

# Burkittův lymfom: přehled patofyziologie, diagnostiky a terapie

Šmardová L.<sup>1</sup>, Vášová I.<sup>1</sup>, Navrátil M.<sup>1</sup>, Křenová Z.<sup>2</sup>, Šálek D.<sup>1</sup>, Marečková A.<sup>1</sup>, Křen L.<sup>3</sup>, Bolčák K.<sup>4</sup>, Vorlíček J.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Interní hematologická klinika Fakultní nemocnice Brno a lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, <sup>2</sup>Klinika dětské onkologie Fakultní nemocnice Brno a lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, <sup>3</sup>Ústav patologie Fakultní nemocnice Brno a lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, <sup>4</sup>Oddělení nukleární medicíny a PET, Masarykův onkologický ústav, Brno

## Souhrn

Burkittův lymfom patří mezi rychle proliferující a vysoce agresivní zralá B lymfoproliferativní onemocnění s charakteristickou chromozomální translokací *c-myc* protoonkogenu. Klinicky se projevuje většinou extranodální lokalizací, s častým postižením gastrointestinálního traktu a obvykle velkou masou tumoru. Letos uplyne 50 let od okamžiku, kdy jako první popsal endemickou variantu tohoto lymfomu irský lékař Denis Burkitt u dětí ve východní Africe a jeho spolupráce s virologem Anthony Epsteinem vedla k průkazu virové etiologie tohoto lymfomu. Diagnostika Burkittova lymfomu vyžaduje rychlé zahájení léčby, která je v současné době založena na podávání intenzivních kombinovaných chemoterapeutických režimů. Součástí léčebných protokolů je vždy profylaxe postižení centrálního nervového systému kombinací vysokodávkovaného metotrexátu, cytosinarabinosidu a intrathekální aplikace cytostatik. Vzhledem k pravidelné CD20 pozitivitě nádorových buněk je kombinací cytostatik s monoklonální protilátkou rituximab dosahováno lepších léčebných výsledků. Burkittův lymfom dnes patří mezi potenciálně kurabilní onemocnění.

**Klíčová slova:** Burkittův lymfom, virus Epstein-Barrové, molekulární biologie, *c-myc*, syndrom nádorového rozpadu, chemoterapie

## Summary

Šmardová L., Vášová I., Navrátil M., Křenová Z., Šálek D., Marečková A., Křen L., Bolčák K., Vorlíček J., Mayer J.: Burkitt's lymphoma: pathophysiology, diagnostics and treatment

Burkitt's lymphoma is a highly aggressive mature B-cell malignancy with a characteristic chromosomal translocation of *c-myc* proto-oncogene. Clinically, it manifests mostly by an extranodal involvement, affection of gastrointestinal system and usually by developing of a big tumor mass. Exactly 50 years ago Denis Burkitt, an Irish doctor of medicine, described as the first the endemic variant of this lymphoma in children in eastern Africa and his cooperation with virologist Anthony Epstein led to the discovery of the virus etiology of this lymphoma. Burkitt's lymphoma requires an early medical treatment that is nowadays based on intensive combined cycles of chemotherapeutic agents. A part of the therapy includes a prophylaxis of the affection of central nervous system by tumor cells, where high-dose methotrexate, cytosinarabinosid and intrathecal therapy is used. With respect to regular CD20 positivity in cancer cells, the best curative outcome is achieved by a combination of cytostatic agents therapy with a monoclonal antibody therapy rituximab. Burkitt's lymphoma is nowadays ranked among potentially curable diseases.

**Key words:** Burkitt's lymphoma, Epstein-Barr virus, molecular biology, *c-myc*, tumor lysis syndrom, chemotherapy

*Transfuze Hematol. dnes, 14, 2008, No. 3, p. 131–139.*

## Historie

V roce 1958 irský lékař Denis Burkitt poprvé popsal vzácně se vyskytující bolestivý tumor čelisti u malých dětí v zemích východní Afriky, vyznačující se rychlým růstem a způsobující úmrtí během několika málo měsíců (1). O dva roky později zjistili jeho kolegové Greg O'Connor a Jack Neville Davies, že se nejedná o sarkom, jak Burkitt původně předpokládal, ale o nádor lymfatického původu. Další systematickou prací Burkitta a O'Conora na území celé Afriky se ukázalo, že se nádor vyskytuje zejména v oblastech kolem rovníku mezi 15° severní a jižní šířky a v oblasti cípu táhnoucího se podél východního pobřeží kontinentu (tzv. lympho-

ma belt). Onemocnění popsali u dětí bez ohledu na jejich etnický původ nebo sociální příslušnost, avšak výhradně v oblastech o nadmořské výšce nižší než 1500 metrů nad mořem s teplotami neklesajícími pod 15 °C (2). Právě tato epidemiologická souvislost je přivedla k myšlence, že hojný výskyt komárů přenášejších v těchto oblastech malárii, pravděpodobně podporuje vznik tohoto nádoru. Spolupráce s anglickými virology Anthony Epsteinem a Yvonne Barrovou vedla nakonec k objevu nového viru, který byl označen za hlavního původce vzniku lymfomu (3).

Burkitt dlouho označoval svůj objev jako Africký lymfom, na mezinárodním setkání UNESCO v roce 1963 však padlo rozhodnutí nazvat jej Burkittův nádor po svém objeviteli (4).

## Etiologie

Burkittův lymfom je považován za první lidské nádorové onemocnění, u kterého byla prokázána souvislost s virovou infekcí. Virus Epstein-Barrové (EBV), řazený mezi herpesviry, byl izolován ze vzorků tkáně u afrických pacientů poprvé v roce 1964 (3, 4). Později bylo zjištěno, že infekce EBV kausálně souvisí i s výskytem jiných typů nádorů (PTLD – lymfoproliferativní onemocnění po transplantaci, Hodgkinský lymfom nebo nasofaryngeální karcinom).

Infekce EBV hraje pravděpodobně zásadní roli v patogeneze endemické formy Burkittova lymfomu, protože virový genom byl nalezen téměř ve všech jeho nádorových buňkách. Předpokládá se přímá souvislost mezi výskytem malárie (*Plasmodium falciparum*) v endemických oblastech rovníkové Afriky a zvýšenou transformační schopností tohoto viru u infikovaných B lymfocytů.

U sporadických forem Burkittova lymfomu a forem asociovaných s imunodeficitem je frekvence souvislosti s EBV výrazně nižší (asi 30 %). Infekce EBV tedy pravděpodobně není jediným patogenetickým mechanismem vzniku při lymfomu, ale roli budou hrát i další faktory jako imunoprese či další antigenní stimuly (5, 6).

## Klasifikace a epidemiologie

Vývoj klasifikace Burkittova lymfomu následuje vývoj poznání lymfatické tkáně podobně jako u jiných lymfoproliferativních onemocnění. Jeho přehled uvádí

Tab. 1. Vývoj klasifikace Burkittova lymfomu (synonyma).

<b>Lukes-Collins</b>	1975	lymfom z malých buněk s nerozštěpeným jádrem folikulárního centra
<b>Working Formulation</b>	1982	lymfom z malých buněk s nerozštěpeným jádrem Burkittova typu
<b>FAB</b>	1990	akutní lymfoblastická leukemie L3 (nádorové buňky Burkittova typu)
<b>Kiel</b>	1992	Burkittův lymfom
<b>REAL</b>	1993	Burkittův lymfom
<b>WHO</b>	2001	<b>Burkittův lymfom, morfologické varianty:</b> - klasický Burkittův lymfom - Burkittův lymfom s plazmocytoidní diferenciací - atypický Burkitt/Burkittoidní lymfom

Tab. 2. Přehled charakteristik jednotlivých klinických variant Burkittova lymfomu (5, 6).

	<b>endemická</b>	<b>sporadická</b>	<b>asociovaná s imunodeficitem</b>
<i>epidemiologie</i>	rovníková Afrika a Nová Guinea (endemické oblasti malárie)	Evropa a Severní Amerika	asociace s infekcí HIV (u 25–40 %)
<i>incidence</i>	5–15/100 000 dětí	0,2–0,3/100 000, častěji u dětí	
<i>asociace s EBV infekcí</i>	téměř 100 %	asi 30 %, nízký socioekonomický stav	25–40 %
<i>morfologie</i>	klasická forma	klasická forma	forma s plazmocytoidní diferenciací
<i>věk</i>	děti (4–7 let)	děti a mladiství, dospělí (medián 30 let)	
<i>pohlaví (muži : ženy)</i>	2:1	2–3:1	
<i>oblasti postižení (typické)</i>	čelisti a další obličejové kosti (v 50 %)	abdominální lokalizace (ileo-cekální přechod)	

tab. 1. V současné době stále platí poslední vydání **WHO klasifikace z roku 2001** (6), která definuje klinické a morfologické varianty (viz. níže) Burkittova lymfomu. Z hlediska svého původu je řazen k lymfomům z buněk zárodečného (germinálního) centra společně se zralou B-akutní lymfoblastickou leukemií.

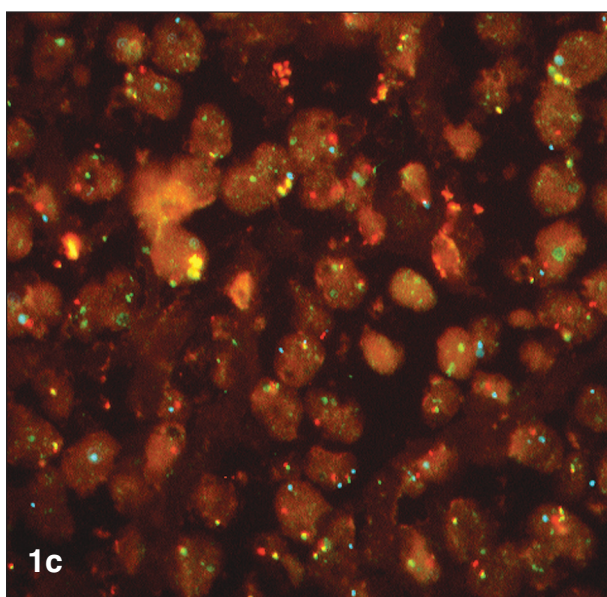
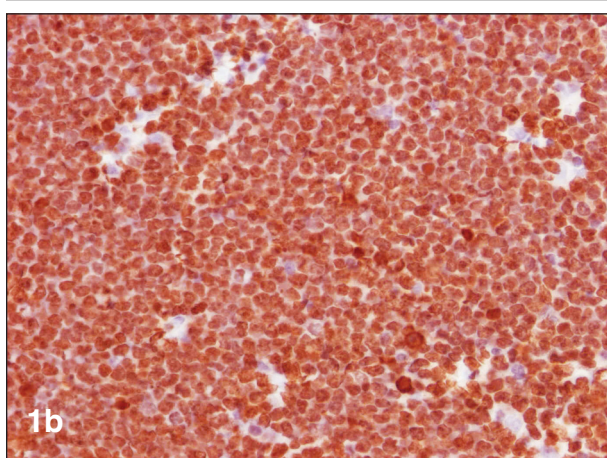
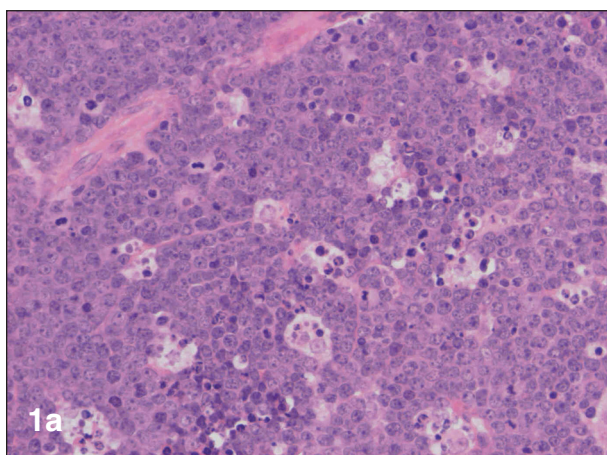
Každá z **klinických variant** Burkittova lymfomu se odlišuje od ostatních svojí morfologií, biologickým chováním a klinickou manifestací (tab. 2):

1. endemický Burkittův lymfom
2. sporadický Burkittův lymfom
3. Burkittův lymfom asociovaný s imunodeficitem

**Endemická forma** související s infekcí EBV je častá v oblastech rovníkové Afriky a na Nové Guineji, kde její incidence dosahuje 5-15/100 000 dětí a kde také tvoří nejčastější dětské nádorové onemocnění. Tato forma se projevuje nejčastěji postižením čelistních kostí.

**Sporadická forma** se vyskytuje nejčastěji v Evropě a Severní Americe a její incidence zde činí 0,2-0,3/100 000 obyvatel. Zatímco u dětí představuje až 30–50 % všech neHodgkinských lymfomů, u dospělých pacientů jsou to pouhá 2,5 % (medián věku je 30 let s častějším výskytem u mužů než u žen – 2–3:1). Sporadická forma se obvykle projevuje mimouzlinovou lokalizací onemocnění. Někdy je onemocnění diagnostikováno v leukemizované formě, morfologicky shodné s L3 typem akutní lymfoblastické leukemie dle FAB klasifikace.

Forma Burkittova lymfomu **asociovaná s imunodeficitem**, nejčastěji s infekcí HIV, se objevuje často jako jeden z prvních příznaků AIDS. Časté je mimouzlinové postižení včetně infiltrace centrálního nervového systému.



**Obr. 1. Histopatologická diagnostika Burkittova lymfomu** (materiál Interní hematologické kliniky, zpracoval L. Křen, Ústav patologie FNB): (a) základní barvení hematoxylinem-eosinem, (b) imunohistochemický průkaz proliferčního faktoru Ki-67, (c) fluorescenční in situ hybridizace (FISH) – pozitivní translokace (8;14).

## Biologie

Burkittův lymfom patří mezi zralé B lymfomy, je typický svým agresivním průběhem a charakteristickou

chromozomální přestavbou ***c-myc* protoonkogenu**. Zvýšená exprese tohoto genu, ke které dochází jeho připojením ke genům pro syntézu imunoglobulinů, přispívá k patogenezi Burkittova lymfomu narušením regulace buněčného cyklu, apoptózy a buněčné diferenciace.

### 1. Morfologie

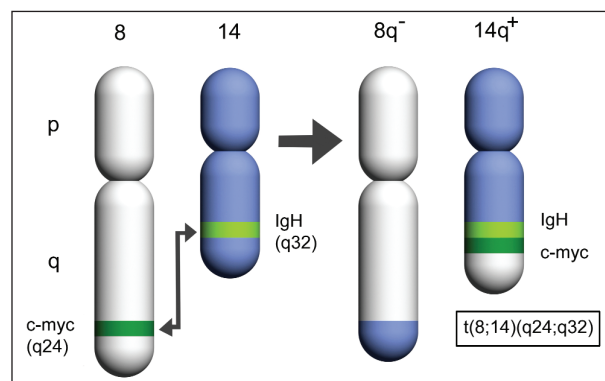
Buňky Burkittova lymfomu jsou monomorfní, malé až středně velké, s bazofilní cytoplazmou a nápadně velkou proliferací (Ki-67 až 100 %) (6, 7). Častý je vzhled „hvězdného nebe“, který je dán přítomností velkých benigních makrofágů fagocytujících apoptotické nádorové buňky (obr. 1). Vedle této klasické formy rozeznává WHO klasifikace (2001) na základě morfologického obrazu ještě takzvaný variantní Burkittův lymfom. Tato atypická (neboli Burkitt-like) varianta se vyznačuje rovněž vysokou proliferací, vykazuje však větší pleomorfismus ve tvaru a počtu buněčných jader. Varianta Burkittova lymfomu s plazmocytoidní diferenciací se častěji nachází u dětí a je běžná u typů asociovaných s imunodeficitem.

### 2. Imunofenotyp

Nádorové buňky exprimují membránový IgM, panB antigeny (CD19, CD20, CD22) a CD10, naopak chybí exprese CD5, CD23 a TdT (terminální deoxyribonukleotidyl transferáza). U plazmocytoidní varianty Burkittova lymfomu detekujeme intracytoplazmatický monoklonální imunoglobulin (6).

### 3. Cytogenetika

Pro Burkittův lymfom je charakteristická translokace *c-myc* protoonkogenu lokalizovaném na 8. chromozomu (8q24) (8, 9). Při typické chromozomální translokaci (obr. 2) je buněčný protoonkogen *c-myc* přemístěn na 14. chromozom (14q32), kde se dostává pod vliv aktivního promotoru genu pro těžký imunoglobulinový řetězec (IgH) – **t(8;14)**. Historie objevu této translokace sahá do roku 1972 (10). O deset let později (11) byl na translokovaném lokusu 8. chromozomu nalezen protoonkogen *myc* a jeho přítomnost v místě zvýšené exprese imunoglobulinů u B lymfocytů upozornila na patogenezi nádorového zvratu (12).



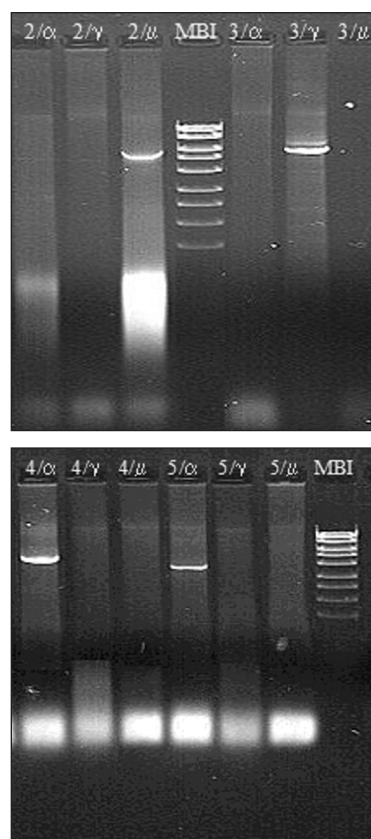
**Obr. 2.** Schéma charakteristické chromozomální translokace u Burkittova lymfomu.

Typická varianta chromozomální aberace se nachází přibližně v 75 % případů Burkittova lymfomu, u zbylých přestaveb nacházíme zejména translokace t(2;8)(p12;q24) a t(8;22)(q24;q11), kde je *c-myc* přemístěn k promotoru genu pro kappa (resp. lambda) lehký řetězec imunoglobulinu. Stejně translokace se mohou vyskytovat také u atypických Burkittových lymfomů a v malém procentu (do 10 %) difuzních velkobuněčných B lymfomů a folikulárních lymfomů s vyšším gradingem vzniklých trasformací jejich nížce maligních variant (7).

Až u 65 % sporadických Burkittových lymfomů nacházíme další chromozomální abnormality, které jsou spojovány s horší prognózou (u dětí na chromozomu 13 a 22, u dospělých na chromozomu 17) (13, 14). K dalším častým genetickým změnám rovněž patří aberace nádorového supresoru p53. Některé práce naznačují, že právě vyřazení signální dráhy p14<sup>ARF</sup>-MDM2-p53 by mohlo představovat klíčový druhý zásah při vzniku Burkittova lymfomu a významný podíl případů skutečně nese bodovou mutaci v genu kódujícím nádorový supresor p53 nebo jiná poškození této dráhy (15).

#### 4. Analýza genomu a DNA čipy (microarrays)

V posledním desetiletí se rychle rozvíjí technologie DNA čipů, která umožňuje současně studovat aktivitu tisíců různých genů a jejich produktů a může tak pomoci odlišit různé podtypy nádorových onemocnění s rozdílnou prognózou a odpovědí na léčbu. Na základě genové exprese byla též stanovena molekulární charakteristika („signatura“) Burkittova lymfomu (16). Charakteristický genový profil dále jednoznačně odlišuje Burkittův lymfom od difuzního velkobuněčného B lymfomu. Rozlišení těchto dvou typů lymfomů pomocí klinických, morfologických či cytogenetických hodnocení



**Obr. 3a a 3b. Molekulárně biologická diagnostika Burkittova lymfomu – metoda long distance PCR** (materiál Centra molekulární biologie a genové terapie Interní hematologické kliniky, zpracovala A. Marečková).

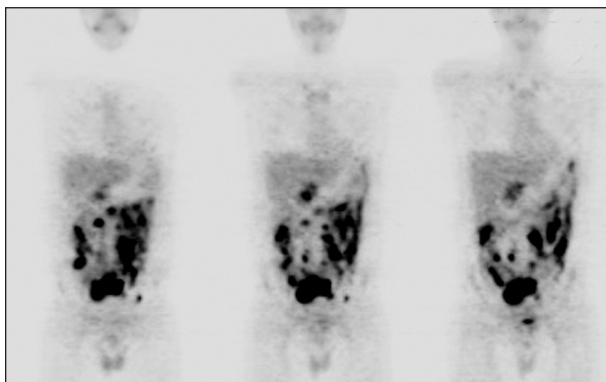
Metoda umožňuje detekovat nejčastější translokaci u Burkittova lymfomu t(8;14)(q24;q32). Diagnostika je založena na třech nezávislých PCR reakcích s jedním společným primerem navrženým do 2. exonu genu *c-myc* a třemi primery navrženými do konstantních oblastí C $\alpha$ , C $\mu$  a C $\gamma$  genu pro *IgH*.

**Tab. 3. Klasifikace maligních lymfomů dle Sharon B. Murphyové (1980) (20).**

<b>I</b>	postižení jedné uzliny (nebo extranodální manifestace), s výjimkou mediastinální, abdominální nebo epidurální lokalizace
<b>II</b>	postižení více uzlin (a/nebo extranodální manifestace) na stejné straně bránice, s výjimkou mediastinální, abdominální nebo epidurální lokalizace; kompletně resekovatelný primární abdominální tumor (II R)
<b>III</b>	jakákoliv lokalizace na obou stranách bránice, epidurální postižení, mnohožiskové postižení skeletu bez infiltrace kostní dřeně; lokalizovaný ale neresekovatelný (III A) nebo extenzivní (III B) abdominální tumor
<b>IV</b>	jakákoliv lokalizace s infiltrační kostní dřeně nebo CNS

**Tab. 4. Diagnostická doporučení pro Burkittův lymfom podle National Comprehensive Cancer Network (verze 1.2007) (21).**

<p><b>1. stanovení diagnózy:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- histologické vyšetření uzliny či tkáně</li> <li>- imunofenotypizace a cytogenetika/FISH</li> <li>- <i>fakultativně</i> – molekulárně genetická analýza - detekce t(8;14) (obr. 3)</li> </ul>
<p><b>2. stanovení rozsahu onemocnění – určení klinického stadia (dle Ann Arbor a v pediatrii též dle Murphyové) a stupně rizika:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- anamnéza a objektivní vyšetření s popisem všech uzlinových lokalit, velikosti jater a sleziny, performance status (Karnofsky nebo ECOG)</li> <li>- laboratorní vyšetření: krevní obraz s diferenciálním rozpočtem, základní biochemické vyšetření vč. laktátdehydrogenázy a kyseliny močové, beta2 mikroglobulin, sérologické vyšetření hepatitid, EBV a HIV</li> <li>- zobrazovací vyšetření – CT vyšetření hrudníku a břicha a páneve; <i>fakultativně</i> - FDG-PET (obr. 4)</li> <li>- vyšetření mozkomíšního moku - cytologie a imunofenotypizace</li> <li>- vyšetření kostní dřeně (trepanobiopsie): cytologie, imunofenotypizace, histologie a cytogenetika</li> </ul>



**Obr. 4. Diagnostika Burkittova lymfomu pomocí celotělové FDG-PET (materiál Oddělení nukleární medicíny a PET, MOÚ, Brno, zpracoval K. Bolčák).**

Mnohočetná ložiska s enormně vysokým metabolismem glukózy (SUV 16-22) odpovídající vitální nádorové tkáni v dutině břišní, s maximem ventrálně (pravděpodobně na peritoneu) a ve středním hypogastriu, u pacienta s nově diagnostikovaným Burkittovým lymfomem.

ni může být mnohdy obtížné a genová analýza může vést k přehodnocení konečné diagnózy až ve 30 % případů (17).

## Diagnostika a určení klinického stadia

Diagnózu Burkittova lymfomu stanovíme na základě korelace histologického obrazu (typické morfologie s vysokou proliferací frakcí nádoru), imunofenotypizace a cytogenetického průkazu translokace t(8;14). Její pozitivita k definitivnímu uzavření diagnózy nestačí. Jak jsme již uvedli, může se vyskytovat také u jiných vysoce agresivních typů lymfomů.

Endemická forma Burkittova lymfomu se projevuje ve více než 50 % případů postižením čelistí nebo jiných obličejových kostí dětí. Sporadická forma tohoto lymfomu obvykle postihuje gastrointestinální trakt, nejčastěji terminální ileum a cékum, dále mesenterium či omentum a asi u 1/4 pacientů vytváří tumor hmatný v pravé jámě kyčelní. V těchto případech vyvolává různé symptomy jako jsou bolesti břicha, poruchy pasáže, nevolnost nebo zvracení. Nezřídka se onemocnění poprvé projevuje známky náhlé příhody břišní např. perforací tenkého nebo tlustého střeva či krvácením do zažívacího traktu. Vzácné nejsou ani další pro lymfomy méně typické lokality postižení jako jsou ledviny, vaječníky, děloha nebo prsy (18). Generalizovaná lymfadenopatie nebývá u tohoto typu lymfomu obvyklá. Postižení centrálního nervového systému je poměrně časté a nejčastěji se manifestuje ve formě leptomeningeální infiltrace, dále poškozením mozkových nervů nebo paraspinální infiltrace (19).

Kromě určení klinického stadia dle kritérií Ann Arbor uvádějí někteří autoři klasifikační systém užívaný pro maligní lymfomy v pediatrii – **klasifikaci dle Murphyové** (tab. 3) (20). Oba systémy se poněkud od-

lišují v hodnocení pokročilých stadií onemocnění. Doporučení diagnostických a stážovacích vyšetření pro Burkittův lymfom jsou uvedena v tabulce 4.

## Léčba

Burkittův lymfom se od ostatních lymfomů odlišuje extrémně rychlým růstem a často velkou nádorovou masou, na druhou stranu však vysokou citlivostí k protinádorové léčbě. Právě vysoká chemosenzitivita je příčinou zvýšeného rizika vzniku **syndromu nádorového rozpadu**, který se typicky rozvíjí v prvních dnech zahájení protinádorové léčby, ale vyjimečně k němu může dojít i spontánně. Může provázet léčbu všech lymfomů s vysokou proliferací frakcí, poprvé však byl popsán Cohenem v roce 1980 právě u nemocných s Burkittovým lymfomem (22). Syndrom nádorového rozpadu vede často k akutnímu (oligoanurickému) ledvinnému selhání, které může vyústit v oběhový kolaps a poruchu vědomí, o to významnější je jeho včasná a důsledně prováděná prevence. Jejím základem je intenzivní intravenózní hydratace (podává se 4–6 litrů roztoků/24 hod.) s podporou diurézy a zamezení krystalizace kyseliny močové alkalizací moči a podáním alopurinolu či rasburikázy (rekombinantní urát-oxidázový enzym). Ve snaze o maximální odstranění uvolněných mediátorů z rozpadlých nádorových buněk jsou někdy vhodné kontinuální eliminační techniky (CVVH). Dalším preventivním opatřením je zahájení léčby podáním preface kortikosteroidů nebo jejich kombinace s cyklofosfamidem a to zvláště při vstupně velkém rozsahu nádoru.

Vzhledem k vysoké proliferativní aktivitě Burkittova lymfomu by měla být léčba zahájena bezprostředně po stanovení diagnózy. Je diskutována také úvodní operace mající za cíl odstranit velkou část nádorových mas. Pokud je možné při diagnostickém zákroku odstranit současně větší masy tumoru („debulking“), je vhodné to provést. Operační výkon však nesmí svým rozsahem způsobit odklad zahájení léčby.

Léčba pacientů s Burkittovým lymfomem vyžaduje zcela odlišný přístup než u jiných zralých B lymfoproliferací nebo nádorů z prekurzorových buněk. Podobně jako u zralé B-akutní lymfoblastické leukemie (se společným původem z buněk zárodečného centra) je nutné podání vícedenních intenzivních kombinovaných režimů chemoterapie (23, 24, 25). Před zavedením intenzivních léčebných protokolů byly léčebné výsledky špatné a nemocní časně relabovali zejména v CNS. Nemocní s Burkittovým lymfomem mají až 30 % riziko postižení CNS kdykoliv v průběhu onemocnění, proto je nedílnou součástí indukční chemoterapie intratekální profylaxe a většina léčebných protokolů zahrnuje vysokodávkovaný metotrexát a cytosinarabiosid (26).

V polovině 90. let byly publikovány výsledky několika studií, užívajících s úspěchem pro léčbu dospělých pacientů s Burkittovým lymfomem dětské terapeutické protokoly (27, 28, 29). Tyto režimy jsou založeny na intenzivním podání kombinace cytostatik v poměrně krátkých

**Tab. 5.** Literární přehled chemoterapeutických protokolů používaných při léčbě dospělých pacientů s Burkittovým lymfomem (27, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36).

	<i>léčebný protokol</i>	<i>N</i>	<i>věk</i>	<i>CR (%)</i>	<i>OS % (roky)</i>
Longo, JCO, 1994	ProMACE	33	19-80	82	60 (15)
Soussain, Blood 1995	LMB 81, 84, 86, 89	65	17-65	89	72 (3)
Diviné, Ann Oncol, 2005	LMB 95	72	18-76	72	70 (2)
Hoelzer, Blood, 1996	B-NHL 83	24	15-65	63	49 (8)
	B-NHL 86	35		74	51 (4)
Hoelzer, EHA 2007 (abstrakt 410)	GMALL-B-ALL/NHL 2002	115	16-78	90	91 (3)
Magrath, JCO, 1996 (National Cancer Institute)	CODOX-M/ IVAC	59	18-59	89	74 (4)
Mead, Ann Oncol, 2002 (National Cancer Institute)		52	15-60	76	73 (2)
Thomas, JCO, 1999 (M.D. Anderson Cancer C.)	hyper-CVAD	26	17-79	81	49 (3)
Thomas, Cancer, 2006 (M.D. Anderson Cancer C.)	R-hyper-CVAD	31	27-77	86	89 (3)

**Tab. 6.** Léčebná doporučení pro Burkittův lymfom podle National Comprehensive Cancer Network (verze 1.2007) (21).

<b>Léčba pro skupinu pacientů s nízkým rizikem</b>	
<b>(R)-CODOX-M + i.t.</b>	(rituximab), cyklofosamid, vincristin, doxorubicin, vysokodávkovaný metotrexát + intratekální aplikace (cytosinarabinosid, metotrexát)
<b>(R)-HyperCVAD/ MTX-AraC + i.t.</b>	(rituximab), cyklofosamid, vincristin, doxorubicin, dexametazon/ metotrexát, cytosinarabinosid + intratekální aplikace (cytosinarabinosid, methotrexát)
<b>Léčba pro skupinu pacientů s vysokým rizikem</b>	
<b>(R)-CODOX-M/ IVAC + i.t.</b>	(rituximab), cyklofosamid, vincristin, doxorubicin, vysokodávkovaný metotrexát/ ifosamid, etoposid, vysokodávkovaný cytosinarabinosid + intratekální aplikace (cytosinarabinosid, metotrexát)
<b>(R)-HyperCVAD/ MTX-AraC + i.t.</b>	(rituximab), cyklofosamid, vincristin, doxorubicin, dexametazon/ metotrexát, cytosinarabinosid + intratekální aplikace (cytosinarabinosid, metotrexát)

časových intervalech se snahou minimalizovat odklady léčby aplikací G-CSF a profylaxí postižení CNS (tab. 5).

V současné době je jedním z nejpoužívanějších režimů pro léčbu dospělých nemocných protokol pocházející z National Cancer Institute v Bethesda (Magrath et al, 1996) (28), který je založen na stratifikaci nemocných do dvou skupin s nízkým a vysokým rizikem. Pacienti s kompletně resektovaným abdominálním tumorem nebo pouze jednou extraabdominální lokalizací postižení a současně normální hodnotu laktátdehydrogenázy byli zařazeni do nízce rizikové skupiny, všichni ostatní pacienti jsou považováni za vysoce rizikové. Nemocným s nízkým rizikem jsou podávány celkem 3 cykly kombinované chemoterapie modifikovaného režimu CODOX-M, zatímco vysoce riziková skupina nemocných je léčena celkem 4 cykly alternující chemoterapie CODOX-M a IVAC (schéma režimů v tab. 6), u všech pacientů je součástí léčby intratekální aplikace cytosinarabinosidu a metotrexátu. EFS takto léčebných dětských i dospělých pacientů dosahoval v původní studii 92 % ve 2letém mediánu sledování, bohužel však s vyšším výskytem hematologické, gastrointestinální a neurologické toxicity.

Nadějně léčebné výsledky s tolerovatelnou toxicitou byly nedávno publikovány německými autory (Hoelzer et al., 2007) (33), kteří modifikovali původní protokol pro

léčbu zralé B-akutní lymfoblastické leukemie (protokol B-NHL 90). Součástí léčebného protokolu je prefáze a dále 3 alternující bloky kombinované intenzivní chemoterapie, zahrnující vysokodávkovaný cytosinarabinosid a rituximab před každým léčebným blokem a v rámci udržovací léčby. Celkový počet kompletních remisí dosahoval 90 % a celkové přežití pro nemocné do 55 let je 91 % ve 3letém mediánu sledování. Významného snížení toxicity ve srovnání s jinými intenzivními režimy (zejména gastrointestinální) bylo dosaženo redukcí vysokodávkovaného methotrexátu.

Vzhledem k pravidelné CD20 pozitivitě nádorových buněk Burkittova lymfomu je monoklonální protilátka anti CD20 (rituximab) v současné době již pravidelnou součástí léčebných protokolů. Chemoimunoterapie zlepšuje léčebné výsledky zejména u starších nemocných, u kterých je obvykle intenzivní léčba hůře tolerována (36) a nemocných s imunodeficitem (HIV) (37).

V léčbě progresí nebo relapsů je používaná vysokodávkovaná chemoterapie s autologní nebo alogenní transplantací krvetvorných buněk (38). Dat o této problematice je však omezené množství a publikované soubory nemocných jsou velmi malé (39, 40). Vysokodávkovaná chemoterapie s autologní transplantací krvetvorných buněk je na některých pracovištích používána jako konsolidace první remise, při použití intenzivních pediatrických protokolů se však její použití nezdá být přínosné.

## Prognóza a prediktivní faktory

Burkittův lymfom je i přes dramatický začátek, projevující se velmi rychle rostoucí masou nádoru, potenciálně kurabilním onemocněním. Zahájení léčby může být spojeno s rozvojem již zmíněného syndromu nádorového rozpadu, který může nemocného ohrožovat na životě. Diagnostika tohoto onemocnění a jeho včasná léčba by proto měla být soustředěna do center intenzivní hematologické péče, která jsou schopna zajistit veškerou podpůrnou péči.

Většina relapsů Burkittova lymfomu proběhne v 1. roce od stanovení diagnózy a nemocní v kompletní remisi, kteří do 2 let nezrelabují, mají velmi vysokou pravděpodobnost úplného vyléčení. Nepříznivými prognostickými faktory jsou podle většiny publikovaných souborů pokročilé klinické stadium (infiltrace kostní dřeně nebo CNS, neresekovatelný abdominální tumor větší než 10 cm) a zvýšená hodnota laktátdehydrogenázy. Intenzivní kombinované režimy chemoterapie dosahují léčebné odpovědi u více než 90 % pacientů v počátečním a u 60–80 % pacientů v pokročilém stadiu onemocnění (28, 29). Léčebné výsledky jsou lepší u dětských pacientů než u dospělých.

U nemocných, kteří dosáhli kompletní remise onemocnění, je doporučeno naplánovat dispenzární ambulantní kontroly první rok jednou za 2 měsíce, druhý rok jednou za 3 měsíce a poté každého půl roku (21).

Na závěr přehledu uvádíme případy pacientů léčených na Interní hematologické klinice a Klinice dětské onkologie Fakultní nemocnice Brno, dokumentující některá úskalí diagnostiky a léčby Burkittova lymfomu.

### Kazuistika č. 1

22letý mladý muž byl asi 4 měsíce ambulantně vyšetřován na okresním pracovišti pro zažívací obtíže. Pro výrazný hmotnostní úbytek a melénu byl nakonec hospitalizován na chirurgickém oddělení a zobrazovacími vyšetřeními zjištěn rozsáhlý tumor v dutině břišní s infiltrační žaludku, tenkého střeva a retroperitoneálních uzlin. Z biopsie získané probatorní laparoskopií byla stanovena diagnóza Burkittova lymfomu a byla zahájena kortikoterapie. Vzhledem k extrémnímu rozsahu onemocnění a vysoké proliferativní frakci nádoru došlo po podání kortikosteroidů k rozvoji syndromu nádorového rozpadu s akutním renálním selháním, metabolickou acidózou a rozvrtním vnitřního prostředí. Rychle následovala porucha vědomí s Kussmaulovým dýcháním vyžadující napojení pacienta na řízenou ventilaci.

Pacient byl v kritickém stavu převezen na oddělení JIP naší kliniky, kde byla zahájena plná léčba akutního renálního selhání včetně kontinuální eliminační metody (CVVH). Po jeho zvládnutí jsme přikročili k zahájení léčby podáním chemoterapie CODOX-M v redukováných dávkách vzhledem ke kritickému stavu pacienta s extrémní nádorovou kachexií. Zavedena kombinovaná nutriční podpora enterálně nasogastrickou sondou i parenterálně

do centrální žíly, ale výrazná malnutrice znemožňuje pokus o odpojení z řízené ventilace. Období dřeňového útlumu po chemoterapii bylo dále komplikováno rozvojem těžké oboustranné mykotické bronchopneumonie. Postupně se však stav pacienta zlepšuje, daří se zrušit tracheostomii a pacient začíná rehabilitovat chůzi v chodítku.

Během pokračující antimikrobiální léčby a nezbytné nutriční podpory však dochází k rychlé progresi základního onemocnění, objevují se nové infiltráty na hrudní stěně a opět i v dutině břišní. I přes komplikovaný dosavadní průběh onemocnění byla podána chemoterapie IVAC v plných dávkách, kterou pacient toleruje bez obtíží a vzhledem k rodinnému zázemí je možné propuštění do domácího ošetřování.

Za několik dní po propuštění byl pacient přivezen rodinou pro zjevnou další progresi základního onemocnění, s oboustrannými pleurálními výpotky, rozsáhlým kožním postižením a hmatným tumorem v dutině břišní. Nepříznivý průběh chemorezistentního Burkittova lymfomu u mladého muže se již nepodařilo zvrátit a pacient na progresi onemocnění bohužel umírá.

I přes léčbu intenzivními kombinovanými režimy chemoterapie je prognóza primárně rezistentního Burkittova lymfomu bohužel infaustní. Podcenění se nezbytná podpůrná opatření v úvodu léčby, může dojít k syndromu nádorového rozpadu se závažnými následky pro pacienta, které vyžadují intenzivní metabolickou péči a které mohou negativně ovlivnit i jeho další léčebný průběh. Na léčebném výsledku se jistě spolupodílel i pokročilý rozsah onemocnění, ke kterému přispěla pomalá diagnostika v úvodu pacientových obtíží a odklady léčebných cyklů s redukcí dávek cytostatik vynucené infekčními komplikacemi.

### Kazuistika č. 2

53letý pacient se dostavil ke své praktické lékařce s asi dvouměsíční anamnézou zažívacích obtíží, zejména nechutenství a tlaku v oblasti žaludku. Byl odeslán ke gastroscopickému vyšetření, kde byla nalezena rozsáhlá infiltrace žaludku, ale opakovaně provedené biopsie byly bohužel histologicky nevýtežné. Na CT vyšetření břicha byly kromě infiltrované stěny žaludku prokázány zvětšené perigastrické a paraaortální lymfatické uzliny a i přes pokročilý nález byla indikovaná diagnostická laparotomie. Ze vzorku paragastrické tumorózní tkáně byla překvapivě stanovena diagnóza difuzního velkobuněčného B lymfomu s výraznou mitotickou aktivitou (Ki-67 pozitivní u více než 90 % buněk).

V pooperačním období dochází u pacienta k náhlému rozvoji spontánního tumor lysis syndromu, proto bylo přikročeno za zvýšené podpůrné péče k zahájení léčby chemoterapií CHOP (cyklofosfamid, adriamycin, vincristin a prednison). Pacient se po jeho podání klinicky zlepšil, došlo k postupné normalizaci renálních funkcí, zhojila se pooperační rána na břicho a pacient mohl být propuštěn do domácí péče.

V termínu podání dalšího cyklu chemoterapie však přichází s asymetrickým poklesem ústního koutku a očního

víčka vlevo, vyšetřením mozkomíšního moku byla prokázána leptomeningeální infiltrace CNS maligními lymfomovými buňkami. Vzhledem ke klinickému průběhu, zejména rozsáhlé lokalizaci nádorové masy v dutině břišní, infiltraci CNS a vysoké proliferativní frakci nádoru se vstupní spontánní tumorlýmou, bylo požádáno o přehodnocení imunohistochemie a doplnění FISH na translokaci t(8;14) ze vstupního vzorku tkáně. Pozitivní výsledek translokace ve všech vyšetřovaných buňkách podporuje diagnózu Burkittova lymfomu.

Pacient s ohledem na přehodnocení diagnózy a klinické stadium dokončil léčbu celkem 2 cykly chemoterapie CODOX-M a 2 cykly chemoterapie IVAC (alternativně) společně s rituximabem a včetně intrathekální aplikace cytostatik. Průběh léčby byl komplikován opakovanými závažnými infekčními epizodami během těžkých dřeňových útlumů po chemoterapii (bakteriální gramnegativní sepsis a invazivní plicní aspergilóza) vyžadující odklad podání dalšího léčebného cyklu a těžkou malnutrií (hmotnostní úbytek více než 20 kg). Klinický stav pacienta se po ukončení léčby postupně opět zcela upravil, zlepšila se fyzická výkonnost i nutriční stav. Kontrolní CT vyšetření včetně FDG-PET dokumentují dosažení kompletní remise onemocnění, která nyní trvá déle než 1 rok.

V uvedené kazuistice jsme chtěli poukázat na obtížnou diagnostiku Burkittova lymfomu postižujícího gastrointestinální trakt, která si mnohdy vyžaduje provedení operačního výkonu. Odlišení pokročilého difuzního velkobuněčného B lymfomu a Burkittova lymfomu nemusí být na základě našich klinických zkušeností vždy jednoznačné. Nezbytnou součástí diagnostiky je proto cytogenetické a molekulární genetické vyšetření, slibnou metodou do budoucna je analýza genomu technologií DNA čipů.

### Kazuistika č. 3

4letý chlapec s asi týdenní anamnézou postupně narůstající spavosti a otoků víček byl zprvu vyšetřován pro tyto potíže v okresní nemocnici a pro nález edému papil +2D na očním pozadí byl indikován k provedení CT mozku. Výsledek vyšetření popisuje tumor selly a perisellárních struktur se známkami osteolýzy kosti klínové a vyslovuje podezření na kraniopharyngeom. Chlapec je převezen na Klinikou dětské onkologie v Brně. Doplněné NMR vyšetření upřesňuje rozsah tumorózního postižení o nález intranazálního šíření tumoru a infiltracei oro- a nasopharyngu. Indikována je endonazálně vedená operační biopsie, jejíž součástí je předoperační substituce narušené sekrece kortizolu a substituce centrální hypothyreózy. Histologické vyšetření nakonec stanovuje diagnózu Burkittova lymfomu, s pozitivní translokací t(8;14) a stoprocentní mitotickou buněčnou aktivitou (Ki-67 100 %).

Léčba je zahájena dle německého pediatrického protokolu NHL BFM-95 (Non-Hodgkin Lymphoma, Berlín – Frankfurt - Münster) (41). Sestává z prefáze a celkem 6 bloků intenzivní chemoterapie kombinující dexametazon, vincristin/vindesin, vysokodávkovaný cytosinara-binosid, vepesid, doxorubicin, cyklofosamid/ ifosamid,

a vysokodávkovaný metotrexát. Vzhledem k množství plánovaných intratekálních aplikací cytostatik byl pacientovi zaveden do levé postranní mozkové komory Ommaya reservoár. Průběh léčby je po každém bloku chemoterapie komplikován febrilní neutropenií, z nichž poslední vyžaduje extrakci infikovaného Ommaya reservoáru.

Přešetření po ukončení terapie konstatuje dosažení kompletní remise onemocnění, kontrolní NMR vyšetření popisuje normální morfologii mozku i mozečku. Při poslední plánované kontrole na ambulanci Kliniky dětské onkologie je dnes 7letý chlapec subjektivně bez potíží, vstupní lokalizace onemocnění si však vyžaduje doživotní substituci hormonů štítné žlázy a hydrokortizonu.

### Literatura

1. Burkitt D. A sarcoma involving the jaws in African children. *Br J Surg* 1958; 46(197): 218–223.
2. Burkitt D. Determining the climatic limitations of a children's cancer common in Africa. *Br Med J* 1962; 2(5311): 1019–1023.
3. Epstein MA, Achong BG, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964; 1: 702–703.
4. Coakley D. Denis Burkitt and his contribution to haematology/oncology. *Br J Haematol* 2006; 135: 17–25.
5. Kelly GL, Rickinson AB. Burkitt lymphoma: revisiting the pathogenesis of a virus-associated malignancy. *Haematol* 2007; 2007: 277–284.
6. Diebold J, Jaffe ES, Raphael M. Burkitt lymphoma. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. *World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. IARC Press, Lyon 2001; 181–184.
7. Troxell ML, Bangs CD, Cherry AM, et al. Cytologic diagnosis of Burkitt lymphoma. *Cancer* 2005; 105(5): 310–318.
8. Stein H, Hummel M. Burkitt's and Burkitt-like lymphoma. Molecular definition and value of the World Health Organisation's diagnostic criteria. *Pathologie* 2007; 28(1): 41–45.
9. Cogliatti SB, Novak U, Henz S, et al. Diagnosis of Burkitt lymphoma in due time: a practical approach. *Br J Haematol* 2006; 134: 294–301.
10. Manolov G, Manolova Y. Marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas. *Nature* 1972; 237(5349): 33–44.
11. Zech L, Haglund U, Nilsson K, et al. Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int J Cancer* 1976; 17(1): 47–56.
12. Dalla-Favera R, Bregni M, Erikson J, et al. Human c-myc oncogene is located on the region of chromosome 8 that is translocated in Burkitt lymphoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79(24): 7824–7827.
13. Onciu M, Schlette E, Zhou Y, et al. Secondary chromosomal abnormalities predict outcome in pediatric and adult high-stage Burkitt lymphoma. *Cancer* 2006; 107(5): 1084–1092.
14. Macpherson N, Lesack D, Klasa R, et al. Small noncleaved, non-Burkitt's (Burkitt like) lymphoma: Cytogenetics predicts outcome and reflect clinical presentation. *J Clin Oncol* 1999; 17(5): 1558–1567.
15. Wilda M, Bruch J, Nardet L, et al. Inactivation of the ARF-MDM2-p53 pathway in sporadic Burkitt's lymphoma in children. *Leukemia* 2004; 18: 584–588.
16. Hummel M, Bentink S, Berger H, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med* 2006; 354(23): 2419–2430.
17. Dave SS, Fu K, Wright GW, et al. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med* 2006; 354(23): 2431–2442.
18. Keller C, Savage DG, Rusta-Villa M, et al. Primary Burkitt lymphoma

- homa of the uterine corpus. *Leuk Lymphoma* 2006; 47(1): 141–5.
19. Ferry JA. Burkitt's lymphoma: clinicopathologic features and differential diagnosis. *Oncologist* 2006; 11(4): 375–383.
  20. Murphy SB. Classification, staging and end results of treatment of childhood non-Hodgkin's lymphomas: dissimilarities from lymphoma in adults. *Semin Oncol* 1980; 7: 322–329.
  21. National Comprehensive Cancer Network, Practice guidelines in Oncology, version 3.2007.
  22. Cohen LF, Balow JE, Magrath IT, et al. Acute tumor lysis syndrome. A review of 37 patients with Burkitt's lymphoma. *Am J Med* 1980; 68: 486–491.
  23. Belada D, Trněný M, et al. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy II. 3. vyd. Praha, 2007; 33–35.
  24. Yustein JT, Dang V. Biology and treatment of Burkitt's lymphoma. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 375–381.
  25. Blum KA, Lozanski G, Byrd JC. Adult Burkitt leukemia and lymphoma. *Blood* 2004; 104(10): 3009–3020.
  26. Magrath IT, Haddy TB, Adde MA. Treatment of patients with high grade non-Hodgkin's lymphomas and central nervous system involvement: is radiation an essential component of therapy? *Leuk Lymphoma* 1996; 21(1–2): 99–105.
  27. Soussain C, Patte C, Ostronoff M, et al. Small noncleaved cell lymphoma and leukemia in adults: a retrospective study of 65 adults treated with the LMB pediatric protocols. *Blood* 1995; 85(3): 664–674.
  28. Magrath I, Adde M, Shad A, et al. Adults and children with small non-cleaved-cell lymphoma have a similar excellent outcome when treated with the same chemotherapy regimen. *J Clin Oncol* 1996; 14(3): 925–934.
  29. Todeschini G, Tecchio C, Degani D, et al. Eighty-one percent event-free survival in advanced Burkitt's lymphoma/leukemia: no differences in outcome between pediatric and adult patients treated with the same intensive pediatric protocol. *Ann Oncol* 1997; 8 (Suppl 1): 77–81.
  30. Longo DL, Duffey PL, Jaffe ES, et al. Diffuse small noncleaved-cell, non-Burkitt's lymphoma in adults: a high-grade lymphoma responsive to ProMACE-based combination chemotherapy. *J Clin Oncol* 1994; 12(10): 2153–2159.
  31. Diviné M, Casassus P, Koscielny S, et al. Burkitt lymphoma in adults: a prospective study of 72 patients treated with an adapted pediatric LMB protocol. *Ann Oncol* 2005; 16(12): 1928–1935.
  32. Hoelzer D, Ludwig WD, Thiel E, et al. Improved outcome in adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1996; 87(2): 495–508.
  33. Hoelzer D, Hiddemann W, Baumann A, et al. High cure rate of adult Burkitt's and other high grade NHL by the combination of short intensive chemotherapy cycles with rituximab. *Haematologica* 2007; 92(S1): 151.
  34. Mead GM, Sydes MR, Walewski J, et al. An international evaluation of CODOX-M and CODOX-M alternating with IVAC in adult Burkitt's lymphoma: results of United Kingdom Lymphoma Group LY06 study. *Ann Oncol* 2002; 13(8): 1264–1274.
  35. Thomas DA, Cortes J, O'Brien S, et al. Hyper-CVAD program in Burkitt's-type adult acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1999; 17(8): 2461–2470.
  36. Thomas DA, Faderl S, O'Brien S, et al. Chemoimmunotherapy with hyper-CVAD plus rituximab for the treatment of adult Burkitt and Burkitt-type lymphoma or acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2006; 106(7): 1569–1580.
  37. Boué F, Gabarre J, Gisselbrecht C, et al. Phase II trial of CHOP plus rituximab in patients with HIV-associated non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24(25): 4123–4128.
  38. Sweetenham JW, Pearce R, Taghipour G, et al. Adult Burkitt's and Burkitt-like non-Hodgkin's lymphoma - outcome for patients treated with high-dose therapy and autologous stem-cell transplantation in first remission or at relapse: results from the European Group for Blood and Marrow Transplantation. *J Clin Oncol* 1996; 14(9): 2465–2472.
  39. Imhoff GW, Holt B, MacKenzie MA, et al. Short intensive sequential therapy followed by autologous stem cell transplantation in adult Burkitt, Burkitt-like and lymphoblastic lymphoma. *Leukemia* 2005; 19(6): 945–952.
  40. Song KW, Barnett MJ, Gascoyne RD, et al. Haematopoietic stem cell transplantation as primary therapy of sporadic adult Burkitt lymphoma. *Br J Haematol* 2006; 133(6): 634–637.
  41. Woessmann W, Seidemann K, Mann G, et al. The impact of the methotrexate administration schedule and dose in the treatment of children and adolescents with B-cell neoplasms: a report of the BFM Group Study NHL-BFM95. *Blood* 2005; 105(3): 948–958.

MUDr. Lenka Šmardová  
Interní hematologická klinika  
Fakultní nemocnice Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: lsmardova@fnbrno.cz

Došlo do redakce: 11. 3. 2008  
Přijato: 6. 5. 2008

## VZDĚLÁVACÍ AKCE IPVZ

Subkatedra hematologie a transfuzního lékařství

ÚHKT, U Nemocnice 1, 128 08 Praha 2

Vedoucí: doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc., tel. 224 962 839, fax 224 962 857, e-mail: jaroslav.cermak@uhkt.cz

### Subkatedra hematologie a transfuzního lékařství

#### 209282102 Kurz - Novinky v hematologii a transfuzním lékařství – 2. část

\*Určeno zejména pro lékaře hematologických, interních a transfuzních oddělení.

Program: Myeloproliferativní choroby, akutní leukemie, poruchy destičkové řady, poruchy metabolismu železa.

Novinky v diagnostice a léčbě jednotlivých chorob, novinky v transfuzním lékařství.

Vedoucí: doc. MUDr. J. Čermák, CSc.

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15, Hotel ILF

**Předpokládaná cena: 1000 Kč**

**13. 11. 2008 – 14. 11. 2008**