladder: a systematic review and meta-analysis. *J Urol* 2004; 171: 561–569.
24. Sternberg CN, Yagoda A, Scher HI, et al. Methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. Efficacy and patterns of response and relapse. *Cancer* 1989; 64: 2448–2458.
25. von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT, et al. Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin plus cisplatin in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4602–4608.
26. Dash A, Pettus JA, Herr HW, et al. A role for neoadjuvant gemcitabine plus cisplatin in muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: A retrospective experience. *Cancer* 2008; 113: 2471–2477.

NEOAJUVANTNÍ CHEMOTERAPIE U INVAZIVNÍCH UROTELIÁLNÍCH NÁDORŮ MĚCHÝŘE: KORELACE LÉČEBNÉ ODPOVĚDI A PŘEŽITÍ PACIENTŮ

NEOAJUVANT CHEMOTHERAPY IN MUSCLE-INVASIVE UROTHELIAL
BLADDER CANCER: CORRELATION OF RESPONSE WITH PATIENTS SURVIVAL

Michal Staník¹, Alexander Poprach², Daniel Macík¹, Ivo Čapák¹, Jiří Jarkovský³,
Denisa Malúšková³, Natália Marečková¹, Radek Lakomý², Jan Doležel¹

¹Oddělení onkourologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

²Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

³Institut biostatistiky a analýz, Masarykova univerzita, Brno

Došlo: 29. 3. 2016

Přijato: 7. 7. 2016

Kontaktní adresa:

MUDr. Michal Staník, Ph.D.

Oddělení onkourologie, Masarykův onkologický
ústav, Žlutý Kopec 7, 656 53 Brno

e-mail: stanik@mou.cz

Střet zájmů: žádný

Prohlášení o podpoře:

Podpořeno MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

Autor prohlašuje, že zpracování tohoto článku ne-
bylo podpořeno žádnou společností.

SOUHRN

Staník M, Poprach A, Macík D, Čapák I, Jarkovský J, Malúšková D, Marečková N, Lakomý R, Doležel J. Neoadjuvantní chemoterapie u invazivních uroteliálních nádorů měchýře: korelace léčebné odpovědi a přežití pacientů.

Hlavní stanovisko: V souboru 41 nemocných s invazivními nádory měchýře jsme zaznamenali vysoký podíl odpovědí na neoadjuvantní chemoterapii. Pacienti s kompletní odpovědí měli signifikantně lepší dvouleté přežití bez progresu než pacienti s reziduálním onemocněním.

Cíl: V randomizovaných studiích byl prokázán přínos neoadjuvantní chemoterapie (NACH) na celkové přežití. Cílem práce bylo zhodnotit frekvenci léčebné odpovědi na NACH a vliv na prognózu onemocnění.

Soubor pacientů a metoda: V období od 1/2010 do 10/2015 podstoupilo 124 pacientů s nádorem měchýře radikální cystektomii, z nichž 41 (33 %) dostalo NACH. K chemoterapii byly indikovány nádory cT3–4 nebo cN+, kategorie cT2N0 (37 %) pouze v případě výskytu rizikových faktorů jako hydronefróza, nebo lymfovaskulární invaze.

Kritériem způsobilosti pro chemoterapii byla glomerulární filtrace >50 ml/min a funkční stav dle ECOG 1. Nejčastěji byla podána kombinace gemcitabinu a cisplatinu (85 %). Odpověď na chemoterapii byla definována jako kompletní (ypT0N0) nebo

parciální (\leq ypT1N0). Medián délky sledování dosáhl 14 měsíců (1–71). Dvouleté přežití bez progresu (PFS) jsme posuzovali pomocí Kaplan-Meierových křivek a srovnání přežití v rámci podskupin pomocí log-rank testu.

Výsledky: Dvouleté přežití bez progresu onemocnění bylo v celém souboru 69 % (95 % CI 52–86), u pacientů s klinicky negativními uzlinami (cT2–4N0) až 81 %. Kompletní nebo parciální odpověď jsme zaznamenali u 41 %, resp. 59 % pacientů. Pravděpodobnost dosažení alespoň parciální odpovědi na chemoterapii (\leq ypT1N0) byla vyšší u nádorů cT2 (76 %) než u cT3–4 (40 %). Dvouleté přežití bez progresu onemocnění bylo signifikantně lepší v případě odpovědi na chemoterapii: 93 % u patologického ypT0, 83 % u ypT1, 50 % u ypT2 a 31 % u ypT3–4 ($p=0,003$).

Závěr: Pacienti s odpovědí na NACH měli signifikantně lepší dvouleté přežití bez progresu ve srovnání s pacienty bez odpovědi. Do budoucna je nutná lepší selekce pacientů k NACH, identifikace responderů, k čemuž by mohl přispět vývoj nových molekulárních markerů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Chemoterapie, neoadjuvantní léčba, nádory močového měchýře.

SUMMARY

Staník M, Poprach A, Macík D, Čapák I, Jarkovský J, Malúšková D, Marečková N, Lakomý R, Doležel J. Neoadjuvant chemotherapy in muscle-invasive urothelial bladder cancer: correlation of response with patients survival.

Major statement: Response rates to neoadjuvant chemotherapy were high in our cohort of 41 patients with muscle-invasive bladder cancer. Patients with a complete response had significantly improved 2-year progression-free survival compared with the patients with residual disease.

Aims: Neoadjuvant chemotherapy (NAC) was shown to improve the overall survival in randomized trials. The aim of the study was to evaluate the frequency of response to NAC and the impact on prognosis of the disease.

Methods: From January 2010 to October 2015 124 patients with bladder cancer underwent radical cystectomy and 41 of them (33 %) received NAC. Chemotherapy was indicated in cT3–4 or cN+ tumours, cT2N0 disease only in presence of risk factors like hydronephrosis or lymphovascular invasion.

Glomerular filtration rate >50 ml/min and ECOG performance status ≤ 1 were used as chemotherapy eligibility criteria. Gemcitabine and cisplatin was the most frequently used regimen (85 %). Response to chemotherapy was defined as complete (ypT0N0) or partial (\leq ypT1N0). The median follow-up was 14 months (1–71). The Kaplan-Meier methods were used to calculate two-year progression-free survival (PFS) and subgroup survival comparison using log-rank test.

Results: Two-year PFS rates were 69 % (95 % CI 52–86) for the whole cohort and 81 % in patients with clinically negative lymph nodes (cT2–4N0). Complete or partial responses to NAC were seen in 41 % and 59 %, respectively. The probability of attaining at least partial response to NAC (\leq ypT1N0) was significantly higher in cT2 tumours (76 %) than in cT3–4 (40 %). Two-year PFS was significantly higher in case of response to chemotherapy: 93 % in ypT0, 83 % in ypT1, 50 % in ypT2 and 31 % in ypT3–4 ($p=0.003$).

Conclusion: Patients with a response to NAC had significantly improved 2-year PFS compared with the patients without the response. In the future, the development of new molecular biomarkers is warranted, that would allow better selection of patients to NAC.

KEY WORDS

Chemotherapy, neoadjuvant therapy, urinary bladder neoplasms.

.....

ÚVOD

V léčbě invazivních nádorů měchýře nedošlo za posledních 30 let k zásadnímu průlomům. Základem

léčby je kvalitně provedená radikální cystektomie s pánevní lymfadenektomií. Bohužel 30–50 % pacientů má již v čase radikální operace okultní metastázy, což je argumentem pro časně podání systémové léčby – chemoterapie (1, 2).

Současná urologická a onkologická doporučení preferují neoadjuvantní chemoterapii (NACH) před adjuvantní na základě kvalitnějších dat z randomizovaných studií (3). Metaanalýza studií s NACH prokázala 5% zlepšení celkového přežití pacientů s invazivními nádory měchýře, což odpovídá efektu perioperační chemoterapie u jiných typů solidních nádorů, přesto není koncept NACH v urologické komunitě široce přijat (4).

V současnosti existuje shoda na indikaci NACH u lokálně pokročilých nádorů cT3–4 a/nebo cN+. U nádorů ohraničeného na měchýř (pT2) je i při samotné radikální cystektomii riziko recurence relativně nízké (20–30%), což je argumentem odpůrců NACH u tumorů cT2 (5). Nicméně nepřesnost zobrazovacích metod vede u kategorie cT2 až v 50 % k podhodnocení rozsahu onemocnění, a proto se také u těchto nádorů doporučuje zvážit chemoterapii, zejména v případě výskytu rizikových faktorů, jako jsou nález hydronefrózy nebo lymfovaskulární invaze (6–8).

Nález kompletní patologické odpovědi pT0 při radikální cystektomii snižuje riziko úmrtí o 55 % a je prognosticky příznivým ukazatelem bez ohledu na to, jestli k ní došlo po samotné transuretrální resekci (TUR) měchýře nebo po resekci a NACH (9). Pětileté nádorově-specifické přežití u těchto pacientů dosahuje 85–90 % a hlavním přínosem NACH se zdá být právě častější výskyt pT0 (3, 5).

Dalším problémem je biologická heterogenita uroteliálních nádorů, jejímž projevem je 30% podíl non-responderů mezi pacienty podstupujícími chemoterapii. V současnosti chybí spolehlivé klinické a molekulární prediktory, které by nám umožnily identifikovat tuto skupinu nemocných, kteří nebudou mít prospěch z NACH.

Cílem naší práce je retrospektivní zhodnocení frekvence odpovědi na NACH, posouzení jejího prognostického vlivu a identifikace klinických prediktorů odpovědi.

SOUBOR PACIENTŮ A METODA

Za období od 1/2010 do 10/2015 podstoupilo v Masarykově onkologickém ústavu 124 pacientů s invazivním nádorem měchýře radikální cystektomii, z nichž 45 (36 %) dostalo NACH. Z hodnocení byli vyřazeni tři pacienti s podezřením na vstupní postižení uzlin nad úroveň bifurkace aorty a jeden pacient s malobuněčným karcinomem. U 41 hodnocených nemocných tvořil uroteliální karcinom dominantní část histologie nádoru.

K chemoterapii byly indikovány nádory cT3–4 a/nebo cN+. U kategorie cT2N0 (37 %) pouze v případě výskytu rizikových faktorů jako hydronefróza, lymfovaskulární invaze nebo histologická varianta uroteliálního karcinomu (mikropapilární typ). Základní stratifikaci v rámci souboru tvořil nález lymfadenopatie při diagnóze onemocnění, čímž se soubor rozdělil na skupiny cT2–4N0 a cT2–4N1–3, čítající 27 (66 %), resp. 14 (34 %) nemocných.

Kritériem způsobilosti pro ChT byla glomerulární filtrace >50 ml/min a funkční stav dle ECOG ≤1. Nejčastěji byla podána kombinace gemcitabinu a cisplatinu (GC) v 85 %, v případě renální insuficience byla v počátečních letech cisplatin nahrazena karboplatinou u šesti pacientů. Do konce roku 2013 byly podávány tři cykly NACH s intervalem 28 dní, od ledna 2014 pak čtyři cykly po 21 dnech. U každého pacienta jsme retrospektivně hodnotili dodržení předepsané dávky chemoterapie pomocí John Hopkins Dose Index (JH-DI) (10). Odpověď na chemoterapii byla definována jako kompletní (ypT0N0) nebo parciální (≤ypT1N0).

Medián délky sledování dosáhl 14 měsíců (1–71). Sledování bylo definováno dobou od radikální cystektomie do poslední kontroly nebo do zaznamenání recidivy nebo po úmrtí z jiné příčiny.

Retrospektivně jsme posuzovali vztah jednotlivých klinických charakteristik a odpovědi na chemoterapii. Hodnocené proměnné byly věk, pohlaví, kategorie cT a cN, primárně invazivní versus progredující neinvazivní nádor, makroskopicky kompletní versus nekompletní TUR, lymfovaskulární invaze, hydronefróza, vstupní glomerulární filtrace (eGFR), protokol chemoterapie a John Hopkins Dose Index.

Za ukazatel onkologických výsledků jsme vzhledem ke krátké době sledování zvolili dvouleté přežití bez progresu (PFS), které jsme posuzovali pomocí Kaplan-Meierových křivek a srovnání přežití v rámci podskupin pomocí log-rank testu. Schopnost predikce byla hodnocena pomocí logistické regrese a kvantifikována OR („odds ratio“) s intervalem spolehlivosti a p-hodnotou. Za statisticky významné byly považovány hodnoty $p < 0,05$.

VÝSLEDKY

Charakteristika souboru je uvedena v tabulce 1. Průměrný věk pacientů byl 63 let (42–76), muži a ženy tvořili 73 %, resp. 27 % a medián délky sledování dosáhl 14 měsíců (1–71). Klinicky lokalizované (cT2) a lokálně pokročilé onemocnění (cT3–4) mělo 21 (51 %), resp. 20 (49 %) pacientů a pánevní lymfadenopatii dle vstupních zobrazovacích vyšetření 14 (34 %) nemocných. Všichni pacienti podstoupili radikální cystektomii po NACH, 30denní mortalita byla 2 %.

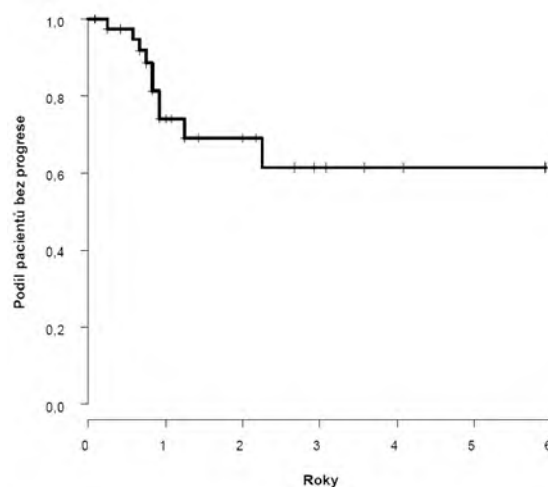
Dvouleté přežití bez progresu (PFS) dosáhlo 69 % (95 %CI: 52;86), k progresi došlo u deseti pacientů s mediánem deset (3–27) měsíců (obrázek 1). U pacientů s klinicky negativními uzlinami (cT2–4N0) bylo dosaženo dvouleté PFS 81 %, horší výsledky jsme zaznamenali u pacientů s klinickým postižením uzlin (cT2–4N1–3) 52 %, s mediánem přežití bez progresu 2,3 let (obrázek 2).

Tab. 1. Charakteristika souboru pacientů

Tab. 1. Patient characteristics

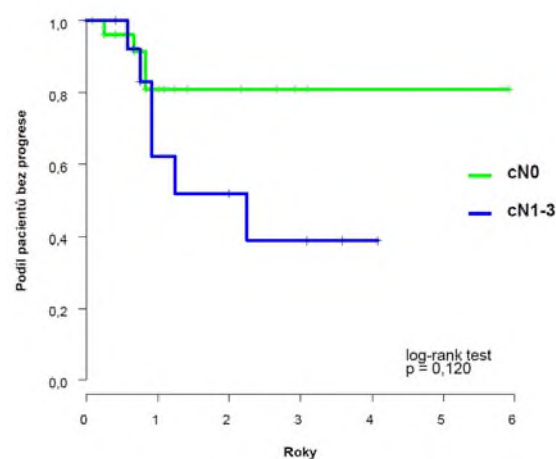
Charakteristika	N=41
Věk (průměr, rozsah)	63 (42–76)
Pohlaví:	
■ muži	30 (73 %)
■ žena	11 (27 %)
Chemoterapie:	
■ cisplatina + gemcitabin	35 (85 %)
■ karboplatina + gemcitabin	6 (15 %)
Klinická T kategorie:	
■ cT2	21 (51 %)
■ cT3–4	20 (49 %)
Klinická N kategorie:	
■ cN0	27 (66 %)
■ cN1–3	14 (34 %)

Odpovědi na chemoterapii jsme dosáhli celkově u 24 (59 %) nemocných, kompletní a částečnou u 17 (41 %), resp. 7 (18 %) (tabulka 2). Vyšší pravděpodobnost odpovědi na NACH byla u klinicky lokalizovaných nádorů (cT2) 76 % než u lokálně pokročilých (cT3–4) 40 % ($p=0,028$). U nádorů cT2 jsme zaznamenali lepší dvouleté PFS 76 % oproti 62 % u cT3–4 onemocnění, rozdíl však nebyl statisticky významný ($p=0,309$).



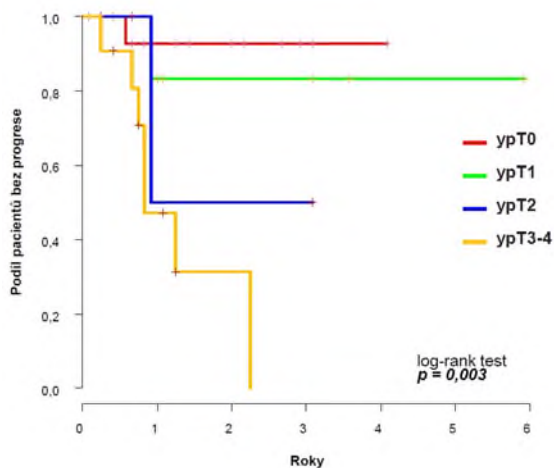
Obr. 1. Pravděpodobnost přežití bez progresu v celém souboru

Fig. 1. Probability of progression-free survival in the whole cohort of patients



Obr. 2. Pravděpodobnost přežití bez progresu u pacientů s klinicky negativními a pozitivními uzlinami

Fig. 2. Probability of progression-free survival in patients with clinically negative and positive lymph nodes



Obr. 3. Pravděpodobnost přežití bez progresie v celém souboru podle odpovědi na chemoterapii

Fig. 3. Probability of progression-free survival by response to chemotherapy

Dvouleté PFS se v rámci celého souboru signifikantně lišilo podle odpovědi na chemoterapii a dosáhlo 93 % ve skupině ypT0, 83 % u ypT1, 50 % u ypT2 a 31 % u ypT3–4 ($p=0,003$) (obrázek 3). Podobně u nemocných bez uzlinových metastáz po NACH (ypN0) bylo dosaženo vyšší dvouleté PFS 82 % oproti 50 % u ypN2 a 0 % u ypN3 ($p=0,049$).

Výrazně lepší výsledky jsme zaznamenali u nádorů bez vstupní lymfadenopatie (cT2–4N0), kde jsme až u 18 z 27 (67 %) pacientů zaznamenali odpověď na chemoterapii a pouze u šesti (22 %) nemocných přetrvávalo lokálně pokročilé onemocnění (ypT3–4). Dvouleté PFS činilo 100% u ypT0, ypT1 i ypT2, avšak pouze 33 % u ypT3–4.

Tab. 2. Odpověď na neoadjuvantní chemoterapii podle jednotlivých stadií. CR – kompletní odpověď, PR – částečná odpověď

Tab. 2. Response to neoadjuvant chemotherapy stratified by the stage of the disease. CR – complete response, PR – partial response

	ypT0N0 (CR)	ypTa-1N0	ypT≤1 (PR)	ypT2N0	ypT3–4N0	ypN1–3	Celkem
cT2–4N0	13 (48%)	5	18 (67%)	3	6	0	27
cT2	9 (56%)	4	13 (81%)	2	1	0	16
cT3–4	4 (36%)	1	5 (45%)	1	5	0	11
cT2–4N1–3	4 (29%)	2	6 (43%)	1	1	6	14
cT2	2 (40%)	1	3 (60%)	0	0	2	5
cT3–4	2 (22%)	1	3 (33%)	1	1	4	9

Univariátním prediktorem kompletní patologické odpovědi (ypT0) bylo z hodnocených proměnných pouze onemocnění cT2 versus cT3 (OR 0,15; $p=0,032$) a naznačený trend jsme zaznamenali v případě makroskopicky kompletního versus nekompletního TUR (OR 0,30; $p=0,128$) (tabulka 3). Multivariátní analýza nebyla provedena pro malý počet subjektů.

DISKUZE

Výsledky samotné chirurgické léčby invazivních nádorů měchýře, zejména u lokálně pokročilého onemocnění, jsou neuspokojivé a ke zlepšení můžou vést pouze opatření cílená na časnější diagnostiku nebo efektivní systémová léčba. Metaanalýzou studií s NACH bylo prokázáno zlepšení pětiletého celkového přežití o 5 %, což odpovídá 13% snížení rizika úmrtí (4). I přes prokázaný benefit NACH u invazivních nádorů měchýře je však tento koncept multimodální léčby málo využívaný. Možným vysvětlením jsou obavy z toxicity léčby a z odkladu radikální operace u non-responderů.

V naší práci jsme retrospektivně zhodnotili 41 pacientů s NACH, u kterých bylo dosaženo dvouletého přežití bez progresie 69%. Všichni pacienti podstoupili radikální cystektomii po chemoterapii a 30denní mortalita kombinované léčby byla pouze 2%. Při pohledu na skladbu pacientů jsou v našem souboru na rozdíl od publikovaných randomizovaných studií zastoupeni také pacienti s klinicky pozitivními uzlinami před NACH (34%), což znemožňuje

Tab. 3. Univariátní analýza rizikových faktorů patologické kompletní odpovědi pomocí metodiky logistické regrese. OR = odds ratio, CI = interval spolehlivosti

Tab. 3. Univariate analysis of pathologic complete response risk factors using logistic regression. OR = odds ratio, CI = confidence interval.

Proměnná	OR (95 % CI)	P hodnota
Věk (roky) – spojitě	1,02 (0,94; 1,11)	0,583
Pohlaví: žena/muž	0,75 (0,18; 3,11)	0,689
cT: cT3/cT2	0,15 (0,03; 0,85)	0,032
cT4/cT2	0,83 (0,14; 5,08)	0,843
cN: cN1–3/cN0	0,58 (0,16; 2,19)	0,424
Progredující neinvazivní/primárně invazivní nádor	0,81 (0,17; 3,99)	0,800
Paliativní TUR/ makroskopicky kompletní TUR	0,30 (0,06; 1,42)	0,128
Lymfovaskulární invaze, N 29	1,63 (0,32; 8,4)	0,562
eGFR před ChT – spojitě	0,31 (0,02; 4,16)	0,378
>1,2 ml/s/0,6–1,2 ml/s	0,91 (0,23; 3,59)	0,888
Carboplatina, Gemzar/cDDP, Gemzar	2,15 (0,41; 11,2)	0,362
John Hopkins Dose index:		
■ 4 cykly/2 cykly nebo 3 cykly s redukcí	2,07 (0,4; 10,85)	0,387
■ 3 cykly nebo 4 cykly s redukcí/2 cykly nebo 3 cykly s redukcí	1,75 (0,31; 9,75)	0,523
Hydronefróza	1,01 (0,26; 3,96)	0,986
¹ odds ratio a jeho statistická významnost odvozena z logistické regrese ¹ odds ratio and its statistical significance derived from logistical regression		

přímé srovnání celého souboru. V randomizovaných studiích s NACH, do kterých byli zařazeni většinou pouze pacienti s klinicky negativními uzlinami cT2–4N0, se pětileté celkové přežití pohybovalo v rozmezí 49–57 % (11–13). V naší srovnatelné skupině 27 pacientů cT2–4N0 jsme zaznamenali optimistické dvouleté PFS 81 %, které je ale pravděpodobně ovlivněno krátkou dobou sledování.

Vícero studií prokázalo, že dosažení kompletní patologické odpovědi pT0 je prognosticky příznivým ukazatelem (5, 9, 11). V metaanalýze 13 studií a 886 pacientů Petrelli et al. popsali kompletní odpověď u 29 % nemocných a u této skupiny bylo sníženo riziko úmrtí o 55 % (9). V největší retrospektivní multicentrické studii 1 130 pacientů s onemocněním cT2–4N0 Zargar et al. zaznamenali celkovou a kompletní odpověď u 41 %, resp. 23 %. Riziko úmrtí bylo u nich sníženo o 75 % oproti skupině bez odpovědi (14). Zastoupení lokálně pokročilých nádorů bylo 53 %, což je srovnatelné s naším souborem, a autoři hodnotili pouze pacienty, kteří dostali alespoň tři cykly chemoterapie.

Výborné onkologické výsledky spojeny s nálezem pT0 při cystektomii se neliší, jestli k nim došlo po sa-

motném TUR tumoru nebo po TUR a následné NACH. Rozdíl v přežití se zdá být způsoben vyšším podílem 25–38 % pacientů s pT0 po NACH oproti 12–15 % po samotné transuretrální resekcii (11–13). V našem souboru jsme zaznamenali odpověď na chemoterapii (ypT≤1) u 59 % pacientů, z toho kompletní a částečnou odpověď u 41 %, resp. 18 % případů. V podskupině 27 pacientů s klinicky negativními uzlinami cT2–4N0 jsme dosáhli odpovědi u 67 % nemocných a až 48 % tvořili kompletní odpovědi. Tyto výsledky jsou lepší než v randomizovaných nebo větších retrospektivních studiích, kde se celková odpověď (ypT≤1) a kompletní odpověď (ypT0) pohybuje v rozmezí 22–58 %, resp. 10–38 % (11, 14). Vyšší podíl pacientů s ypT0 v našem souboru může souviset s malým počtem pacientů, jejich selekcí a navíc se jedná o výsledky z jednoho pracoviště s relativně uniformním léčebným protokolem. Pozitivní je, že také ve skupině se vstupní pánevní lymfadenopatií jsme dosáhli relativně vysoké odpovědi na NACH 43 %, kompletní odpověď jsme zaznamenali u 29 % a dvouleté PFS bylo 52 % s mediánem do progresu 2,3 let.

Velice nepříznivým faktorem je přetrvávání invazivního karcinomu měchýře po NACH. V případě

nálezu perzistujícího onemocnění ohraničeného na měchýř (ypT2) je rozhodující, zda se jednalo o pacienta se vstupně klinicky negativními (cN0) nebo pozitivními uzlinami (cN1–3), jelikož dvouleté PFS dosáhlo v prvním případě 100 % a ve druhém 50 %. Naopak, v případě reziduálního lokálně pokročilého onemocnění ypT3–4 (27 % pacientů), bylo dvouleté PFS nízké v obou případech a dosáhlo pouze 33 %, resp. 31 %. Výsledky však mohou být ovlivněny malým počtem pacientů.

Několik studií se snažilo o predikci odpovědi na NACH, které by umožnilo selektivní podání pacientům s pravděpodobným léčebným benefitem. Zargar et al. popsali klinickou kategorii cT3–4 a aplikaci jiného chemoterapeutického režimu než MVAC (metotrexát, vinblastin, doxorubicin, cisplatina) a GC jako negativní prediktivní faktory odpovědi na NACH (14). V našem souboru jsme prokázali jako negativní prediktor pouze kategorii cT3 (OR 0,15; $p=0,032$) a trend byl naznačen v případě nekompletního TUR ($p=0,128$). Vyšší pravděpodobnost odpovědi na NACH byla publikována v případě věku pod 60 let a vyššího počtu aplikovaných cyklů chemoterapie, v našem souboru ale signifikantně nevyšly (10).

Kvalitní data z randomizovaných studií s NACH máme ze současných protokolů pouze pro MVAC (11). Pro svou vyšší toxicitu byl však MVAC v praxi z velké části nahrazen kombinací GC, nicméně data potvrzující non-inferioritu této kombinace pocházejí z randomizované studie u metastatického onemocnění a v případě NACH jenom z retrospektivních studií (15). Podíly pacientů, kteří dosáhli kompletní odpovědi, se ale mezi protokoly v retrospektivním hodnocení neliší (14).

Je nutné připomenout, že i přes pokroky v systémové léčbě je pro prognózu pacienta rozhodující kvalita chirurgické léčby. Pečlivost lymfadenektomie nebo výskyt pozitivních okrajů sehrávají zásad-

ní roli. V jedné z randomizovaných studií s NACH (SWOG 8710) byl signifikantní rozdíl v pětiletém celkovém přežití 44 %, resp. 61 %, pokud měli pacienti při operaci odstraněno méně nebo více než deset uzlin (16). V našem souboru byl medián odstraněných uzlin 24 (IQR 18–30).

Limitací studie je krátká doba sledování 14 měsíců, což neumožňuje optimální zhodnocení onkologických výsledků. Na druhé straně dvouleté PFS dobře odpovídá dlouhodobějším výsledkům, jelikož k většině recidiv dojde v prvních dvou letech po operaci. Nuhn et al. prokázali na 1 738 pacientech 86% souhlas mezi dvouletým PFS a pětiletým celkovým přežitím (17).

K dosažení optimálních onkologických výsledků u invazivních nádorů měchýře je nutné identifikovat non-respondery na chemoterapii, kteří tvoří asi třetinu cílové populace, abychom zamezili opoždění radikální operace. V nedávné době byly publikovány studie, ve kterých mutace genů zodpovědných za opravu DNA byly spojeny s dobrou odpovědí na NACH (18). Lze předpokládat, že nová taxonomie uroteliálních nádorů na základě molekulárních markerů bude hrát v predikci mnohem větší roli než současné klinické prediktory (19) a velkým příslibem jsou nové možnosti systémové terapie, jako je cílená léčba nebo imunoterapie.

ZÁVĚR

V našem souboru jsme zaznamenali vysoký podíl odpovědi na NACH. Pacienti s kompletní odpovědí měli signifikantně lepší dvouleté přežití bez progresu než pacienti s reziduálním onemocněním. Současné klinické prediktory odpovědi na chemoterapii jsou nedostatečné a je nutný vývoj nových biomarkerů, které umožní identifikovat respondery a selektovat podání NACH.

LITERATURA

1. Stein JP, Lieskovsky G, Cote R, et al. Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer: long-term results in 1,054 patients. *J Clin Oncol* 2001; 19(3): 666–675.
2. Sternberg CN, Bellmunt J, Sonpavde G, et al. ICUD-EAU International consultation on bladder cancer 2012: chemotherapy for urothelial carcinoma – neoadjuvant and adjuvant settings. *Eur Urol* 2013; 63(1): 58–66.

3. **Meeks JJ, Bellmunt J, Bochner BH, et al.** A systematic review of neoadjuvant and adjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2012; 62: 523–533.
4. **Advanced Bladder Cancer (ABC) Meta-Analysis Collaboration:** Neoadjuvant chemotherapy in invasive bladder cancer: update of a systematic review and meta-analysis of individual patient data: advanced bladder cancer (ABC) meta-analysis collaboration. *Eur Urol* 2005; 48: 202–205.
5. **Lavery HJ, Stensland KD, Niegisch G, Albers P, Droller MJ.** Pathological T0 following radical cystectomy with or without neoadjuvant chemotherapy: a useful surrogate. *J Urol.* 2014; 191(4): 898–906.
6. **Culp SH, Dickstein RJ, Grossman HB, et al.** Refining patient selection for neoadjuvant chemotherapy before radical cystectomy. *J Urol.* 2014; 191(1): 40–47.
7. **Lotan Y, Gupta A, Shariat SF, et al.** Lymphovascular invasion is independently associated with overall survival, cause-specific survival, and local and distant recurrence in patients with negative lymph nodes at radical cystectomy. *J Clin Oncol* 2005; 23(27): 6533–6539.
8. **Stimson CJ, Cookson MS, Barocas DA, et al.** Preoperative hydronephrosis predicts extravesical and node positive disease in patients undergoing cystectomy for bladder cancer. *J Urol.* 2010; 183(5): 1732–1737.
9. **Petrelli F, Coiu A, Cabiddu M, et al.** Correlation of pathologic complete response with survival after neoadjuvant chemotherapy in bladder cancer treated with cystectomy: a meta-analysis. *Eur Urol* 2014; 65(2): 350–357.
10. **Gandhi NM, Baras A, Munari E, et al.** Gemcitabine and cisplatin neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive urothelial carcinoma: Predicting response and assessing outcomes. *Urol Oncol* 2015; 33(5): 204e1–7.
11. **Grossman HB, Natale RB, Tangen CM, et al.** Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *N Engl J Med.* 2003; 349: 859–866.
12. **Sherif A, Holmberg L, Rintala E, et al.** Neoadjuvant cisplatin based combination chemotherapy in patients with invasive bladder cancer: a combined analysis of two Nordic studies. *Eur Urol* 2004; 45: 297–303.
13. **Griffiths G, Hall R, Sylvester R, Raghavan D, Parmar MK.** International phase III trial assessing neoadjuvant cisplatin, methotrexate, and vinblastine chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer: long-term results of the BA06 30894 trial. *J Clin Oncol* 2011; 29(16): 2171–2177.
14. **Zarger H, Espiritu PN, Fairey AS, et al.** Multicenter assessment of neoadjuvant chemotherapy for muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2015; 67(2): 241–249.
15. **Von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT, et al.** Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4602–4608.
16. **Herr HW, Faulkner JR, Grossman HB, et al.** Surgical factors influence bladder cancer outcomes: a cooperative group report. *J Clin Oncol* 2004; 22(14): 2781–2789.
17. **Nuhn P, May M, Fritsche H-M, et al.** External validation of disease-free survival at 2 or 3 years as a surrogate and new primary endpoint for patients undergoing radical cystectomy for urothelial carcinoma of the bladder. *Eur J Surg Oncol* 2012; 38: 637–642.
18. **Plimack ER, Dunbrack RL, Brennan TA, et al.** Defects in DNA repair genes predict response to neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in muscle-invasive bladder cancer. *Eur Urol* 2015; 68(6): 959–967.
19. **Cancer Genome Atlas Research Network.** Comprehensive molecular characterization of urothelial bladder carcinoma. *Nature.* 2014; 507: 315–322.

PROGNOSTICKÝ VÝZNAM PARAMETRŮ VYCHÁZEJÍCÍCH Z POMĚRU NEUTROFILŮ K LYMFOCYTŮM U INVAZIVNÍCH NÁDORŮ MOČOVÉHO MĚCHÝŘE

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF PARAMETERS ARISING FROM THE RATIO OF NEUTROPHILS AND LYMPHOCYTES IN INVASIVE BLADDER NEOPLASMS

Natália Marečková¹, Michal Staník¹, Ivo Čapák¹, Daniel Macík¹, Jiří Jarkovský²,
Denisa Malúšková², Jan Doležel¹

¹Oddělení onkourologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

²Institut biostatistiky a analýz, Masarykova univerzita, Brno

Došlo: 26. 10. 2016

Přijato: 21. 11. 2016

Kontaktní adresa:

MUDr. Natália Marečková

Oddělení onkourologie, Masarykův onkologický ústav, Žlutý Kopec 7, 656 53 Brno

e-mail: natalia.mareckova@mou.cz

Střet zájmů: žádný

Prohlášení o podpoře:

Podpořeno MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805).

Autor prohlašuje, že zpracování článku nebylo podpořeno farmaceutickou společností.

SOUHRN

Marečková N, Staník M, Čapák I, Macík D, Jarkovský J, Malúšková D, Doležel J. Prognostický význam parametrů vycházejících z poměru neutrofilů k lymfocytům u invazivních nádorů močového měchýře.

Hlavní stanovisko: Elevace poměru neutrofilů k leukocytům, jako marker systémové zánětlivé

reakce, byla potvrzena jako negativní prediktor nádorově-specifického přežití v souboru 110 pacientů, kteří podstoupili radikální cystektomii pro invazivní nádor močového měchýře.

Cíl: Cílem naší práce bylo zhodnotit prognostický význam longitudinálně měřených markerů systémové zánětlivé reakce NLR (neutrophil-to-lymphocyte ratio) a z něho odvozeného dNLR (derived neutrophil-to-lymphocyte ratio) u pacientů podstupujících radikální cystektomii.

Soubor pacientů a metoda: Soubor byl tvořen 110 pacienty s invazivním nádorem močového měchýře, kteří v letech 2006–2014 podstoupili radikální cystektomii bez neoadjuvantní chemoterapie. U těchto pacientů byly retrospektivně shromážděny výsledky krevních odběrů a vypočteny parametry NLR a dNLR před operací, tři až pět měsíců po operaci a v čase recidivy. Pacienti byli dle hladin NLR a dNLR rozděleni do dvou skupin rizika podle cut-off hodnot 3,9 pro NLR a 2,7 pro dNLR. Kaplan-Meierova analýza byla použita k posouzení pětiletého nádorově-specifického přežití a schopnost predikce byla hodnocena pomocí logistické regrese a kvanti-

fikována HR („hazard ratio“) s intervalem spolehlivosti a p-hodnotou.

Výsledek: Pooperační elevace NLR a dNLR byly negativními prediktory nádorově-specifického přežití. Pětileté nádorově-specifické přežití dosáhlo 64 % v případě $NLR \leq 3,9$ oproti 42 % u $NLR > 3,9$ (HR 2,0; $p=0,043$). Podobně u $dNLR \leq 2,7$ bylo pětileté nádorově-specifické přežití 63 % ve srovnání s 30 % u $dNLR > 2,7$ (HR 3,7; $p=0,002$). U předoperačních hodnot NLR a dNLR nebyly rozdíly v přežití signifikantní. V čase recidivy byla vyšší hodnota NLR a dNLR spojena s krátkým mediánem přežití čtyř, resp. tří měsíců ve srovnání se 14 a 12 měsíci v případě hodnot nižších než cut-off.

Závěr: NLR a dNLR jsou jednoduché a levné markery systémové zánětlivé reakce a mají prognostický potenciál u invazivních nádorů močového měchýře. Umožňují identifikovat vysoce rizikové pacienty v čase po cystektomii a při recidivě onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

Nádory močového měchýře, prognóza, biomarkery, zánětlivá reakce.

SUMMARY

Marečková N, Staník M, Čapák I, Macík D, Jarkovský J, Malúšková D, Doležel J. Prognostic significance of parameters arising from the ratio of neutrophils and lymphocytes in invasive bladder neoplasms.

Major statement: Elevated lymphocyte to neutrophil ratio as a marker of systemic inflammation, was confirmed as negative predictors of cancer-specific survival in the group of 110 patients, who underwent radical cystectomy for invasive urothelial carcinoma of urinary bladder.

Aims: The aim of our study was to investigate the prognostic impact of the longitudinal monitoring of markers of systemic inflammation neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR, derived NLR) in patients undergoing radical cystectomy.

Patients and methods: In the period 2006–2014 110 patients with bladder cancer underwent radical cystectomy without neoadjuvant chemotherapy. Results of blood count before, and 3–5

months after surgery, and at the time of diagnosis of relapse, were obtained retrospectively, and parameters of NLR and dNLR were analyzed. Patients were divided in two groups according to the NLR and dNLR with the cut-off values of 3.9 and 2.7 respectively. The prognostic impact of these parameters on patients' survival was assessed.

Results: Postoperative elevation of both NLR and dNLR was a negative predictor of cancer-specific survival. Five year cancer-specific survival was 64 % in patients with $NLR \leq 3.9$ compared to 42 % in those with $NLR > 3.9$ (HR 2.0; $p=0.043$). Similarly, in case of dNLR, with the cut-off value of 2.7, the survival rates in the groups were 63% and 30% respectively (HR 3.7; $p=0.002$). Pre-operative values of both parameters showed no prognostic significance. At the time of relapse, higher values of NLR and dNLR were associated with shorter survival (median 4 and 3 months compared to 14 and 12 months).

Summary: Markers of systemic inflammation showed promising results in identifying high-risk patients before surgery, as well as in follow-up. In the case of relapse, they can be helpful in prognosis prediction. In our study, the values of both NLR and dNLR obtained 3 months after surgery were of most importance, with the ability to identify the group of patients in statistically significant risk of disease progression.

KEY WORDS

Biomarkers, prognosis, inflammation, urinary bladder neoplasms.

.....

ÚVOD

Uroteliální karcinom močového měchýře představuje nejčastější malignitu močového traktu a ve světě je to osmé nejčastěji diagnostikované zhoubné onemocnění (1). Standardní léčbou invazivních nádorů močového měchýře je radikální cystektomie s pánevní lymfadenektomií (2). I přes léčbu dochází u 30–50 % pacientů k recidivě one-

mocnění (3). Navíc, dlouhodobé výsledky po léčbě radikální cystektomií jsou srovnatelné s výsledky před 30 lety (4).

U invazivních nádorů močového měchýře chybí jednodušší ukazatelé, kteří by umožnili stratifikovat pacienty podle prognózy nebo přizpůsobit adjuvantní léčbu. Možným zdrojem prognostických a prediktivních biomarkerů je s nádorem asociovaná zánětlivá reakce. Zánět je jedním z hlavních znaků nádorového onemocnění, jehož progresi podporuje mimo jiné ovlivnění růstu, invaze a migrace nádorových buněk (5). Projevuje se nejen na úrovni nádorového mikroprostředí, které je infiltrováno buňkami vrozené i adaptivní imunity, ale působením zánětlivých cytokinů také systémově (6).

Mezi nejjednodušší markery zánětlivé reakce patří hodnoty odvozené z vyšetření diferenciálního krevního obrazu. Jejich výhodou je jednoduchost, dostupnost a možnost snadného longitudinálního sledování (7). Navíc pravidelné kontroly krevního obrazu jsou součástí pooperačního sledování a nepředstavují žádnou další zátěž pro pacienta.

Více nedávných studií prokázalo spojitost zánětlivých ukazatelů s přežitím u pacientů se solidními nádory. Nejčastěji zkoumanými byly počty neutrofilů, lymfocytů, trombocytů, hladiny C-reaktivního proteinu (CRP), albuminu, IL-6 a z nich získané parametry. V poslední době je pozornost upřena na poměr neutrofilů k lymfocytům (neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR) nebo jeho varianta odvozená z hodnoty leukocytů (derived neutrophil-to-lymphocyte ratio, dNLR) (8, 9). Prognostický přínos NLR byl potvrzen také u uroteliálních nádorů močového měchýře. Vyšší NLR bylo spjato s nepříznivým histopatologickým nálezem a horším nádorově-specifickým přežitím před i po radikální cystektomii (10, 11). Problémem zůstává definování cut-off hodnot k rozdělení nemocných podle rizika progresu.

Cílem naší práce bylo zhodnotit prognosticky význam longitudinálně měřených markerů systémové zánětlivé reakce NLR a z něho odvozeného dNLR u pacientů s invazivním karcinomem močového měchýře podstupujících radikální cystektomii.

METODY

V Masarykově onkologickém ústavu bylo v období 1/2006–8/2014 provedeno 142 radikálních cystektomií. Do studie byli zařazeni pacienti s karcinomem měchýře cT2–4 N0–3, kteří přežili minimálně tři měsíce od operace. Pacienti, kteří podstoupili neo-adjuvantní chemoterapii, byli ze souboru vyloučeni. Daná kritéria splňovalo celkem 110 pacientů.

Retrospektivně byly vyhledány záznamy vyšetření krevního obrazu ve třech časových bodech: před operací, tři až pět měsíců po operaci a u nemocných, u nichž došlo k progresi, také v čase detekce recidivy. Zejména v době po operaci jsme se na základě klinických záznamů snažili použít výsledek odběru, kdy nebyly žádné známky akutního infekčního onemocnění. Kompletní údaje o odběrech krve jsme sesbírali u 93 (85 %) nemocných před operací, u 107 (97 %) po operaci a u 39 nemocných v čase recidivy. Z dohledaných dat diferenciálního krevního obrazu byly vykalkulovány dva parametry – NLR, vyjadřující poměr počtu neutrofilů k lymfocytům, a dNLR, vyjadřující poměr počtu neutrofilů a rozdílu leukocytů a neutrofilů (neutrofilů/leukocyty – neutrofilů). dNLR se využívá zejména ve studiích, kdy není dostupná hodnota absolutního počtu lymfocytů. Doba přežití byla stanovena od doby krevního odběru do úmrtí nebo po poslední kontrolu u žijícího pacienta.

Oba sledované parametry NLR a dNLR se chovají jako spojitá veličina a pro statistické zpracování byly rozděleny na soubory s vysokým a nízkým rizikem progresu pomocí arbitrárně určených hodnot cut-off v souladu s již publikovanými zkušenostmi v literatuře (10, 12). U NLR byl stanoven cut-off 3,9 (nízké riziko $NLR \leq 3,9$; vysoké riziko $NLR > 3,9$), u dNLR 2,7 (nízké riziko $dNLR \leq 2,7$; vysoké riziko $dNLR > 2,7$).

Prognostický vliv cut-off hodnot NLR a dNLR jsme posuzovali pomocí pětiletého nádorově-specifického přežití v případě odběrů před operací a v čase tři měsíce po operaci. U pacientů s recidivou bylo stanoveno dvouleté nádorově-specifické přežití od doby recidivy. V obou případech bylo přežití modelováno pomocí Kaplan-Meierových křivek a přežití srovnáno v rámci podskupin pomocí

log-rank testu. Srovnání charakteristik pacientů bylo provedeno pomocí ML Chi-square testu pro kategoriální proměnné a Mann-Whitneyho U testu pro spojitě proměnné. V jednorozměrné analýze byla schopnost stanovení prognózy hodnocena pomocí logistické regrese a kvantifikována HR („hazard ratio“) s intervalem spolehlivosti a p-hodnotou. Za statisticky signifikantní byly považovány hodnoty $p < 0,05$.

VÝSLEDKY

Více než polovina našich pacientů byla starší 65 let, muži a ženy byli zastoupeni v 68 %, resp. 32 %. V 50 % bylo patologem potvrzeno pokročilé stadium onemocnění (pT3–4), přes 40 % pacientů mělo v době cystektomie již nádorem postižené lymfatické uzliny (tabulka 1).

Hodnoty poměrů NLR a dNLR byly zaznamenány v čase před operací, s odstupem tří až pěti měsíců od operace a v čase detekce recidivy. Hodnota cut-off byla stanovena arbitrárně na hodnotu 3,9 u poměru NLR a hodnotu 2,7 u poměru dNLR k odlišení skupiny s vysokým a nízkým rizikem progresu. V tabulce 2 je rozdělení pacientů podle hodnot zkoumaných poměrů v čase jednotlivých krevních odběrů.

Vztah klinicko-patologických charakteristik k nádorově-specifickému přežití je uveden v tabulce 3.

Ze 110 pacientů zemřelo během sledování 42 na karcinom měchýře a osm z jiné příčiny. Medián délky sledování dosáhl 39 měsíců (3–124), u žijících pacientů 69 měsíců (4–124). Při univariátní analýze byly ze základních charakteristik negativními prediktory nádorově-specifického přežití (tabulka 3) věk nemocných nad 75 let (HR 3,4; $p=0,007$), pT3–4 (HR 11,3; $p<0,001$) a pN1 (HR 4,6; $p<0,001$). Z vyšetřovaných hematologických markerů vyšly statisticky signifikantně ve vztahu k přežití pacientů pooperační NLR a dNLR (obrázek 2), na rozdíl od jejich předoperačních hodnot (obrázek 1). Pooperační hodnota NLR větší než cut-off 3,9 znamenala dvojnásobné riziko úmrtí na karcinom měchýře oproti nemocným s nižším NLR a pětileté nádorově-specifické přežití u těchto skupin dosáhlo 64 % (NLR $\leq 3,9$) a 42 % (NLR $> 3,9$) (HR 2,0; $p=0,043$; obrázek 2a). Podobně pacienti s pooperačním dNLR vyšším než cut-off 2,7 měli více než třikrát větší riziko úmrtí a pětileté nádorově-specifické přežití bylo 63 % (dNLR $\leq 2,7$) a 30 % (dNLR $> 2,7$) (HR 3,7; $p=0,002$; obrázek 2b).

V čase před operací byl pouze u dNLR naznačený trend k statisticky signifikantnímu rozdílu v přežití. Hodnota dNLR větší než 2,7 byla spojena s rizikem úmrtí na nádor měchýře o 80% vyšším než

Tab. 1. Charakteristika souboru pacientů

Tab. 1. Patient characteristics

		N (%)
Věk	Pod 65 let	48 (43,6 %)
	65–74 let	47 (42,7 %)
	Nad 75 let	15 (13,6 %)
Pohlaví	Muž	75 (68,2 %)
	Žena	35 (31,8 %)
pT	pT0	18 (16,4 %)
	pT1	18 (16,4 %)
	pT2	19 (17,3 %)
	pT3-4	55 (50,0 %)
pN	pN0	63 (58,3 %)
	pN1-3	45 (41,7 %)

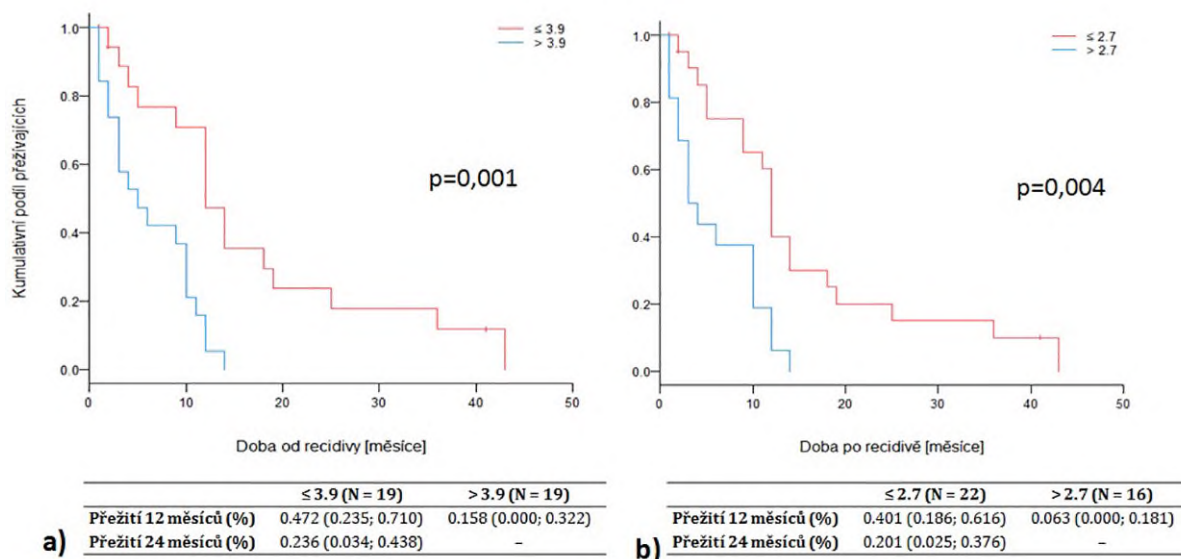
Tab. 2. Rozdělení NLR a dNLR u pacientů podle zvolených hodnot cut-off v čase jednotlivých krevních odběrů

Tab. 2. NLR and dNLR distribution according to the cut-off values, at different times of blood sampling

	cut-off	N (%)
NLR před cystektomií	$\leq 3,9$	69 (74,2 %)
	$> 3,9$	24 (25,8 %)
NLR tři měsíce po cystektomii	$\leq 3,9$	88 (82,2 %)
	$> 3,9$	19 (17,8 %)
NLR v čase recidivy	$\leq 3,9$	19 (48,7 %)
	$> 3,9$	20 (51,3 %)
dNLR před cystektomií	$\leq 2,7$	74 (79,6 %)
	$> 2,7$	19 (20,4 %)
dNLR tři měsíce po cystektomii	$\leq 2,7$	97 (90,7 %)
	$> 2,7$	10 (9,3 %)
dNLR v čase recidivy	$\leq 2,7$	22 (56,4 %)
	$> 2,7$	17 (43,6 %)

Tab. 3. Vliv charakteristik pacientů a zánětlivých parametrů (binarizované podle cut-off hodnot) na nádorově-specifické přežití pacientů, zhodnoceno univariátní analýzou pomocí metodiky logistické regrese; HR = hazard ratio
Tab. 3. Influence of patient characteristics and inflammatory markers (according to the cut-off values) on cancer-specific survival; univariate analysis using logistic regression; HR = hazard ratio

		HR (95% IS)	p-hodnota
Věk	Pod 65 let	Referenční kategorie	
	65–74 let	1,895 (0,948; 3,788)	0,071
	Nad 75 let	3,405 (1,393; 8,322)	0,007
Pohlaví (muž/žena)	Muž / Žena	1,544 (0,833; 2,861)	0,168
pT	0–1	Referenční kategorie	
	2	2,714 (0,607; 12,132)	0,191
	3–4	11,330 (3,477; 36,916)	<0,001
pN	0 / 1–3	4,599 (2,378; 8,896)	<0,001
NLR před cystektomií	≤ 3,9 / > 3,9	1,477 (0,745; 2,928)	0,264
NLR tři měsíce po cystektomií	≤ 3,9 / > 3,9	2,032 (1,023; 4,036)	0,043
NLR v čase recidivy	≤ 3,9 / > 3,9	3,598 (1,644; 7,875)	0,001
dNLR před cystektomií	≤ 2,7 / > 2,7	1,788 (0,887; 3,607)	0,104
dNLR tři měsíce po cystektomií	≤ 2,7 / > 2,7	3,688 (1,628; 8,356)	0,002
dNLR v čase recidivy	≤ 2,7 / > 2,7	2,996 (1,430; 6,279)	0,004



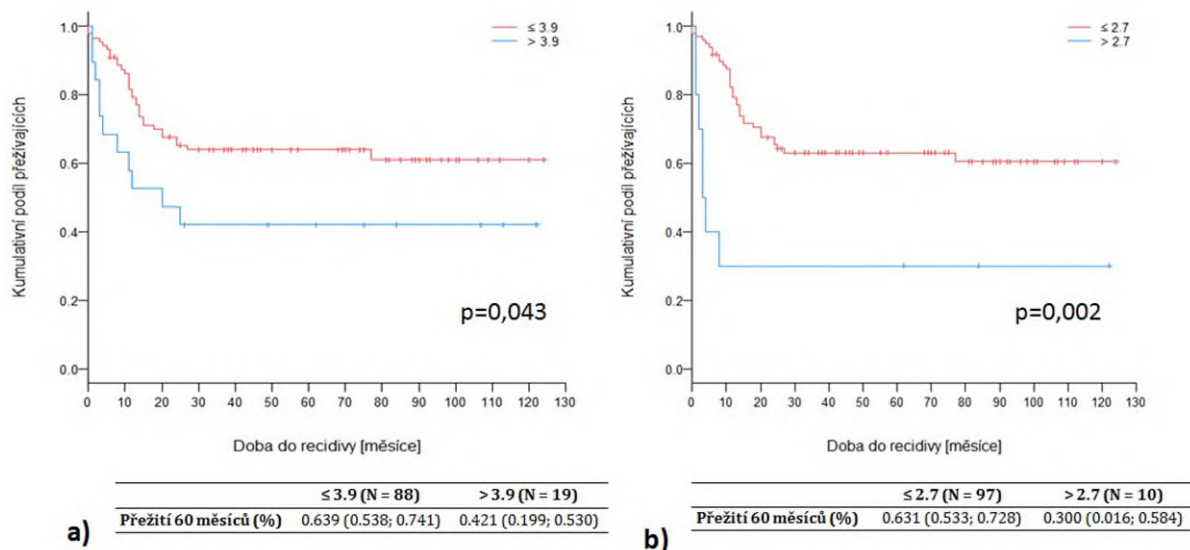
Obr. 1. Pětileté nádorově-specifické přežití dle zánětlivého parametru NLR (a) a dNLR (b) před cystektomií, rozlišeno podle cut-off hodnot s 95 % IS

Fig. 1. Five year cancer-specific survival according to the values of NLR (a) and dNLR (b) before cystectomy, divided by the cut-off values (CI 95 %)

v případě hodnot nižších než 2,7 (HR=1,8; p=0,104). Pětileté nádorově-specifické přežití dosáhlo v těchto dvou skupinách 38 % a 60 % (obrázek 1b).

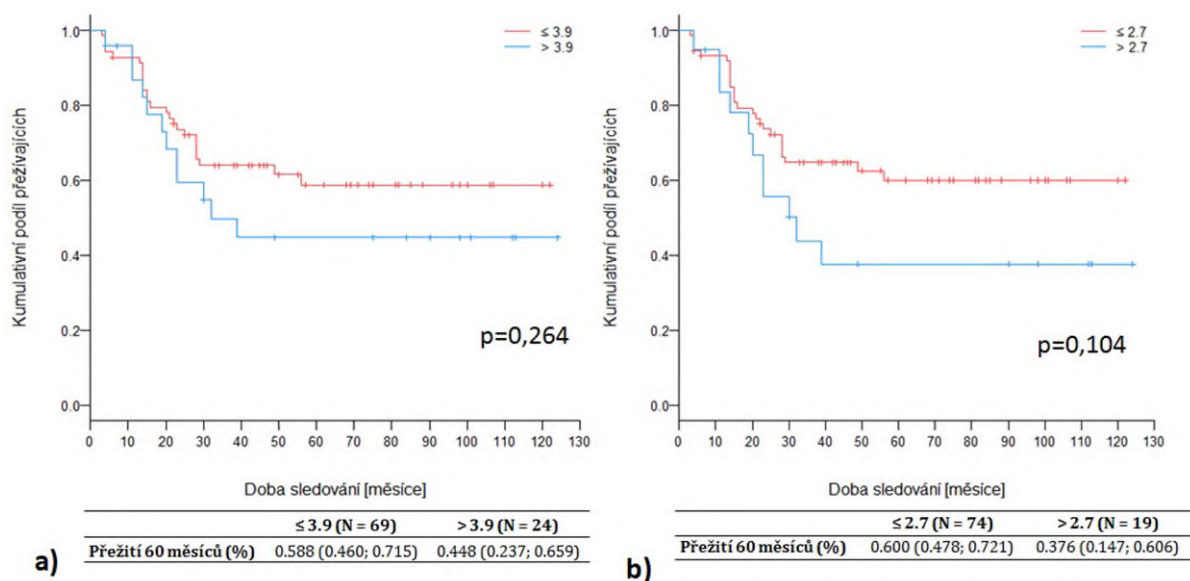
V čase recidivy onemocnění byly oba ukazatele NLR (HR 3,6; p=0,001; obrázek 3a) a dNLR (HR 3,0; p=0,004; obrázek 3b) prediktory délky přežití. Podle

námi zvolených cut-off hodnot byl soubor rozdělen přibližně na dvě poloviny, jejichž další prognóza se diametrálně lišila. Medián přežití po recidivě ve skupinách pacientů s NLR větším a menším než hodnota cut-off 3,9 dosáhl 4, resp. 14 měsíců. U odpovídajících skupin dNLR se jednalo o 3, resp. 12 měsíců.



Obr. 2. Pětileté nádorově-specifické přežití dle zánětlivého parametru NLR (a) a dNLR (b) tři měsíce po cystektomii, rozlišeno podle cut-off hodnot s 95 % IS

Fig. 2. Five year cancer-specific survival according to the values of NLR (a) and dNLR (b) three months after cystectomy, divided by the cut-off values (CI 95 %)



Obr. 3. Dvouleté nádorově-specifické přežití dle zánětlivého parametru NLR (a) a dNLR (b) v období po recidivě, rozlišeno podle cut-off hodnot s 95 % IS

Fig. 3. Two year cancer-specific survival according to the values of NLR (a) and dNLR (b) at the time of relapse, divided by the cut-off values (CI 95 %)

DISKUZE

Radikální cystektomie s pánevní lymfadenektomií představuje standard léčby invazivního uroteliálního nádoru močového měchýře. I přes léčbu dochází u 30–50 % nemocných k recidivě

onemocnění. V posledních letech je velká snaha o nalezení nových prognostických a prediktivních biomarkerů, které by nám umožnily vyselektovat pacienty podle jejich prognózy a přizpůsobit jim adekvátně rozsah a agresivitu léčby. V současné studii jsme hodnotili prognostický potenciál lon-

gitudinálně sledovaných markerů systémové zánětlivé odpovědi NLR a dNLR.

Mechanismus trvalé aktivace systémové zánětlivé odpovědi v přítomnosti nádorového onemocnění není úplně objasněn, ale podílí se na něm pravděpodobně dysregulace imunitního systému. Na jedné straně zvýšená funkce vrozené, nespecifické imunity, kdy je zánětlivá reakce vyvolána zejména neutrofily a makrofágy, na straně druhé snížená protinádorová reakce získané, adaptivní imunity, zprostředkovaná lymfocyty. Makrofágy a neutrofily jsou producenty cytokinů, jako je například tumor nekrotizující faktor, interleukin 1, interleukin 6 a pro-angiogenní vaskulární endoteliální růstový faktor (13). Relativní lymfopenie může být projevem nízké hladiny CD4+ T-helper lymfocytů hrajících důležitou roli v antitumorózní imunitě organismu. V nádorovém mikroprostředí podporuje zánětlivá reakce paradoxně růst a invazi nádoru (5, 6), na systémové úrovni je důležitým následkem zánětu nepříznivý vliv na nutriční a funkční stav nemocných (14).

V rozsáhlé metaanalýze 100 studií NLR u různých solidních nádorů zkoumali autoři souvislost NLR a přežití pacientů. Hodnota NLR vyšší než cut-off (medián cut-off byl 4) byla nepříznivým prognostickým ukazatelem a tito pacienti měli o 81 % vyšší riziko úmrtí. Tento efekt byl pozorován ve všech podskupinách, lokalizacích onemocnění, či stádiích (8). Podobné výsledky byly prokázány také u karcinomu močového měchýře. Gondo et al. pozorovali u 189 pacientů signifikantně vyšší nádorově-specifickou mortalitu u pacientů s předoperační hodnotou NLR vyšší jako 2,5 (7). V dalších studiích byla pozorována souvislost vyššího předoperačního NLR s rizikem extravezikálního postižení a horším celkovým přežíváním (10, 15). Vyšší NLR po operaci bylo také spojeno s nepříznivou prognózou (11, 16). Kang et al. na souboru 385 pacientů po radikální cystektomii prokázali horší celkové a nádorově-specifické přežití u pacientů s NLR vyšším než 2,0 a vyšší hodnota NLR byla nepříznivým prognostickým prediktorem i při multivariátní analýze (16).

Naše práce je zajímavá tím, že jsme markery NLR a dNLR zhodnotili longitudinálně, tedy před

a po operaci a v čase recidivy. Zejména s posouzením prognostického potenciálu NLR a dNLR v čase recidivy jsme se v literatuře nesetkali. Výsledky podporují již dříve publikované práce a ukazují smysl monitorování těchto jednoduchých markerů pro stanovení prognózy nemocných a detekci recidivy. Pacienti s předoperačně vyšším poměrem NLR a dNLR vykazovali kratší nádorově-specifické přežití, ale výsledky nedosáhly hladiny statistické významnosti. Jako prognosticky významnější byly hodnoty NLR a dNLR získané s krátkým odstupem tří až pěti měsíců od operace. Z těchto dvou parametrů měl vyšší prognostický potenciál dNLR, jelikož umožnil lépe diskriminovat prognózu nemocných (HR 3,7 vs. HR 2,0). Hladiny NLR a dNLR předurčovaly prognózu také v případě recidivy onemocnění. Pacienti s vyšším poměrem NLR a dNLR v čase recidivy vykazovali statisticky signifikantně kratší přežívání, medián přežití dosáhl v těchto skupinách pouze čtyř, resp. tří měsíců.

Před operací mělo v našem souboru podle zvolených cut-off hodnot 20–25 % pacientů zvýšené NLR a dNLR a po operaci došlo u 7–10 % k normalizaci těchto hodnot. Pooperační přetrvávání zánětlivé reakce vyjádřené jako elevace NLR, resp. dNLR může být ukazatelem reziduálního metastatického onemocnění a s ním spojeného zánětu. Tomu odpovídají i naše výsledky, které ukázaly, že prognostickými prediktory byly pouze pooperační hodnoty NLR a dNLR. Na druhé straně je nutné si uvědomit, že hodnoty zánětlivých markerů mohou být ovlivněny i jinými faktory než nádorovým onemocněním nebo akutním zánětem (17). Elevace NLR je popisována také u neoncologických onemocnění, jako jsou ateroskleróza, infarkt myokardu nebo chronické renální selhání (18).

NLR a dNLR jsou jednoduché a levné markery, které jsou běžně vyšetřované při sledování pacientů s nádory močového měchýře a umožňují snadno monitorovat jejich změny v čase. Při jednorozměrné analýze byly pooperační hodnoty NLR a dNLR negativními prediktory nádorově-specifického přežití, ale ve srovnání s klasickými histopatologickými charakteristikami jako pT3–4 (HR 11,3; $p < 0,001$) a pN1 (HR 4,6; $p < 0,001$) měly menší prognostický potenciál. Další studie budou

nutné k posouzení přínosu markerů zánětu a jejich zapracování do již existujících prognostických modelů.

Limitací naší studie je, že se jedná o retrospektivní studii a nezískali jsme zpětně údaje krevních odběrů u všech pacientů (viz metody). Problémem je taky způsob stanovení hodnoty cut-off pro jednotlivé parametry. Hodnoty cut-off se u jednotlivých studií často liší a v naší studii byly zvoleny arbitrárně (12). Do budoucna je nutná validace a shoda ohledně jejich použití. NLR a dNLR určují prognózu pacientů s invazivními nádory měchýře, ale vzhledem k tomu, že nebyla provedena mul-

tivariátní analýza, nelze posoudit, zdali se chovají jako nezávislé prediktivní faktory.

ZÁVĚR

Markery systémové zánětlivé odpovědi NLR a dNLR mají prognostický potenciál u invazivních uroteliálních nádorů močového měchýře. Jsou jednoduché, levné a jejich monitoring umožňuje identifikovat vysoce rizikové pacienty po radikální cystektomii a také určují prognózu pacientů v čase recidivy onemocnění.

LITERATURA

1. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11–30.
2. Dinney CP. Therapy of invasive bladder cancer. *Urology* 2006; 67(Suppl 1): 56–59.
3. Malkowicz SB, van Poppel H, Mickisch G, et al. Muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. *Urology* 2007; 69: 3–16.
4. Zehnder P, Studer UE, Skinner EC, et al. Unaltered oncological outcomes of radical cystectomy with extended lymphadenectomy over three decades. *BJU Int* 2013; 112: E51–8.
5. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646–674.
6. Grivennikov S, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140(6): 883–899.
7. Gondo T, Nakashima J, Ohno Y, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and establishment of novel preoperative risk stratification model in bladder cancer patients treated with radical cystectomy. *Urology* 2012; 79: 1085–1091.
8. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis *JNCI J Natl Cancer Inst* 2014; 106: dju124.
9. Hu Q, Gou Y, Sun C, et al. The prognostic value of C-reactive protein in renal cell carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Urol Oncol* 2014; 32: 50.e1–8.
10. Viers BR, Boorjian SA, Frank I, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with advanced pathologic tumor stage and increased cancer-specific mortality among patients with urothelial carcinoma of the bladder undergoing radical cystectomy. *Eur Urol* 2014; 66(6): 1157–1164.
11. Kawahara T, Furuya K, Nakamura M, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio is a prognostic marker in bladder cancer patients after radical cystectomy. *BMC Cancer* 2016; 16: 185.
12. Marchioni M, Primiceri G, Ingrosso M, et al. The clinical use of the neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in urothelial cancer: a Systematic review. *Clin Genitourin Cancer* 2016; pii: S1558–7673(16)30098–2: v tisku.
13. Cho H, Hur HW, Kim SW, et al. Pre-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is elevated in epithelial ovarian cancer and predicts survival after treatment. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58: 15–23.
14. McMillan DC. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009; 12(3): 223–226.
15. Krane LS, Richards KA, Kader AK, et al. Preoperative neutrophil/lymphocyte ratio predicts overall survival and extravesical disease in patients undergoing radical cystectomy. *J Endourol* 2013; 27: 1046–1050.

16. Kang M, Jeong CW, Kwak C, Kim HH, Ku JH. The prognostic significance of the early postoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with urothelial carcinoma of the bladder undergoing radical cystectomy. *Ann Surg Oncol* 2016; 23(1): 335–342.
17. Azab B, Jaglall N, Atallah JP, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio as a predictor of adverse outcomes of acute pancreatitis. *Pancreatology* 2011; 11(4): 445–452.
18. He J, Li J, Wang Y, Hao P, Hua Q. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) predicts mortality and adverse-outcomes after ST-segment elevation myocardial infarction in Chinese people *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(7): 4045–4056.