

**UNIVERZITA KARLOVA  
2. lékařská fakulta**

Autoreferát disertační práce



**Pozdní následky protinádorové léčby pro nádory dětského věku  
Late effects of oncological treatment of childhood cancers**

**Andrea Zichová**

**Praha, 2023**



Disertační práce byla vypracována v rámci prezenčního studia doktorského studijního programu Preventivní medicína a epidemiologie na Klinice dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole.

Školitel: prof. MUDr. Tomáš Eckschlager, CSc., Klinika dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole

Oponenti:

Obhajoba se bude konat před komisí pro obhajoby oborové rady Preventivní medicína a epidemiologie dne ..... v .....  
od ..... hod.

Předsedou komise pro obhajobu disertační práce byl jmenován:

Předseda oborové rady a garant doktorského studijního programu: doc. MUDr. Jan Polák, Ph.D., MBA, Ústav patofyziologie 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy

Děkan fakulty: prof. MUDr. Marek Babjuk, CSc.

**S disertační prací je možno se seznámit na Oddělení Ph.D. studia děkanátu 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, V Úvalu 84, 150 06 Praha 5 (tel. 224 435 836).**

## **Pozdní následky protinádorové léčby pro nádory dětského věku**

Cílem disertační práce bylo zmapovat aktuální poznatky týkající se pozdních následků se zaměřením na sekundární nádory a jejich rizikové faktory, zhodnotit jejich výskyt na Klinice dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol a zaměřit se na relativně časté, dosud v literatuře nepublikované, sporadické angiomyolipomy ledvin. Z celkového počtu 4059 přeživších léčených mezi lety 1975 až 2018 pro solidní nádor na Klinice dětské hematologie a onkologie 2.LF a FN Motol byl u 170 (4,2 %) diagnostikován alespoň jeden sekundární maligní nádor, 21 (0,5 % ze všech přeživších) z nich mělo nádorovou multiplicitu a u 34 (0,8 % ze všech přeživších) z nich se objevil sekundární maligní nádor a jeden nebo více sekundárních benigních nádorů. Mortalita mezi přeživšími se sekundárním maligním nádorem činila 38,2 % (65 pacientů; 1,6 % ze všech přeživších). Nejčastější byly karcinomy štítné žlázy (37; 19,2 %), nádory centrální nervové soustavy (25; 13 %) a sarkomy měkkých tkání (23; 11,9 %). U 119 přeživších (2,9 %) byl diagnostikován jeden či více sekundárních benigních nádorů (a zároveň žádný maligní). Z 1098 přeživších, kteří podstoupili mezi lety 2014 – 2019 ultrazvukové vyšetření ledvin v rámci dlouhodobého sledování po předchozí onkologické terapii, byl u 48 (4,4 %) přítomen sporadický angiomyolipom ledviny a 20 z nich mělo prokázaný i další sekundární nádor. Medián věku při diagnóze byl 27,9 let, medián času od primární diagnózy po rozvoj angiomyolipomu byl 22,6 let. U 21 (44 %) přeživších byla potvrzena mnohočetná nebo bilaterální léze a vznik angiomyolipomu koreloval s radioterapií retroperitonea. V experimentální části jsme sledovali míru exprese genu CDKN2A po kultivaci buněk s doxorubicinem, rozdíl oproti kontrole nebyl statisticky významný.

**Klíčová slova:** pozdní následky, sekundární nádory, rizikové faktory, buněčná senescence, sporadické angiomyolipomy ledvin, gen CDKN2A

## **Late effects of oncological treatment for childhood cancers**

The study aimed to describe the occurrence of subsequent neoplasms and their risk factors at the Department of Pediatric Haematology and Oncology, Motol University Hospital, Prague. Moreover, we focused on sporadic renal angiomyolipomas as the most frequent benign subsequent neoplasms. Out of 4,059 survivors treated between 1975 - 2018 for a solid tumor on Department of Pediatric Haematology and Oncology, 170 (4.2 % of all survivors) had at least one subsequent malignant neoplasm, 21 of them (0.5 of all survivors) developed more subsequent malignant neoplasms, and 34 (0.8 of all survivors) developed one subsequent malignant neoplasm and at least one subsequent benign neoplasm. Mortality among patients with subsequent malignant neoplasm was 38 %, i.e. 1.6 % of all survivors. The most common subsequent malignant neoplasms was thyroid carcinoma (37; 19.2 %), central nervous system tumors (25; 13 %), and soft tissue sarcomas (23; 11.9 %). 119 (2.9 %) survivors developed only subsequent benign neoplasm. Out of 1,098 survivors who underwent ultrasound examination between 2014 – 2019, 48 (4.4 %) had sporadic renal angiomyolipoma; moreover, 20 of them also had another subsequent neoplasm. The median age at diagnosis was 27.9 years, and the median time between the first cancer diagnosis and renal angiomyolipoma diagnosis was 22.6 years. In 21 patients (44 %), there were multiple or bilateral lesions, and there was a correlation between development of sporadic renal angiomyolipoma and radiotherapy of retroperitoneum. There was no significant difference in CDKN2A expression between cells treated by doxorubicin and non-treated cells *in vitro*.

Key words: late effects, subsequent neoplasms, risk factors, cellular senescence, sporadic renal angiomyolipomas, CDKN2A gene

## Obsah

|   |    |
|---|----|
| Pozdní následky protinádorové léčby pro nádory dětského věku.....         | 4  |
| Late effects of oncological treatment for childhood cancers.....          | 5  |
| 1. Úvod do problematiky.....  | 7  |
| 1.1 Buněčná senescence.....   | 8  |
| 1.2 Sekundární nádory.....  | 9  |
| 1.3 Angiomyolipomy ledvin.....  | 14 |
| 2. Hypotézy a cíle práce.....   | 15 |
| 3. Pacienti a metody.....   | 16 |
| 3.1 Výskyt sekundárních nádorů u pacientů léčených v dětství na KDHO..... | 16 |
| 3.2 Angiomyolipomy ledvin.....  | 17 |
| 3.3 Vliv cytostatik na buněčnou senescenci <i>in vitro</i> .....          | 18 |
| 4. Výsledky.....  | 19 |
| 4.1 Výskyt sekundárních nádorů u pacientů léčených v dětství na KDHO..... | 19 |
| 4.2 Angiomyolipomy ledvin.....  | 22 |
| 4.3 Vliv cytostatik na buněčnou senescenci <i>in vitro</i> .....          | 25 |
| 5. Diskuse.....   | 26 |
| 6. Závěr.....   | 28 |
| 7.1 Souhrn.....   | 29 |
| 7.2 Summary.....  | 30 |
| 8. Přehled publikační činnosti.....                                       | 32 |
| 9. Literatura.....  | 33 |

## 1. Úvod do problematiky

Trendem současné medicíny už není jen samotné vyléčení pacienta, ale velký důraz je kladen i na kvalitu života vyléčených. Nejinak je tomu i v dětské onkologii. Díky pokrokům v diagnostice i léčebných metodách jsme v dnešní době schopni vyléčit přes 80 % dětských onkologických pacientů (Howlader N. et al., 2019). Více než dvě třetiny přeživších se však doživotně potýkají s řadou pozdních následků a téměř polovina z nich je závažná nebo dokonce život ohrožující (Armstrong G. T. et al., 2014; Geenen M. M. et al., 2007; Hudson M. M. et al., 2013). Je tedy zřejmé, že pozdní následky nejenže snižují kvalitu života vyléčených z dětského nádoru, ale také představují závažný medicínský a socioekonomický problém. Zásadním úkolem výzkumu v této oblasti je proto snaha o co nejlepší popsání rizikových faktorů rozvoje pozdních následků. Podle těchto rizikových faktorů se snažíme o optimalizaci dlouhodobého sledování přeživších a tam, kde to povaha nádoru umožňuje, i o úpravu léčebných protokolů s cílem minimalizace rizika.

Pozdní následky po onkologické léčbě v dětství (*late effects*) jsou jakékoliv zdravotní i psychické problémy vzniklé v souvislosti s předchozí onkologickou léčbou pro nádory dětského věku. Některé z nich se objevují bezprostředně po léčbě, jiné až s odstupem několika let či dokonce dekad po ukončení protinádorové terapie.

Mezi nejčastější pozdní následky patří postižení endokrinního a reprodukčního systému (Dixon S. B. et al., 2018). Dalšími pozdními následky bývá postižení srdce, plic, neurokognitivních funkcí, úzkosti, deprese, bolesti, neuropatie, epilepsie, dyslipidémie, postižení jater, skeletu, ledvin, hematopoetického systému, očí, infekční komplikace a sekundární nádory (Robison L. L., Hudson M. M., 2014; Hudson M. M. et al., 2013; Meijer A. J. M., 2021).

## 1.1 Buněčná senescence

Společným mechanismem rozvoje řady pozdních následků je předčasné biologické stárnutí tkání, orgánů i celého organismu způsobené urychlenou buněčnou senescencí s kumulací senescentních buněk a nedostatkem plně funkčních buněk zajišťujících správné funkce orgánů. Buněčná senescence je definována jako proces trvalé zástavy buněčného cyklu a navození specifických fenotypových změn. Dochází k zástavě buněčného dělení, nepokračuje tedy klasicky buněčný cyklus, ani nedochází k apoptóze, ale buňka přechází do G0 fáze. V této fázi může buňka setrvávat po dlouhou dobu a je přitom metabolicky aktivní, pouze se dále nedělí (López-Otín C. et al., 2013; Kuilman T. et al., 2010).

Přeživší po léčbě nádorového onemocnění v dětství se doživotně potýkají s řadou pozdních následků, které se do určité míry podobají onemocněním vyskytujícím se se zvýšenou četností ve stáří (Armstrong G. T. et al., 2014; Oeffinger K. C. et al., 2006). Nabízí se tedy otázka, zda u osob po předchozí léčbě nádorového onemocnění dochází k urychlenému stárnutí a s tím spojenému časnějšímu výskytu patologických stavů souvisejících se stářím. Ness et al. zjistili, že výskyt slabosti (ztráta svalové hmoty tzv. sarkopenie, vyčerpanost, nízká aktivita, snížené tempo a slabost měřitelná dynamometrem) byl u skupiny přeživších o věku 18 – 60 let stejný jako u zdravých osob starších 65 let a předpokládají tedy, že přeživší mohou mít urychlené stárnutí (Ness K. K. et al., 2013). Bezprostředně po chemoterapii (CHT) stoupá exprese p16 a ARF v T-lymfocytech, tento vzestup je závislý na intenzitě použité CHT a na její hematologické toxicitě a trvá minimálně 12 měsíců (Sanoff H. K. et al., 2014). Sanoff et al. dále prokázali, že CHT indukuje expresi markerů buněčného stárnutí v lymfocytech odpovídající nárůstu o cca 10 – 15 roků chronologického věku zdravých osob (Sanoff H. K. et al., 2014). Je to dáno toxicitou CHT, která poškozuje nejen nádorové buňky, ale i buňky zdravé. Organismus pak jako obrannou reakci u poškozených buněk navodí senescenci, kdy množství senescentních buněk lze hodnotit pomocí exprese p16. Řada studií prokázala, že



některá onemocnění se u přeživších po předchozí onkologické léčbě projeví v daleko mladším věku než u běžné populace (Konończuk K. et al., 2021; Wang S. et al., 2021). Například ve věku 20 let měli přeživší stejné riziko rozvoje chronických onemocnění jako jejich sourozenci ve věku 50 let (Armenian S. H. et al., 2019). Riziko rozvoje chronických onemocnění vyskytujících se zejména ve stáří (např. kardiovaskulárního onemocnění nebo endokrinopatie) je u těchto osob třikrát vyšší než u jejich sourozenců (Armenian S. H. et al., 2019; Armstrong G. T. et al., 2014). V naší studii zabývající se výskytem sporadických angiomyolipomů ledvin (SAML) jsme prokázali výskyt SAML u přeživších po léčbě nádorového onemocnění v dětství desetkrát vyšší než v běžné populaci a navíc byly diagnostikovány u mladších osob (medián 27,9 let u přeživších vs. 50 – 60 let v běžné populaci) (Kruseová J. et al., 2021). Stelwagen et al. prokázali „akcelerované vaskulární stárnutí“ (zvýšenou tuhost cév, zvýšený čas ischemie a zotavení v chladovém testu a albuminurii) u dlouhodobě vyléčených z germinálních nádorů varlat (Stelwagen J. et al., 2020). Zhu et al. zase zjistili časný výskyt potíží spojených se stárnutím (neschopnost běžných denních aktivit a neschopnost vyjít schody) u vyléčených z karcinomu prsu (Zhu et al., 2020). Dalším příkladem jsou vyléčení z akutní lymfoblastické leukémie (ALL), kteří měli pozdní mortalitu třikrát vyšší než kontrolní skupina (Dixon S. B. et al., 2020).

## 1.2 Sekundární nádory

Relativně častým a velmi závažným pozdním následkem, který v mnoha případech vede ke smrti pacienta, jsou sekundární nádory (*subsequent neoplasm nebo secondary neoplasm*, SN). SN je definován jako histologicky odlišný nádor, který se objevil minimálně dva měsíce od ukončení léčby pro primární nádor. Může být maligní (*subsequent malignant neoplasm*, SMN) nebo benigní (*subsequent benign neoplasm*, SBN). V některých studiích ještě rozlišují třetí skupinu – kožní nemelanomové zhoubné nádory (*nonmelanoma skin cancer*, NMSC). Do této skupiny jsou řazeny basocelulární (BCC) a spinocelulární karcinomy kůže, tedy karcinomy,

kteře metastazují pouze zřídka a mají velmi dobrou prognózu (Meadows A. T. et al., 1985; Meadows A. T., 2009; Neglia J. P. et al., 2001).

Velkým problémem u pacientů se SMN jsou omezené léčebné možnosti v důsledku dosažení kumulativních dávek některých cytostatik při léčbě prvního nádoru, nemožnosti ozařovat již ozařované oblasti a také poškození orgánů a tkání předchozí léčbou. SMN jsou relativně časté, incidence u přeživších po dětském nádoru se pohybuje mezi 3 – 10 % (Turcotte L. M. et al., 2017; Friedman D. L. et al., 2010; Teepen J. C. et al. 2017). Proto jsou SMN, po relapsu prvního nádoru, druhou nejčastější příčinou umrtí v této skupině (Armstrong G. T. et al. 2009; Garwicz S. et al., 2011; Fidler M. M. et al., 2016).

Ačkoliv SBN většinou nevedou ke smrti, jsou provázeny řadou komplikací, vyžadují opakované lékařské prohlídky a mají i negativní psychologický dopad.. Dále mohou SBN posloužit jako markery rizika vzniku SMN, jelikož v řadě případů předchází SBN právě výskytu SMN. Otázkou zůstává, do jaké míry je to dáno předchozím poškozením tkání onkologickou terapií a do jaké míry genetickou predispozicí pacienta k rozvoji nádorů. Určitý vliv samozřejmě má i větší záchyt benigních nádorů při častějších prohlídkách v rámci pravidelného sledování přeživších (Turcotte M. L. et al., 2015; Zichova et al., 2020).

Nejčastějšími SMN jsou karcinom štítné žlázy, nádory centrální nervové soustavy (CNS), sarkomy měkkých tkání, karcinom prsu a leukémie, ale jako SMN byly popsány prakticky všechny maligní nádory (Meadows A. T. et al., 2009; Friedman D. L. et al., 2010; Teepen C. S. et al., 2017). Objevují se i po více než deseti letech od ukončení primární terapie a s délkou sledování jich stále přibývá. Z benigních sekundárních nádorů jsou nejčastější angiomyolipomy ledvin, meningeomy, adenomy štítné žlázy a adenomy/fibroadenomy prsu (Zichova A. et al., 2020; Morgenstern P. F. et al., 2016; Kutsenko A. et al., 2014).

Hlavní rizikový faktor většiny SN je radioterapie (RT) (Kamran S. C. et al., 2016; Oeffinger K. C. et al., 2013; Inskip P. D. et al., 2016). Zásadní roli hraje RT při

rozvoji karcinomu štítné žlázy a karcinomu prsu, tyto SN následují nejčastěji po předchozí léčbě Hodgkinova lymfomu (HL) jejíž součástí je často ozařování krku a mediastina (Bhatia S. et al., 2003; Dores G. M. et al., 2010; Moskowitz Ch. S. et al., 2015; Kenney L. B. et al., 2004; Bhatti P. et al., 2010; O'Brien M. M. et al., 2010). Proto už v dnešní době u pacientů s HL, kteří dobře odpověděli na iniciální léčbu, ozařování nepoužíváme (protokol EuroNet-PHL-C2 = European Network of Paediatric Hodgkin Lymphoma Second International Inter-Group Study for Classical Hodgkin Lymphoma in Children and Adolescents). Kromě RT pro HL zvyšuje riziko karcinomu prsu a karcinomu štítné žlázy také ozáření kraniospinální osy pro nádor centrální nervové soustavy a celotělové ozáření v rámci přípravného režimu před transplantací hematopoetických buněk, u těchto pacientů se však s ohledem na prognózu nádorů radioterapii vyhnout nelze. U karcinomu štítné žlázy nesmíme opomenout ani staging a léčbu neuroblastomu a neuroendokrinních nádorů pomocí <sup>131</sup>I-MIBG (metajodobenzylguanidinu s radioaktivním jódem). U karcinomu prsu zase pozorujeme zvýšené riziko po RT plic pro metastázy nefroblastomu a dalších nádorů, která je však indikovaná pouze v ojedinělých případech (Armstrong G. T. et al., 2009; Stokkevåg C. H. et al., 2014; Baker K. S. et al., 2019; van Santen H. M. et al., 2012; Clement S. C. et al., 2013; Zichova et al., 2020).

Další velmi častou skupinou SN, u které je RT považována za hlavní rizikový faktor, jsou nádory CNS (Bowers D. C. et al., 2013; Taylor A. J. et al., 2010; Little M. P. et al., 1998; Neglia J. P. et al., 2006; Saha A. et al., 2014). Ty vznikají ve velké většině případů právě po předchozí RT nádorů CNS, která se u těchto nádorů často používá (tj. jak primární, tak SN je nádor CNS, avšak histologicky odlišný). Kromě maligních nádorů CNS vede předchozí ozařování krania (zejména při použití vyšších dávek záření) ke vzniku meningeomů (Bowers D. C. et al., 2017; Morgenstern P. F. et al., 2016; Kutsenko A. et al., 2014; Meignin V. et al., 1998). Meningeomy jsou většinou benigní, maligní, tzv. anaplastické meningeomy, tvoří pouze asi 2 % ze všech diagnostikovaných meningeomů (Maggio I. et al., 2021). Přesto ale mohou, s

ohledem na svou lokalizaci a mnohdy značné rozměry, vést k vážným zdravotním komplikacím a někdy až ke smrti (Bowers D. C. et al., 2017).

Druhým významným rizikovým faktorem podporujícím vznik SN je CHT (Turcotte L. M. et al., 2019). Dánská DCOG LATER Study (The Dutch Childhood Cancer Oncology Group Long-Term Effects After Childhood Cancer) popisuje zvýšené riziko vzniku všech SN po předchozí léčbě doxorubicinem (Teepen J. C. et al., 2017). Toto riziko je závislé na použité dávce doxorubicinu a zvýšené je zejména riziko vzniku následného karcinomu prsu. U přeživších po CHT (bez předchozí RT hrudníku) bylo popsáno čtyřikrát vyšší riziko vzniku karcinomu prsu než u osob bez CHT, hlavní roli zde hrály alkylační látky a antracykliny použité při léčbě primárního nádoru (Henderson T. O. et al., 2016; Ehrhardt M. J. et al., 2019). Další časté SN, u kterých je rizikovým faktorem CHT, jsou sarkomy, riziko představuje expozice alkylačním látkám a antracyklinům a roste se zvyšující se dávkou cytostatik (Teepen J. C. et al., 2017; Henderson T. O. et al., 2012; Bright C. J. et al., 2018; Fidler M. M. et al. 2018). Konkrétním příkladem může být vznik sarkomu močového měchýře (sarkom měkké tkáně, soft tissue sarcoma, STS) po předchozí terapii cyklofosfamidem. Většinou bývá ještě zároveň přítomen genetický syndrom (nejčastěji patogenní změna v Rb1 genu, případně Li Fraumeni syndrom), ale byly popsány i případy bez prokázaného genetického syndromu (Tanguay C. et al., 2003). Henderson et al. popsali zvýšené riziko STS nebo sarkomů kostí v souvislosti s RT, primární diagnózou sarkomu, vícečetnými SN a léčbou vysokými dávkami antracyklinů a alkylačních cytostatik (Henderson T. O. et al., 2012). Zvýšené riziko vzniku STS nebo nádorů kostí mají zejména přeživší po předchozí léčbě familiárního retinoblastomu v důsledku změny Rb1 genu (více než 50 % přeživších se STS jakožto SN má prokázaný genetický syndrom), dále také po předchozím STS, Ewingově sarkomu a osteosarkomu (Wong J. R. et al., 2014; MacCarthy A. et al., 2013).

Mnoho studií zaměřených na přeživší po léčbě dětského nádoru potvrdilo vyšší incidenci SN u žen než u mužů (Armstrong G. T. et al., 2009; Perkins S. M. et al., 2013; Meadows A. T. et al., 2009; Neglia J. P. et al., 2001; Turcotte L. M. et al., 2017). Jedním z vysvětlení může být relativně vysoká incidence karcinomu prsu jakožto jednoho z nejčastějších SN u žen, nikoliv však u mužů (Kenney L. B. et al., 2004). Druhým může být vyšší citlivost na CHT u žen než u mužů a s tím spojená vyšší toxicita vedoucí ve svém důsledku i k výraznějšímu vyjádření pozdních následků (Huang R. S. et al., 2007; Van Den Berg H. et al., 2015; Chemaitilly W., Sklar C. A., 2019).

V současnosti je známo kolem 300 genetických syndromů, které jsou způsobeny změnami určitého genu (zejména tumor supresorových genů) a vedou k větší náchylnosti ke vzniku nádorů u daného jedince (Van Cott Ch., 2020). Přibližně 40 z nich hraje roli při vzniku nádoru v dětství (Ngeow J. et Eng Ch., 2016; Brodeur G. M. et al., 2017; Perrino M. et al., 2019). Pokud je u přeživšího prokázán genetický syndrom, je nutné jeho pečlivé, pravidelné a dlouhodobé sledování s častějšími kontrolami, neboť je u něj výrazně vyšší riziko vzniku SN. Mezi nejčastější genetické syndromy v dětské onkologii patří NF1, Li Fraumeni syndrom, patogenní změna Rb1, TSC, Beckwith-Wiedemannův syndrom, MEN, familiární adenomatozní polypóza a další (Strahm B., Malkin D., 2006; Hisada M. et al., 1998; Krutílková V., Eckschlager T., 2009). Kromě těchto syndromů s jasně popsányými změnami v jednom genu, které se dědí autosomálně recesivně, autosomálně dominantně nebo X-vázaně (výskyt v rámci rodiny, tzv. familiární) a dají se relativně snadno vyšetřit, existuje ještě celá řada genů či změn, které přímo „nezpůsobují“ nádorové onemocnění, ale mají vliv na riziko vzniku nádoru. Jedná se o různé změny v genech zajišťující opravu DNA a jejich existenci naznačuje zejména fakt, že i u sporadických nádorů (tj. nepodmíněných v rámci genetického syndromu) je riziko pro příbuzné pacienta s nádorovým onemocněním zvýšené, i když ne tak výrazně, jako v rodinách s prokázaným genetickým syndromem (Vodička P. et al., 2004; Fijneman R. J. A., 2005; Wu P. E., Shen Ch. Y., 2011). Ačkoliv je vliv různých genetických změn

(polymorfizmů, mutací nebo chromozomálních aberací) na vznik SN jednoznačně prokázány a rozhodně nezanedbatelný, otázkou stále zůstává, u kterých přeživších a v jakém rozsahu provádět genetická vyšetření. Limitujícími faktory jsou v tomto případě zejména omezené kapacity zdravotního systému a ekonomická zátěž (Wang Z. et al., 2018; Turnbull C. et al., 2018; Kuhlen M. et al., 2019).

### **1.3 Angiomyolipomy ledvin**

Jedním z nejčastějších SBN jsou angiomyolipomy ledvin. Angiomyolipomy ledvin jsou benigní nádory, které postihují jednu nebo obě ledviny a v některých případech mohou být i v rámci jedné ledviny mnohočetné léze. Histologicky jsou složeny z hladké svaloviny, tukové tkáně a cév, zastoupení jednotlivých složek může být různé (Lee K. H. et al., 2019; Hussain T. et al., 2020; Swärd J. et al., 2020). Rozlišujeme dva základní typy – sporadické angiomyolipomy (SAML) a angiomyolipomy v rámci komplexu tuberózní sklerózy (TSC).

Incidence SAML se v běžné populaci odhaduje na 0,1 – 0,44 % (Flum A. S. et al., 2016; Fittschen A. et al., 2014). Jedná se tedy o vzácné nádory, které bývají většinou diagnostikovány jako náhodný nález u starších osob (zpravidla mezi 50 – 60 rokem věku) při UZ či CT břicha z jiné indikace. Jen relativně vzácně způsobují klinické obtíže jako jsou bolesti, nevolnost, hypotenze/hypertenze, horečka a anémie, nicméně v případě velkých SAML může docházet ke krvácení projevujícím se hematurií a vzácně až selháním ledvin.

Pro SAML je typická jedna unilaterální léze a častější výskyt u žen než u mužů (Lee K. H. et al., 2019; Hussain T. et al., 2020; Swärd J. et al., 2020). Vyšší incidence SAML u žen naznačuje, že by v patogenezi tohoto onemocnění mohly hrát roli pohlavní hormony (Boorjian S. A. et al., 2008). Naproti tomu angiomyolipomy asociované s komplexem tuberózní sklerózy (TSC) bývají mnohočetné a často postihují obě ledviny (Fernández-Pello S., 2020; Hussain T. et al., 2020; Swärd J. et al., 2020). Častěji se objeví u mladších osob a není zde patrná ani ženská ani mužská predominance.

## 2. Hypotézy a cíle práce

Hlavním cílem práce je zmapovat výskyt SN u přeživších, kteří byli v dětství léčeni na Klinice dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty a Fakultní nemocnice Motol (KDHO) a zhodnotit jejich rizikové faktory. Z dosavadních poznatků z literatury předpokládáme jako rizikové faktory například RT, některá cytostatika, pohlaví, genetické faktory, nezdravý životní styl (kouření, alkohol, drogy, nedostatek pohybu) a další (Kruseová J. et al., 2023; Dixon S. B. et al., 2018).

Druhým cílem je zaměřit se na výskyt SBN, které na rozdíl od SMN jsou studovány minimálně. Naše dosavadní pozorování ukazují relativně častý výskyt SAML mezi přeživšími. Výskyt a rizikové faktory SAML (tj. angiomyolipomů ledvin bez přítomnosti TSC) u přeživších nebyl dosud v literatuře publikován (až na ojedinělé kazuistiky) a není jasná jejich souvislost s předchozí onkologickou terapií. Význam SBN je za prvé ve snížení kvality života přeživších, za druhé některé literární údaje i naše dosavadní pozorování naznačují, že by mohly být faktorem signalizujícím vyšší riziko vzniku SMN (Cho H. G. et al., 2018; Turcotte M. L. et al., 2015).

Třetím cílem je zhodnotit vliv cytostatik na buněčnou senescenci *in vitro* prostřednictvím stanovení exprese genu CDKN2A. Na základě poznatků z literatury předpokládáme, že vyšší dávky doxorubicinu povedou k časnějšímu navození senescence a tím ke zvýšené expresi genu CDKN2A (Sanoff H. K. et al., 2014; Krishnamurthy J. et al., 2004; Tuttle C. S. L. et al., 2019).

### 3. Pacienti a metody

#### 3.1 Výskyt sekundárních nádorů u pacientů léčených v dětství na KDHO

Do studie jsme zahrnuli všechny pacienty léčené pro histologicky potvrzený solidní maligní nádor (tj. maligní nádor včetně lymfomů, mimo leukémie) na Klinice dětské hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole (KDHO) mezi lety 1975 až 2018. Zdrojem dat pro nás byla databáze naší kliniky, případně nemocniční informační systém, ze kterého jsme chybějící data do naší databáze doplnili. Celkem se jednalo o 4059 přeživších.

SN je definován jako jakýkoliv histologicky odlišný nádor vzniklý minimálně dva měsíce od konce léčby pro primární nádor, bez ohledu na jeho lokalizaci. Všechny SN byly histologicky potvrzené nádory, kromě meningeomu (MRI) a AML (UZ). Mezi NMSC jsme zařadili spinocelulární a basocelulární karcinom. Meningeomy jsme v rámci naší studie počítali mezi benigní SN.

SN byly diagnostikovány u pacientů v průběhu pravidelného dlouhodobého sledování po ukončené onkologické léčbě, v případě pacientů ztracených z dlouhodobého sledování jsme se aktivně snažili kontaktovat je nebo jejich rodiče, případně jejich praktického lékaře. Poslední SN v naší studii byl diagnostikován na konci roku 2019.

KDHO byla až do roku 1998 jediným centrem pro léčbu dětských pacientů se solidním maligním nádorem v celé České republice a i nyní zajišťuje léčbu pro 2/3 české populace, proto lze výsledky našeho výzkumu do jisté míry vztáhnout na celou českou populaci.

Pro porovnání kvalitativních charakteristik jsme použili  $\chi^2$  test pro  $2 \times 2$  kontingenční tabulky, P hodnota nižší než 0,05 byla považována za statisticky významnou. Analýzy byly provedeny pomocí statistického programu SPSS (SPSS, Chicago, Illinois, USA).



### 3.2 Angiomyolipomy ledvin

Zhodnotili jsme kohortu 1098 přeživších, kteří podstoupili v letech 2014 až 2019 UZ vyšetření břicha v rámci dlouhodobého sledování po předchozí onkologické terapii. Všichni přeživší byli v dětství (věk <19 let) léčeni pro solidní nádor na KDHO a žádný z nich neměl v době primární diagnózy přítomný angiomyolipom ledviny. 110 přeživších (cca 10 %) mělo prokázaný gentický syndrom, u žádného z pacientů nebyla potvrzena TSC. U 132 přeživších (12 %) byl kromě angiomyolipomu ledvin diagnostikován i SN, 70 z nich mělo alespoň jedním SMN, zbylých 62 mělo jen SBN. UZ vyšetření bylo součástí pravidelného dlouhodobého sledování přeživších po onkologické terapii. Vzhled SAML na UZ je jasně definovaný, proto není v naprosté většině případů k potvrzení diagnózy nutná biopsie. Jedná se o výrazně hyperechogenní masu vzhledem k normálnímu renálnímu parenchymu s akustickým stínem, bez kalcifikací (Lee K. H. et al., 2019; Hussain T. et al., 2020; Swärd J. et al., 2020). UZ nálezy byly potvrzeny dvěma zkušenými radiology a byl zhodnocen jejich počet, velikost a případná progresse o více než 3 mm v nejdelším rozměru. Retrospektivně jsme zhodnotili opakovaná UZ vyšetření a podle nich určili, kdy se u daného pacienta SAML objevil poprvé.

Výskyt SAML byl vyhodnocen pomocí analýzy přežití, tj. Kaplan – Meierova odhadu podílu pacientů bez SAML a Cox proporcionálního modelu rizik pro odhad poměrů rizik. Statistické hodnocení provedl Ing. Petr Hošek Ph.D. z Biomedicínského centra, Lékařské fakulty v Plzni. Výpočty byly provedeny pomocí softwaru STATISTICA (StatSoft, Inc.2013, Version 12, [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com)). Kaplan-Meierovy křivky byly použity k vyloučení bias podmíněného délkou sledování. Pacienti se SAML byli UZ sledováni déle a častěji než pacienti s normálním nálezem na ledvinách.

### 3.3 Vliv cytostatik na buněčnou senescenci *in vitro*

Jako buněčný model jsme zvolili lidské kožní fibroblasty (HDF). Buňky byly nasazené v počtu  $4 \times 10^5$  na misku o velikosti  $22,1 \text{ cm}^2$  a po 24 h byl přidán doxorubicin o konečných koncentracích  $0,04\mu\text{M}$ ;  $0,1\mu\text{M}$ ;  $0,2\mu\text{M}$  a  $0,5\mu\text{M}$ . Po 24 hodinách byly buňky sklizené a zamražené při teplotě  $-196 \text{ }^\circ\text{C}$ . Pro koncentraci doxorubicinu  $0,1\mu\text{M}$  byl proveden ještě jeden experiment, kde byly buňky léčené doxorubicinem 24 hodin stejně jako v předchozím případě, následně však byly promyté a ještě 72 hodin kultivované bez doxorubicinu. K izolaci RNA byl použit PureLink RNA Mini Kit od firmy Thermo Fisher Scientific podle protokolu od výrobce. Kvantita a kvalita izolované RNA byla ověřena na spektrofotometru NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific). Následně byla provedena reverzní transkripce pomocí gb Revers Transcription Kit od firmy Generi Biotech a jako templát pro syntézu komplementární DNA bylo použito 500 ng RNA. Reverzní transkripce probíhala v thermocycleru (Thermo Fisher Scientific) po dobu 60 minut při teplotě  $42 \text{ }^\circ\text{C}$ . Dalším krokem byla amplifikace zvoleného úseku DNA metodou kvantitativní PCR (jinak také PCR v reálném čase neboli *real-time PCR*). K provedení *real-time PCR* jsme použili gb Easy PCR Master Mix a primery a próby genu hCDKN2A\_Q1 a kontrolního genu POLR2A, vše od firmy Generi Biotech. Kontrolní gen POLR2A jsme zvolili jako interní standard, jelikož je jeho exprese v lidských kožních fibroblastech konstantní a není závislá na věku a použité chemoterapii (Díaz-Piña G. et al., 2015). Kvantifikace genové exprese byla provedena v triplikátech na přístroji QuantStudio 3 Real-Time PCR System od firmy Thermo Fisher Scientific. Teplotní profil byl  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  3 minuty, následně 50 cyklů  $95 \text{ }^\circ\text{C}$  na 10 vteřin a  $60 \text{ }^\circ\text{C}$  na 20 vteřin. Relativní rozdíly v genové expresi byly vyjádřeny jako násobek změny a byly získány metodou  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ . Významnost rozdílů genové exprese byla zhodnocena prostřednictvím programu REST verze 384 [www.rest.gene-quantification.info](http://www.rest.gene-quantification.info) (Pffafel M. W. et al., 2002).

## 4. Výsledky

### 4.1 Výskyt sekundárních nádorů u pacientů léčených v dětství na KDHO

Z celkového počtu 4059 přeživších léčených mezi lety 1975 až 2018 pro solidní nádor na KDHO byl u 170 (4,2 %) diagnostikován alespoň jeden SMN, 21 (0,5 % ze všech přeživších) z nich mělo nádorovou multiplicitu (dva a více SMN) a u 34 (0,8 % ze všech přeživších) z nich se objevil SMN a jeden nebo více SBN. Celkem bylo tedy diagnostikováno 193 SMN a 47 SBN. Mortalita mezi přeživšími se SMN činila 38,2 % (65 pacientů), jednalo se tak o 1,6 % ze všech přeživších. Nejčastějšími primárními diagnózami byly HL (50 pacientů; 29,4 %), nádory CNS (28; 16,5 %) a non-Hodgkinův lymfom (17; 10 %) (Tabulka 1. Primární diagnózy). Nejčastější SMN byly karcinomy štítné žlázy (37; 19,2 %), nádory CNS (25; 13 %) a STS (23; 11,9 %) (Graf 1. Sekundární maligní nádory).

U 119 přeživších (2,9 %) byl diagnostikován jeden či více SBN (a zároveň žádný SMN), celkem 146 SBN. Nejčastějšími primárními diagnózami byly nádory CNS (25; 21 %), HL (23; 19,3 %), neuroblastom (14; 11,8 %) a nefroblastom (12; 10,1 %) (Tabulka 1. Primární diagnózy). Nejčastějšími SBN byly angiomyolipomy ledvin (41; 28,1 % což činí 1 % ze všech přeživších), meningeomy (19; 13 %) a adenomy štítné žlázy (15; 10,3 %) (Graf 2. Sekundární benigní nádory). Záchyt angiomyolipomů byl ovlivněn četností provedených UZ kontrol, mezi přeživšími s UZ břicha (tj. u těch, kde skutečně mohl být zachycen asymptomatický angiomyolipom ledviny) byl SAML diagnostikován u 4,4 % přeživších. Obdobně byl ovlivněn i počet diagnostikovaných meningeomů, jelikož ne každý pacient podstoupil CT nebo magnetickou rezonanci mozku.

Genetický syndrom byl prokázán u 25 pacientů se SMN (14,7 %) a u 16 pacientů pouze se SBN (13,4 %). Nejčastějšími genetickými syndromy byla NF1, Li Fraumeniho syndrom a změna Rb 1 genu.

**Tabulka 1. Primární diagnózy všech přeživších a přeživších se SN + základní charakteristiky**

| diagnóza             | všichni přeživší |            | přeživší s maligním SN |            | přeživší pouze s benigním SN |            | přeživší pouze s NMSC |            |
|----------------------|------------------|------------|------------------------|------------|------------------------------|------------|-----------------------|------------|
|                      | N                | %          | N                      | %          | N                            | %          | N                     | %          |
| <b>CELKEM</b>        | <b>4059</b>      | <b>100</b> | <b>170</b>             | <b>4,2</b> | <b>119</b>                   | <b>2,9</b> | <b>7</b>              | <b>0,2</b> |
| Hodgkinův lymfom     | 534              | 13,2       | 50                     | 9,4        | 23                           | 4,3        | 3                     | 0,6        |
| nádor CNS            | 847              | 20,9       | 28                     | 3,3        | 25                           | 3,0        | 2                     | 0,2        |
| NHL                  | 382              | 9,4        | 17                     | 4,5        | 9                            | 2,4        | 0                     | 0          |
| sarkom měkkých tkání | 332              | 8,2        | 15                     | 4,5        | 6                            | 1,8        | 0                     | 0          |
| neuroblastom         | 345              | 8,5        | 11                     | 3,2        | 14                           | 4,1        | 0                     | 0          |
| retinoblastom        | 167              | 4,1        | 11                     | 6,6        | 5                            | 3,0        | 0                     | 0          |
| Ewingův sarkom       | 162              | 4,0        | 9                      | 5,6        | 5                            | 3,1        | 0                     | 0          |
| nefroblastom         | 378              | 9,3        | 8                      | 2,1        | 12                           | 3,2        | 2                     | 0,5        |
| osteosarkom          | 110              | 2,7        | 7                      | 6,4        | 5                            | 4,5        | 0                     | 0          |
| germinální nádor     | 351              | 8,6        | 5                      | 1,4        | 4                            | 1,1        | 0                     | 0          |
| ostatní              | 451              | 11,1       | 9                      | 2,0        | 11                           | 2,4        | 0                     | 0          |

| čas od konce terapie pro primární nádor do dg SN | / | / | 12 r 6 m +- 9 r 11 m | 14 r 11 m +- 9 r 4 m | 25 r 3 m +- 3 r 11 m |
|--|---|---|----------------------|----------------------|----------------------|
|--|---|---|----------------------|----------------------|----------------------|

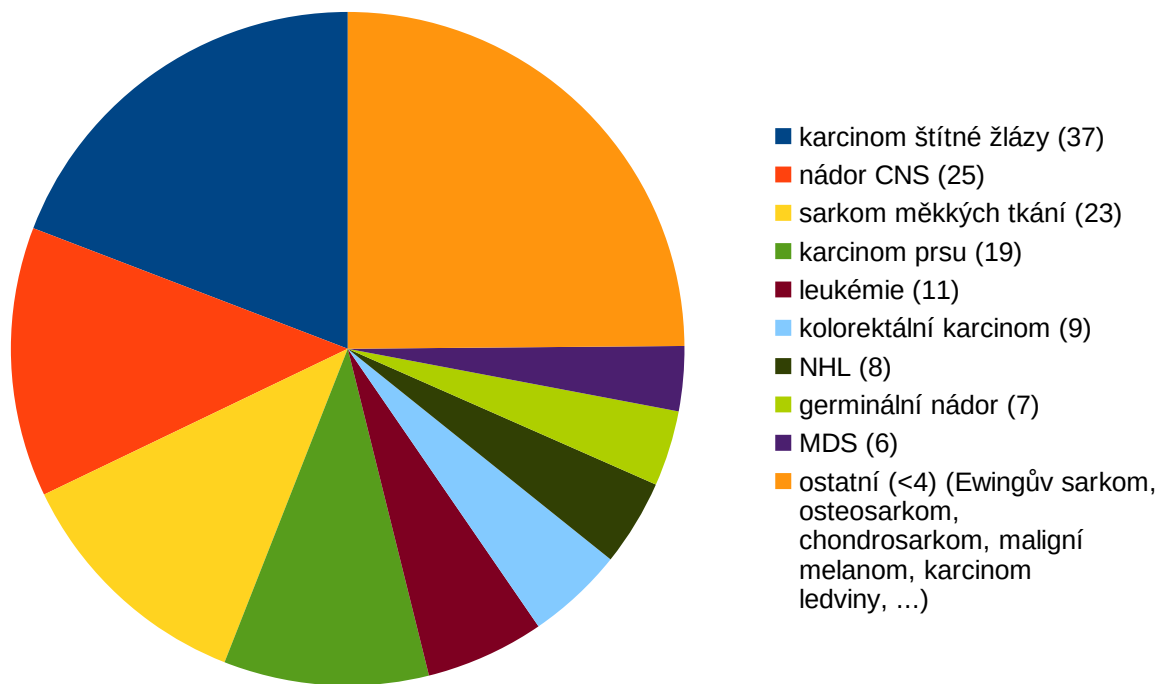
|      |      |      |    |      |    |      |   |      |
|------|------|------|----|------|----|------|---|------|
| ženy | 2040 | 50,3 | 89 | 52,3 | 73 | 61,3 | 5 | 71,4 |
| muži | 2019 | 49,7 | 81 | 47,7 | 46 | 38,7 | 2 | 28,6 |

|           |      |      |     |   |     |   |   |   |
|-----------|------|------|-----|---|-----|---|---|---|
| 1975-1985 | 315  | 7,7  | 3   | / | 0   | / | 0 | / |
| 1986-1995 | 868  | 21,4 | 19  | / | 2   | / | 0 | / |
| 1996-2005 | 1196 | 29,5 | 41  | / | 17  | / | 0 | / |
| 2006-2018 | 1680 | 41,4 | 107 | / | 100 | / | 7 | / |

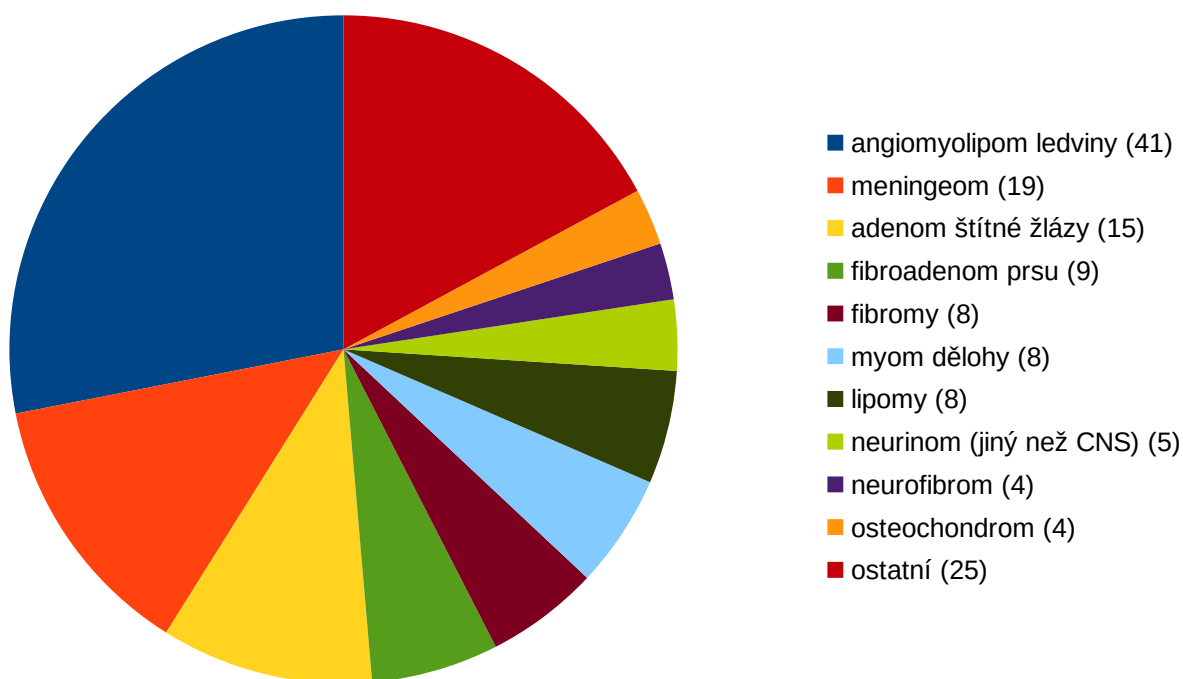
procenta u přeživších se SN jsou počítány ze všech přeživších dané dg (např. 50 přeživších se SMN po HL ze 534 všech přeživších po HL = 9,4%)

**Tabulka 2. Výskyt nejčastějších SN z hlediska časového odstupu od konce léčby pro primární tumor**

|              | karcinom štítné žlázy |         | nádor CNS |        | sarkom měkkých tkání |        | meningeom |        | basocelulární karcinom |         |
|--------------|-----------------------|---------|-----------|--------|----------------------|--------|-----------|--------|------------------------|---------|
|              | N                     | % ze 37 | N         | % z 25 | N                    | % z 23 | N         | % z 25 | N                      | % ze 17 |
| <5 let       | 3                     | 8       | 7         | 28     | 2                    | 8      | 0         | 0      | 0                      | 0       |
| 5 až 10 let  | 7                     | 19      | 7         | 28     | 5                    | 22     | 3         | 12     | 2                      | 12      |
| 10 až 20 let | 19                    | 51      | 7         | 28     | 8                    | 35     | 11        | 44     | 9                      | 53      |
| >20 let      | 8                     | 22      | 4         | 16     | 8                    | 35     | 11        | 44     | 6                      | 35      |



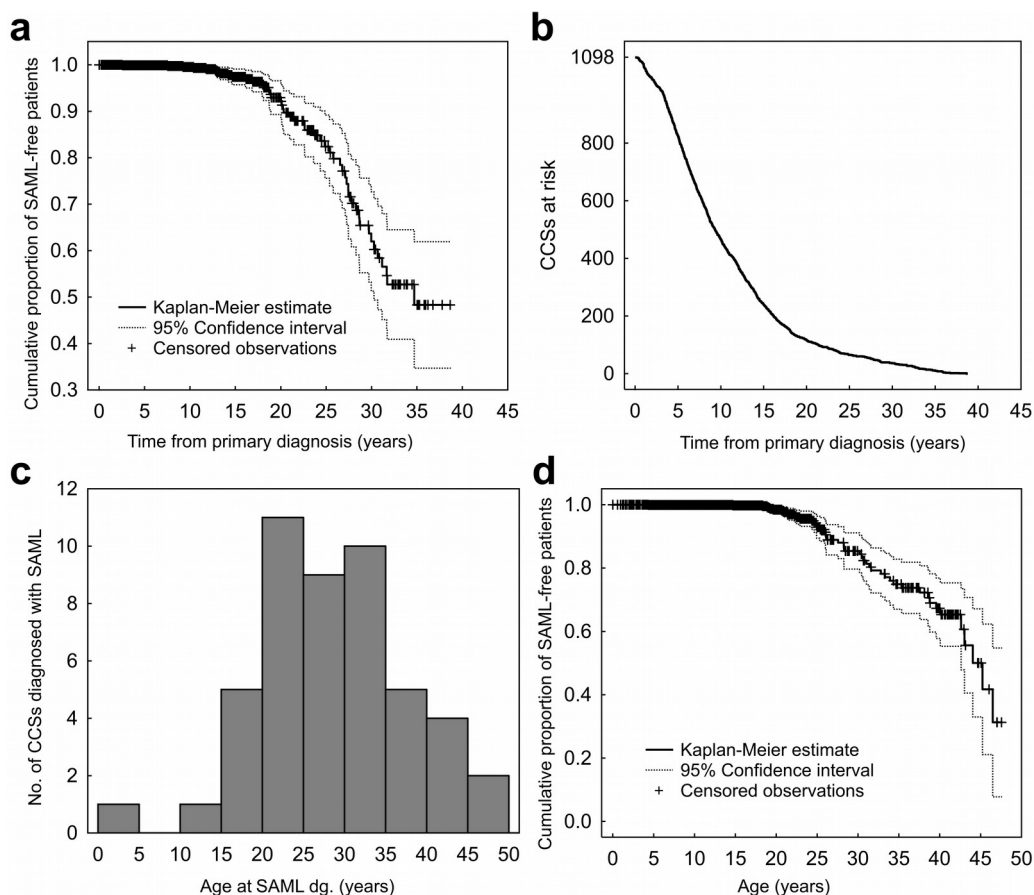
Graf 1: Sekundární maligní nádory (celkem 193)



Graf 2: Sekundární benigní nádory (celkem 146)

## 4.2 Angiomyolipomy ledvin

Z 1098 přeživších, kteří podstoupili mezi lety 2014 – 2019 UZ vyšetření ledvin v rámci dlouhodobého sledování po předchozí onkologické terapii, byl u 48 (4,4 %) přítomen SAML. U 32 z nich se jednalo o nově potvrzenou diagnózu, u 16 z nich se vyvinul SAML již před rokem 2014. Čtyřicet přeživších bylo během studované periody vyšetřováno opakovaně, u 14 (35 %) z nich byla zaznamenána progresse ve velikosti a u 9 (23 %) zmnožení lézí. Průměrná progresse v nejdelším rozměru byla 4 mm a žádná z těchto lézí nevykazovala na následných UZ vyšetřeních atypické znaky.



**Graf 3. Výskyt sporadických angiomyolipomů ledvin**

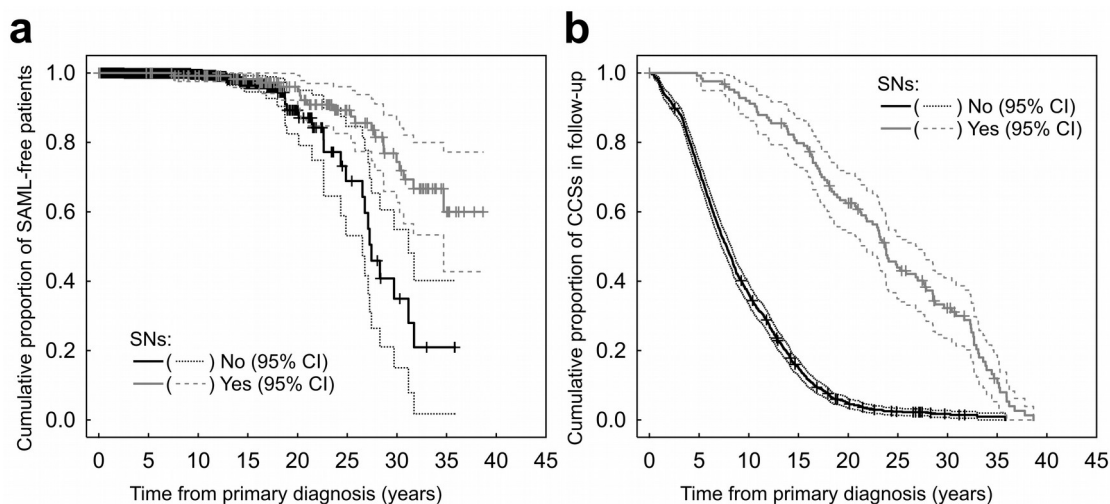
a) Kaplanův – Meierův odhad proporce přeživších bez SAML, b) Počet přeživších bez SAML zůstávajících ve studii v určitém čase sledování, c) Histogram ukazující distribuci věku v době diagnózy SAML, d) Kaplanova – Meierova křivka ukazující incidenci SAML v závislosti na věku

Přeživší se SAML měli jako primární nádor následující diagnózy: HL (11), neuroblastom (9), nefroblastom (6), retinoblastom (5), STS (5), non-Hodgkinův lymfom (4), germinální nádor (3), nádor kostí (3) a dva jiné maligní nádory. Genetický syndrom byl přítomen u sedmi přeživších se SAML (15 %), konkrétně se jednalo o čtyři přeživší s delecí Rb1 genu a po jednom s Li – Fraumeni syndromem, s NF1 a s familiární adenomatózní polypózou. Nezaznamenali jsme vztah mezi genetickým syndromem a zvýšeným rizikem vzniku SAML. Také jsme neprokázali žádný vztah věku v době primární diagnózy a rizika rozvoje SAML. Pozorovali jsme zvýšený výskyt SAML u žen, u přeživších po předchozí RT retroperitonea a u přeživších po předchozí CHT (Tabulka 3), nicméně jednoznačně zvýšené riziko vzniku SAML jsme prokázali pouze po RT retroperitonea (1,6krát vyšší riziko, 95 % CI 0,84 – 3,03). Častější výskyt SAML u žen a přeživších po předchozí CHT mohl být v důsledku delšího sledování těchto přeživších (1,33krát delší u žen a 1,7krát delší u pacientů po předchozí CHT). Ze 48 přeživších se SAML byl u z nich 20 (42 %) diagnostikován také jiný SN. Korelace mezi zvýšeným rizikem SAML a vznikem jiného SN byla v naší studii prokázána pouze pro přeživší s dobou sledování delší než 20 let (Graf 4, část a). Relativně vyšší výskyt SAML u přeživších s jiným SN může být tedy důsledkem delšího sledování těchto přeživších (4,76krát vyšší, viz Graf 4, část b). Přehled přeživších se SAML a dalším SN ukazuje Tabulka 4.

**Tabulka 3. Počet SAML s ohledem na pohlaví, CHT, RT retroperitonea, genetický syndrom a přítomnost SN**

|  | bez SAML   | všechny SAML | jedna unilaterální léze SAML; P/L | více lézí, unilaterálně SAML | bilaterálně SAML |
|--|------------|--------------|-----------------------------------|------------------------------|------------------|
| všichni přeživší                           | 1050       | 48           | 27 (56 %); 13/14                  | 11 (23 %)                    | 10 (21 %)        |
| ženy                                       | 490 (47 %) | 35 (73 %)    | -                                 | -                            | -                |
| přeživší po CHT                            | 862 (82 %) | 47 (98 %)    | -                                 | -                            | -                |
| přeživší po RT retroperitonea              | 117 (11 %) | 16(33 %)     | 10 (21 %)                         | 4 (8 %)                      | 2 (4 %)          |
| přeživší s prokázaným genetickým syndromem | 103 (10 %) | 7(15 %)      | 2 (4 %)                           | 2 (4 %)                      | 3 (6 %)          |
| přeživší se SN                             | 112 (11 %) | 20 (42 %)    | 11 (23 %)                         | 7 (15 %)                     | 2 (4 %)          |

SAML = sporadický angiomyolipom ledviny, P = pravá ledvina, L = levá ledvina; u pacientů bez SAML jsou % počítána z 1050, ve zbylé části tabulky z počtu 48 přeživších se SAML



**Graf 4. Vztah vzniku sekundárního nádoru a SAML** (SN = sekundární nádor, SAML = sporadický angiomyolipom ledviny, CCSs = *childhood cancer survivors* = přeživší po předchozí onkologické léčbě v dětství), a) Vztah vzniku SN a SAML, b) Doba sledování pacientů se SN vs. bez SN

**Tabulka 4. Přeživší se SAML a dalším SN**

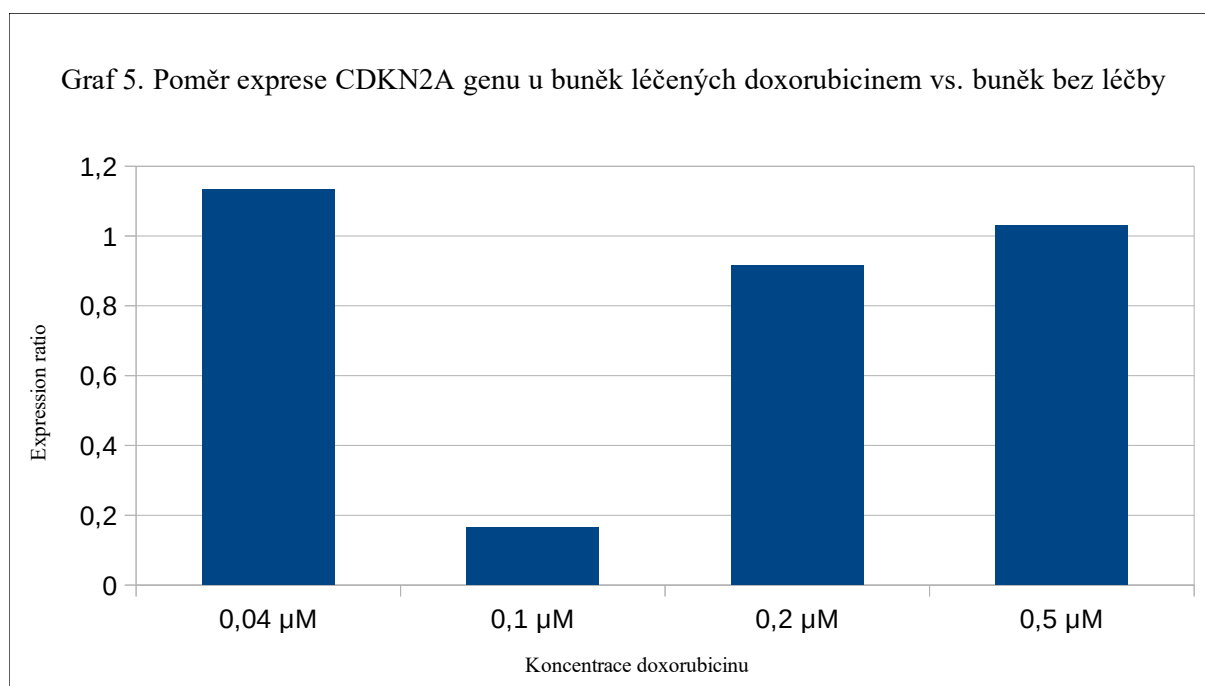
| primární diagnóza    | N  | medián věku v době dg SAML (roky) | medián času sledování do dg SAML (roky) | ženy/<br>muži | GS      | SMN <sup>a</sup> | SBN <sup>b</sup> |
|----------------------|----|-----------------------------------|---|---------------|---------|------------------|------------------|
| celkem               | 20 | 34,6 (19,1 – 47,5)                | 27,3 (6,6 – 34,4)                       | 15/5          | 2       | 10               | 17               |
| germinální nádor     | 3  | 27,5 (22,9 – 30,2)                | 26,4 (21,0 – 30,0)                      | 2/1           | 0       | 1                | 2                |
| Hodgkinův lymfom     | 8  | 40,9 (21,5 – 47,5)                | 25,3 (6,6 – 31,7)                       | 7/1           | FAP     | 2                | 7                |
| neuroblastom         | 4  | 30,3 (19,1 – 42,7)                | 28,5 (18,1 – 32,9)                      | 1/3           | 0       | 4                | 3                |
| nefroblastom         | 1  | 27,6                              | 27,5                                    | 1/0           | 0       | 0                | 1                |
| non Hodgkinův lymfom | 3  | 38,6 (35,4 – 43,7)                | 30,7 (20,1 – 34,4)                      | 3/0           | 0       | 2                | 4                |
| retinoblastom        | 1  | 26,1                              | 25,4                                    | 1/0           | Rb1 del | 1                | 0                |

(GS = genetický syndrom, N = počet diagnóz, dg = diagnóza, FAP = familiární adenomatózní polypóza, Rb1 del = delece Rb1 genu), <sup>a</sup>karcinom (5), nádor centrálního nervového systému (2), germinální nádor (1), neuroblastom (1), sarkom měkkých tkání (1), <sup>b</sup>fibroepiteliální nádor (8), myom (4), nemelanomový kožní nádor (NMSC) (2), nádor kosti nebo chrupavky (2), nádor pochvy periferního nervu (1)



### 4.3 Vliv cytostatik na buněčnou senescenci *in vitro*

K ozřejmění vlivu chemoterapie na buněčnou senescenci jsme se rozhodli pro kultivaci HDF s doxorubicinem. Graf 5 zobrazuje hodnoty *expression ratios* pro jednotlivé použité koncentrace doxorubicinu, hodnoty vyšší než jedna naznačují zvýšenou expresi genu CDKN2A u buněk kultivovaných s doxorubicinem než u buněk kultivovaných bez cytostatika, hodnoty nižší než jedna sníženou expresi, žádný z výsledků nebyl statisticky významný na hladině významnosti 0,05 (1,134 s p-hodnotou 0,649; 0,165 s p-hodnotou 0,06; 0,915 s p-hodnotou 0,414; 1,029 s p-hodnotou 0,547).



Statisticky významný rozdíl v expresi CDKN2A jsme zaznamenali pouze po kultivaci HDF s doxorubicinem o koncentraci 0,1 μM po dobu 24 hodin s následným promytím a další kultivací po 72 hodin již bez doxorubicinu. Expese byla snižená s průměrným expression ratio 0,382 a  $p = 0,001$ .

## 5. Diskuse

Naše výsledky i výsledky dosud publikované v literatuře ukazují, že incidence SMN je relativně častá. Vyvinou se u 3 – 10 % přeživších po předchozí onkologické léčbě v dětství a jsou spojeny s vysokou mortalitou (Friedman D. L. et al., 2010; Teepen J. C. et al., 2017; Armstrong G. T. et al., 2009; Garwicz S. et al., 2011; Fidler M. M. et al., 2016). Pro vznik sekundárního karcinomu štítné žlázy nebo nádoru CNS je zásadním rizikovým faktorem RT, přičemž RT se uplatní i na okraji ozařovacího pole (např. vznik karcinomu štítné žlázy po iradiaci kraniospinální osy, po ozáření zadní jámy lebni nebo RT hrudníku) (Bhatti P. et al, 2010; Watt T. C. et al., 2012; Dores G. M. et al., 2010). Ve dvou případech jsme pozorovali vznik karcinomu thyroidey po aplikaci radiojódu ( $^{131}\text{I}$ -MIBG) při diagnostice nebo léčbě neuroblastomu, u těchto pacientů je tedy nutná adekvátní blokáda štítné žlázy před aplikací radiojódu a tito přeživší zasluhují stejnou intenzitu dlouhodobého sledování jako přeživší po předchozí RT krku (van Santen H. M. et al., 2012; Clement S. C. et al., 2013). Nejčastější primární diagnózou byl u našich pacientů HL, tito přeživší jsou ve zvýšeném riziku vzniku karcinomu štítné žlázy a karcinomu prsu, je proto nutné důkladné dlouhodobé sledování včetně pravidelných UZ kontrol (Bhatia S. et al., 2003; Bhatti P. et al., 2010; O'Brien M. M. et al., 2010). Vzhledem k riziku pozdního vzniku sekundárního nádoru CNS nebo menigeomu je u pacientů po předchozí RT zahrnující neurokranium nutná magnetická rezonance v rámci pravidelných kontrol při dlouhodobém sledování (Bowers D. C. et al., 2013; Taylor A. J. et al., 2010). S ohledem na častý výskyt BCC doporučujeme pravidelné dermatologické vyšetření u všech pacientů po předchozí RT. U pacientů, u kterých vznikne sekundární NMSC je nutné zvýšené sledování vzhledem k vyššímu riziku rozvoje SMN (Cho H. G. et al., 2018). Vznik SN STS ovlivňuje nejen RT, ale i CHT a přítomný genetický syndrom (zejména změny Rb1 genu) (MacCarthy A. et al., 2013; Wong J. R. et al., 2014; Bright C. J. et al., 2018). Cyklofosfamid je významným rizikovým faktorem rozvoje

sarkomu močového měchýře a spolu s předchozí diagnózou retinoblastomu jsou indikací k pravidelným UZ kontrolám břicha a malé pánve (Tanguay C. et al., 2003).

Nejčastějším SBN byl mezi našimi pacienty SAML. Pokud je nám známo, tak dosud v literatuře nebyl popsán výskyt těchto nádorů u přeživších po onkologické léčbě. Incidence SAML byla 4,4 % což je cca 10 krát více než v běžné populaci (Vos N. et Oyen R., 2018; Flum A. S. et al., 2016; Fittschen A. et al., 2014; Chan K. E. et al., 2018). Navíc byl u našich přeživších typický časnější věk vzniku, častější progresse a častější vícečetný či bilaterální výskyt. Ačkoliv žádný z našich pacientů se SAML neměl prokázanou TSC, tyto charakteristiky více odpovídají právě angiomyolipomům vyskytujícím se při TSC než sporadickým angiomyolipomům (Swärd J. et al., 2020; Flum A. S. et al., 2016; Neofytou K. et al., 2015).

V třetí části práce jsme se pokusili prokázat vliv doxorubicinu na buněčnou senescenci *in vitro* a nastítnit tak nové možnosti a směr výzkumu vzniku pozdních následků na buněčné úrovni. Z poznatků dosud publikovaných v literatuře jsme předpokládali zvýšení exprese markerů buněčné senescence po kultivaci buněk s doxorubicinem, avšak při zvolených koncentracích nebyl vliv doxorubicinu na expresi markerů buněčné senescence statisticky významný (Sanoff H. K. et al., 2014; Armenian S. H. et al., 2019; Marcoux S. et al., 2013). Další podrobnější výzkum s použitím více různých cytostatik a jejich koncentrací by mohl tento vztah lépe objasnit.

## 6. Závěr

V disertační práci jsme se zaměřili na pozdní následky po onkologické léčbě v dětství, zejména na sekundární nádory a jejich rizikové faktory. Vzhledem k pokrokům v diagnostice i léčbě jsme v dnešní době schopni zajistit dlouhodobé přežití u více než 80 % dětských onkologických pacientů, kvalita života přeživších je však ovlivněna řadou pozdních následků. Popsání rizikových faktorů pozdních následků nám pomáhá upravit léčebné protokoly a následné dlouhodobé sledování přeživších. Naším cílem je omezit rizikové faktory na minimum (tam, kde to povaha nádoru umožní) a efektivněji předcházet případným komplikacím. Popsali jsme výskyt sekundárních nádorů u všech pacientů léčených na KDHO pro solidní nádor od roku 1975 tj. od samého vzniku oboru dětské onkologie v České republice, kdy byla KDHO jediným centrem pro léčbu dětských onkologických pacientů.

Část práce jsme věnovali buněčné senescenci, která je společným mechanismem vzniku pozdních následků. Nasvědčuje tomu podobnost pozdních následků a patologií vyskytujících se častěji u starších osob a také časnější výskyt onemocnění typických pro starší osoby u přeživších. U přeživších po předchozí onkologické léčbě v dětství byly prokázány zvýšené hladiny markerů buněčné senescence. Pokusili jsme se prokázat vliv doxorubicinu na buněčnou senescenci *in vitro* a nastínit tak nové možnosti výzkumu vzniku pozdních následků na buněčné úrovni. Vliv doxorubicinu na expresi markerů buněčné senescence nebyl při zvolených koncentracích statisticky významný, nicméně další podrobnější výzkum by mohl tento vztah lépe objasnit.

## 7.1 Souhrn

Naším cílem bylo zmapovat aktuální poznatky týkající se pozdních následků po onkologické léčbě v dětství se zaměřením na sekundární nádory (SN) a jejich rizikové faktory a zhodnotit jejich výskyt na Klinice dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol (KDHO). Druhým cílem bylo popsat výskyt a rizikové faktory sporadických angiomyolipomů ledvin (SAML) jakožto nejčastějších benigních SN v naší studované kohortě. Třetím cílem bylo shrnout poznatky o buněčné senescenci u onkologických pacientů (buněčná senescence je společným biologickým mechanismem rozvoje většiny pozdních následků) a prokázat vliv CHT na buněčnou senescenci *in vitro*.

Z celkového počtu 4059 přeživších léčených mezi lety 1975 až 2018 pro solidní nádor na KDHO byl u 170 (4,2 %) diagnostikován alespoň jeden SMN a u 119 přeživších (2,9 %) byl diagnostikován jeden či více SBN (a zároveň žádný SMN). Nejčastější SMN byly karcinomy štítné žlázy (37; 19,2 %), nádory CNS (25; 13 %) a STS (23; 11,9 %). Nejčastějšími SBN byly angiomyolipomy ledvin (41; 28,1 % což činí 1 % ze všech přeživších), meningeomy (19; 13 %) a adenomy štítné žlázy (15; 10,3 %). Mortalita mezi přeživšími se SMN činila 38,2 % (1,6 % ze všech přeživších). Genetický syndrom byl potvrzen u 41 pacientů, nejčastější byly NF1, Li Fraumeni syndrom a patogenní změna Rb1 genu. U karcinomu štítné žlázy a nádorů CNS byla nejčastějším rizikovým faktorem RT, u STS (zejména močového měchýře) převažoval vliv CHT a genetického syndromu.

Mezi našimi přeživšími jsme zaznamenali přibližně 10 krát vyšší výskyt SAML než u „neonkologické“ populace, přičemž typický byl nižší věk v době diagnózy, mnohočetné nebo bilaterální léze a častější progresse nálezu. Všechny tyto charakteristiky odpovídají více angiomyolipomům ledvin při TSC (nicméně žádný z našich pacientů neměl TSC), což naznačuje jejich možnou společnou patogenezi, nutné jsou však další studie.

Pomocí stanovení exprese genu CDKN2A jsme se pokusili prokázat, že CHT urychluje buněčnou senescenci (tj. zvyšuje expresi CDKN2A genu), nicméně rozdíl mezi buňkami kultivovanými s doxorubicinem a buňkami bez doxorubicinu nebyl statisticky významný. Vzhledem k dosud publikovaným výsledkům v literatuře však tento vliv i nadále předpokládáme, změna nemusela být signifikantní z důvodu nízkých použitých koncentrací doxorubicinu, případně se na urychlené senescenci *in vivo* podílí ještě další mechanismus, který se neprojeví *in vitro*.

## 7.2 Summary

First, the study aimed to review knowledge about late effects after oncology treatment in pediatric patients (particularly about subsequent neoplasms (SN) and their risk factors) and describe SN presented at the Department of Pediatric Haematology and Oncology Motol University Hospital, Prague (KDHO). Second, we wanted to study the development and risk factors of sporadic renal angiomyolipomas (SAML) as our most frequent SBN. Third, we wanted to prove the impact of CHT on cellular senescence *in vitro* (cellular senescence is an important biological mechanism of development of the majority of late effects).

Out of 4,059 survivors treated between 1975 - 2018 on KDHO for a solid tumor, 170 (4.2 % of all survivors) developed at least one SMN, and 119 (2.9 %) developed only SBN. The most common SMN was thyroid carcinoma (37; 19.2 %), CNS tumors (25; 13 %) and STS (23; 11.9 %). The most common SBN were renal angiomyolipomas (41; 28.1 % i.e. 1 % of all survivors), meningiomas (19; 13 %) and thyroid adenomas (15; 10.3 %). Mortality among patients with SMN was 38 % i.e. 1.6 % of all survivors. The genetic syndrome was confirmed in 41 survivors, the most common being NF1, Li Fraumeni syndrome and Rb1 mutation. Among thyroid carcinomas and CNS tumors, the main risk factor was RT. Among STS (particularly bladder sarcomas), there was a dominant role of CHT as a risk factor.

Compared to general population, there was a ten times higher occurrence of SAML among our group of survivors. Moreover, our patients were younger at the

time of SAML diagnosis, often diagnosed with multiple or bilateral lesion and with more frequent progression. These characteristics are typical for angiomyolipomas in TSC (but none of our patients had TSC), which suggest possible similar pathogenesis, but further studies are needed.

Results from the literature suggest that CHT accelerates cellular senescence and that there is an elevation of markers of cellular senescence after CHT. There was no significant difference in CDKN2A expression between cells treated by doxorubicin and untreated cells *in vitro*, but this could be due to small concentrations of used doxorubicin, and there might also be some mechanisms which accelerate cellular senescence in whole organism, but are not efficient *in vitro*.

## **8. Přehled publikační činnosti**

### **Původní vědecké práce, které jsou podkladem této disertační práce s IF:**

1. Zichová, A., Eckschlager, T., Ganevová, M., Malinová, B., Lukš, A., Kruseová, J. (2020). Subsequent neoplasms in childhood cancer survivors. *Cancer Epidemiol* 68:101779. IF 2,890
2. Kruseová, J., Gottfriedová, B., Zichová, A., Švojgr, K., Hošek, P., Lukš, A., Kynčl, M., Eckschlager, T. (2021). Is There a Higher Incidence of Sporadic Renal Angiomyolipoma in Childhood Cancer Survivors? *Clinical Epidemiology* 13:707-716. IF 5,814
3. Kruseová, J., Zichová, A., Eckschlager, T. (2023). Premature ageing in childhood cancer survivors. *Oncology Letters* 25(2):43. IF 3,111

### **Původní vědecké práce, které nejsou podkladem této disertační práce s IF:**

1. Kruseová, J., Kováčová, A. S., Zápotocký, M., Sumerauer, D., Perníková, I., Stárková, D., Mišove, A., Zichová, A., Čapek, A., Langer, T., am Zehnhoff-Dinnesen, A., Eckschlager, T., Kynčl, M. (2020). Older age is a protective factor for academic achievements irrespective of treatment modalities for posterior fossa brain tumors in children. *PLoS One* 15(12):e0243998. IF 3,752

### **Plakátové sdělení:**

1. Vědecké konference 2. lékařské fakulty UK (2019). Komentovaný poster: Výskyt sekundárních nádorů u pacientů léčených v dětství na Klinice dětské hematologie a onkologie



## 9. Literatura

Adam, Z., Krejčí, M., Vorlíček, J. et al. (2010). *Speciální onkologie. Příznaky, diagnostika a léčba maligních chorob*. Kapitola: Úvod do onkologie dětského věku, str. 349-352, Bajčiová, V. První vydání. Praha: Galén. ISBN 978-80-7262-648-9

Alcorta, D. A., Xiong, Y., Phelps, D., Hannon, G., Beach, D., Barrett, J. C. (1996). Involvement of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 (INK4a) in replicative senescence of normal human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(24):13742-7.

Allodji, R. S., Hawkins, M. M., Bright, C. J., Fidler-Benaoudia, M. M., Winter, D. L., Alessi, D., Fresneau, B., Journy, N., Morsellino, V., Bárdi, E., Bautz, A., Byrne, J., Feijen, E. L. A., Teepe, J. C., Vu-Bezin, G., Rubino, C., Garwicz, S., Grabow, D., Gudmundsdottir, T., Guha, J., Hau, E. M., Jankovic, M., Kaatsch, P., Kaiser, M., Linge, H., Muraca, M., Llanas, D., Veres, C., Øfstaas, H., Diallo, I., Mansouri, I., Ronckers, C. M., Skinner, R., Terenziani, M., Wesenberg, F., Wiebe, T., Sacerdote, C., Jakab, Z., Haupt, R., Lähteenmäki, P., Zdravec Zaletel, L., Kuehni, C. E., Winther, J. F., Michel, G., Kremer, L. C. M., Hjorth, L., Haddy, N., de Vathaire, F., Reulen, R. C. (2019). Risk of subsequent primary leukaemias among 69,460 five-year survivors of childhood cancer diagnosed from 1940 to 2008 in Europe: A cohort study within PanCareSurFup. *Eur J Cancer* 117:71-83.

Armenian, S. H., Gibson, C. J., Rockne, R. C., Ness, K. K. (2019). Premature Aging in Young Cancer Survivors. *J Natl Cancer Inst.* 111(3):226-232.

Armstrong, G. T., Liu, Q., Yasui, Y., Neglia, J. P., Leisenring, W., Robison, L. L., Mertens, A. C. (2009). Late mortality among 5-year survivors of childhood cancer: a summary from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol.* 27(14):2328-2338.

Armstrong, G. T., Liu, Q., Yasui, Y., Huang, S., Ness, K. K., Leisenring, W., Hudson, M. M., Donaldson, S. S., King, A. A., Stovall, S., Krull, K. R., Robison, L. L., Packer, R. J. (2009). Long-term outcomes among adult survivors of childhood central nervous system malignancies in the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 101(13):946-958.

Armstrong, G. T., Stovall, M., Robison, L. L. (2010). Long-Term Effects of Radiation Exposure among Adult Survivors of Childhood Cancer: Results from the Childhood Cancer Survivor Study. *Radiat Res.* 174(6): 840-850.

Armstrong, G. T., Liu, W., Leisenring, W., Yasui, Y., Hammond, S., Bhatia, S., Neglia, J. P., Stovall, M., Srivastava, D., Robison, L. L. (2011). Occurrence of Multiple Subsequent Neoplasms in Long-Term Survivors of Childhood Cancer: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol.* 29(22): 3056-3064.

Armstrong, G. T., Kawashima, T., Leisenring, W., Stratton, K., Stovall, M., Hudson, M. M., Sklar, Ch. A., Robison, L. L., Oeffinger, K. C. (2014). Aging and risk of severe, disabling, life-threatening, and fatal events in the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol* 32(12):1218-27.

Armstrong, G. T., Chen, Y., Yasui, Y., Leisenring, W., Gibson, T. M., Mertens, A. C., Stovall, M., Oeffinger, K. C., Bhatia, S., Krull, K. R., Nathan, P. C., Neglia, J. P., Green, D. M., Hudson, M. M., Robison, L. L. (2016). Reduction in Late Mortality among 5-Year Survivors of Childhood Cancer. *N Engl J Med* 374(9):833-42.

Bagnasco, F., Caruso, S., Andreano, A., Valsecchi, M. G., Jankovic, M., Biondi, A., Miligi, L., Casella, C., Terenziani, M., Massimino, M., Sacerdote, C., Morsellino, V., Erminio, G., Garaventa, A., Faraci, M., Micalizzi, C., Garrè, M. L., Pillon, M., Basso, G., Biasin, E., Fagioli, F., Rondelli, R., Pession, A., Locatelli, F., Santoro, N., Indolfi, P., Palumbo, G., Russo, G., Verzegnassi, F., Favre, C., Zecca, M., Mura, R., D'Angelo, P., Cano, C., Byrne, J., Haupt, R., OTR-AIEOP Registry (2019). Late mortality and causes of death among 5-year survivors of childhood cancer diagnosed in the period 1960-1999 and registered in the Italian Off-Therapy Registry. *Eur J Cancer* 110:86-97.

Bahau, M., Vidaud, D., Jenkins, R. B., Bieche, I., Rinunci, D. W., Assouline, B., Smith, J. S., Alderete, B., Cayuela, J. M., Harpey, J. P., Caille, B., Vidaud, M. (1998). Germ-Line Deletion Involving the INK4 Locus in Familial Proneness to Melanoma and Nervous System Tumors. *Cancer Research* 58:2298-2303.

Baker, D. J., Childs, B. G., Durik, M., Wijers, M. E., Sieben, C. J., Zhong, J., Saltness, R. A., Jeganathan, K. B., Versoza, G. C., Pezeshki, A., Khazaie, K., Miller, J. D., van Deursen, J. M. (2016). Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530(7589):184-189.

Baker, K. S., Leisenring, W. M., Goodman, P. J., Ermoian, R. P., Flowers, M. E., Schoch, G., Storb, R., Sandmaier, B. M., Deeg, H. J. (2019). Total body irradiation dose and risk of subsequent neoplasms following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 133(26):2790-2799.

- Bhakta, N., Liu, Q., Ness, K. K., Baassiri, M., Eissa, H., Yeo, F., Chemaitilly, W., Ehrhardt, M. J., Bass, J., Bishop, M. W., Shelton, K., Lu, L., Huang, S., Li, Z., Caron, E., Lancot, J., Howell, C., Folse, T., Joshi, V., Green, D. M., Mulrooney, D. A., Armstrong, G. T., Krull, K. R., Brinkman, T. M., Khan, R. B., Srivastava, D. K., Hudson, M. M., Yasui, Y., Robison, L. L. (2017). The cumulative burden of surviving childhood cancer: an initial report from the St Jude Lifetime Cohort Study (SJLIFE). *Lancet* 390(10112):2569-2582.
- Bhatia, S., Yasui, Y., Robison, L. L., Birch, J. M., Bogue, M. K., Diller, L., DeLaat, C., Fossati-Bellani, F., Morgan, E., Oberlin, O., Reaman, G., Ruymann, F. B., Tersak, J., Meadows, A. T., Late Effects Study Group (2003). High risk of subsequent neoplasms continues with extended follow-up of childhood Hodgkin's disease: report from the Late Effects Study Group. *J Clin Oncol* 21(23):4386-94.
- Bhatt, J. R., Richard, P. O., Kim, N. S., Finelli, A., Manickavachagam, K., Legere, L., Evans, A., Pei, Y., Sykes, J., Jhaveri, K., Jewett, M. A. S. (2016). Natural History of Renal Angiomyolipoma (AML): Most Patients with Large AMLs 4cm Can Be Offered Active Surveillance as an Initial Management Strategy. *Eur Urol.* 70(1):85-90.
- Bhatti, P., Veiga, L. H. S., Ronckers, C. M., Sigurdson, A. J., Stovall, M., Smith, S. A., Weathers, R., Leisenring, W., Mertens, A. C., Hammond, S., Friedman, D. L., Neglia, J. P., Meadows, A. T., Donaldson, S. S., Sklar, Ch. A., Robison, L. L., Inskip, P. D. (2010). Risk of second primary thyroid cancer after radiotherapy for a childhood cancer in a large cohort study: an update from the Childhood Cancer Survivor Study. *Radiat Res.* 174(6):741-752.
- Blackburn, E. H., Szostak, J. W. (1984). The molecular structure of centromeres and telomeres. *Annu Rev Biochem.* 53:163-194.
- Bøhn, S. K. H., Thorsen, L., Kiserud, C. E., Fosså, S. D., Lie, H. C., Loge, J. H., Wisløff, T., Haugnes, H. S., Reinertsen, K. V. (2019). Chronic fatigue and associated factors among long-term survivors of cancers in young adulthood. *Acta Oncologica* 58:753-62.
- Boorjian, S. A., Sheinin, Y., Crispen, P. L., Lohse, C. M., Kwon, E. D., Leibovich, B. C. (2008). Hormone Receptor Expression in Renal Angiomyolipoma: Clinicopathologic Correlation. *Urology.* 72(4):927-932.
- Bowers, D. C., Nathan, P. C., Constine, L., Woodman, C., Bhatia, S., Keller, K., Bashore, L. (2013). Subsequent neoplasms of central nervous system among survivors of childhood cancer: a systematic review *Lancet Oncol* 14(8):e321-8.
- Bowers, D. C., Moskowitz, Ch. S., Chou, J. F., Mazewski, C. M., Neglia, J. P., Armstrong, G. T., Leisenring, W. M., Robison, L. L., Oeffinger, K. C. (2017). Morbidity and Mortality Associated With Meningioma After Cranial Radiotherapy: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 35(14):1570-1576.
- Bright, C. J., Hawkins, M. M., Winter, D. L., Alessi, D., Allodji, R. S., Bagnasco, F., Bárdi, E., Bautz, A., Byrne, J., Feijen, E. A. M., Fidler, M. M., Garwicz, S., Grabow, D., Gudmundsdottir, T., Guha, J., Haddy, N., Jankovic, M., Kaatsch, P., Kaiser, M., Kuehni, C. E., Linge, H., Øfstaas, H., Ronckers, C. M., Skinner, R., Teepen, J. C., Terenziani, M., Vu-Bezin, G., Wesenberg, F., Wiebe, T., Sacerdote, C., Jakab, Z., Haupt, R., Lähteenmäki, P., Zdravec Zaletel, L., Kuonen, R., Winther, J. F., de Vathaire, F., Kremer, L. C., Hjorth, L., Reulen, R. C., PanCareSurFup Consortium (2018). Risk of soft-tissue sarcoma among 69 460 five-year survivors of childhood cancer in Europe. *J. Natl Cancer Inst.* 110(6):649-660.
- Brodeur, G. M., Nichols, K. M., Plon, S. E., Schiffman, J. D., Malkin, D. (2017). Pediatric Cancer Predisposition and Surveillance: An Overview, and a Tribute to Alfred G. Knudson Jr. *Clin Cancer Res* 23(11):e1-e5.
- Broniscer, A., Ke, W., Fuller, C. E., Wu, J., Gajjar, A., Kun, L. E. (2004). Second neoplasms in pediatric patients with primary central nervous system tumors: the St. Jude Children's Research Hospital experience. *Cancer* 100:2246-2252.
- Burnelli, R., Rinieri, S., Rondelli, R., Todesco, A., Bianchi, M., Garaventa, A., Zecca, M., Indolfi, P., Conter, V., Santoro, N., Arico, M., Cesaro, S., D'Amico, S., Farruggia, P., De Santis, R., Locatelli, F., Pileri, S. A., Scarzello, G., Mascarini, M., Vecchi, V., AIEOP (Italian Association of Pediatric Hematology and Oncology) and Pediatric Hodgkin's Lymphoma Working Group (2018). Long-term results of the AIEOP MH'96 childhood Hodgkin's lymphoma trial and focus on significance of response to chemotherapy and its implication in low risk patients to avoid radiotherapy. *Leuk. Lymphoma* 59:2612-2621.
- Caliò, A., Brunelli, M., Segala, D., Zamboni, G., Bonetti, F., Pea, M., Martignoni, G. (2021). Angiomyolipoma of the kidney: from simple hamartoma to complex tumour. *Pathology.* 53(1):129-140.
- Campisi, J. (1997). The biology of replicative senescence. *Eur J Cancer* 33(5):703-9.
- Clement, S. C., van Eck-Smit, B. L. F., van Trotsenburg, A. S. P., Kremer, L. C. M., Tytgat, G. A. M., van Santen, H. M. (2013). Long-term follow-up of the thyroid gland after treatment with <sup>131</sup>I-Metaiodobenzylguanidine in children with

neuroblastoma: Importance of continuous surveillance. *Pediatr Blood Cancer* 60(11):1833-8.

Deng, Y., Chan, S. S., Chang, S. (2008). Telomere dysfunction and tumour suppression: the senescence connection. *Nat Rev Cancer* 8(6):450-8.

Díaz-Piña, G., Montes, E., Checa, M., Becerril, C., García de Alba, C., Vega, A., Páramo, I., Ordoñez-Razo, R., Ruiz, V. (2015). Profibrosing effect of angiotensin converting enzyme inhibitors in human lung fibroblasts. *Lung* 193(2):199-202.

Dixon, S. B., Bjornard, K. L., Alberts, N. M., Armstrong, G. T., Brinkman, T. M., Chemaitilly, W., Ehrhardt, M. J., Fernandez-Pineda, I., Force, L. M., Gibson, T. M., Green, D. M., Howell, C. R., Kaste, S. C., Kirchoff, A. C., Klosky, J. L., Krull, K. R., Lucas Jr, J. T., Mulrooney, D. A., Ness, K. K., Wilson, C. L., Yasui, Y., Robison, L. L., Hudson, M. M. (2018). Factors influencing risk-based care of the childhood cancer survivor in the 21st century. *CA Cancer J Clin* 68(2):133-152.

Dixon, S. B., Chen, Y., Yasui, Y., Pui, C. H., Hunger, S. P., Silverman, L. B., Ness, K. K., Green, D. M., Howell, R. M., Leisenring, W. M., Kadan-Lottick, N. S., Krull, K. R., Oeffinger, K. C., Neglia, J. P., Mertens, A. C., Hudson, M. M., Robison, L. L., Armstrong, G. T., Nathan, P. C. (2020). Reduced Morbidity and Mortality in Survivors of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. *J. Clin. Oncol.* 38(29):3418-3429.

Dong, Q., Debelenko, L. V., Chandrasekharappa, S. C., Emmert-Buck, M. R., Zhuang, Z., Guru, S. C., Manickam, P., Skarulis, M., Lubensky, I. A., Liotta, L. A., Collins, F. S., Marx, S. J., Spiegel, A. M. (1997). Loss of heterozygosity at 11q13: analysis of pituitary tumors, lung carcinoids, lipomas, and other uncommon tumors in subjects with familial multiple endocrine neoplasia type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 82(5):1416-1420.

Dores, G. M., Anderson, W. F., Beane Freeman, L. E., Fraumeni Jr, J. F., Curtis, R. E. (2010). Risk of breast cancer according to clinicopathologic features among long-term survivors of Hodgkin's lymphoma treated with radiotherapy. *Br J Cancer* 103(7):1081-1084.

Duggan, C., Risques, R., Alfano, C., Prunkard, D., Imayama, I., Holte, S., Baumgartner, K., Baumgartner, R., Bernstein, L., Ballard-Barbash, R., Rabinovitch, P., McTiernan, A. (2014). Change in Peripheral Blood leukocyte telomere length and mortality in breast cancer survivors. *J Natl Cancer Inst* 106(4):dju035.

Dunham, M. A., Neumann, A. A., Fasching, C. L., Reddel, R. R. (2000). Telomere maintenance by recombination in human cells. *Nat Genet.* 26(4):447-50.

Ehrhardt, M. J., Howell, C. R., Hale, K., Baassiri, M. J., Rodriguez, C., Wilson, C. L., Joshi, S. S., Lemond, T. C., Shope, S., Howell, R. M., Wang, Z., Srivastava, D., Mulrooney, D. A., Zhang, J., Robison, L. L., Ness, K. K., Hudson, M. M. (2019). Subsequent Breast Cancer in Female Childhood Cancer Survivors in the St Jude Lifetime Cohort Study (SJLIFE). *J Clin Oncol* 37(19):1647-1656.

Ezoe, S. (2012). Secondary leukemia associated with anti-cancer agent, etoposide, a topoisomerase II inhibitor. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 9(7):2444-2453.

Fernández-Pello, S., Hora, M., Kuusk, T., Tahbaz, R., Dabestani, S., Abu-Ghanem, Y., Albiges, L., Giles, R. H., Hofmann, F., Kuczyk, M. A., Lam, T. B., Marconi, L., Merseburger, A. S., Powles, T., Staehler, M., Volpe, A., Ljungberg, B., Bex, A., Bensalah, K. (2020). Management of Sporadic renal angiomyolipoma: a systematic review of available evidence to guide recommendations from the European association of urology renal cell carcinoma guidelines panel. *Eur Urol Oncol* 3(1):57-72.

Fidler, M. M., Reulen, R. C., Winter, D. L., Kelly, J., Jenkinson, H. C., Skinner, R., Frobisher, C., Hawkins, M. M., British Childhood Cancer Survivor Study Steering Group (2016). Long term cause specific mortality among 34 489 five year survivors of childhood cancer in Great Britain: population based cohort study. *BMJ* 354:i4351.

Fidler, M. M., Reulen, R. C., Winter, D. L., Allodji, R. S., Bagnasco, F., Bárdi, E., Bautz, A., Bright, Ch. J., Byrne, J., Feijen, E. A. M., Garwicz, S., Grabow, D., Gudmundsdottir, T., Guha, J., Haddy, N., Jankovic, M., Kaatsch, P., Kaiser, M., Kuonen, R., Linge, H., Maule, M., Merletti, F., Øfstaas, H., Ronckers, C. M., Skinner, R., Teepen, J., Terenziani, M., Vu-Bezin, G., Wesenberg, F., Wiebe, T., Jakab, Z., Haupt, R., Lähdenmäki, P., Zdravec Zaletel, L., Kuehni, C. E., Winther, J. F., de Vathaire, F., Kremer, L. C., Hjorth, L., Hawkins, M. M. (2018). Risk of Subsequent Bone Cancers Among 69 460 Five-Year Survivors of Childhood and Adolescent Cancer in Europe. *J Natl Cancer Inst* 110(2).

Fijneman, R. J. A. (2005). Genetic predisposition to sporadic cancer: How to handle major effects of minor genes? *Cell Oncol* 27(5-6):281-92.

- Fittschen, A., Wendlik, I. N., Oeztuerk, S., Kratzer, W., Akinli, A. S., Haenle, M. M., Graeter, T. (2014). Prevalence of sporadic renal angiomyolipoma: a retrospective analysis of 61389 in- and out- patients. *Abdom Imaging*. 39:1009-1013.
- Flum, A. S., Hamoui, N., Said, M. A., Yang, X. J., Casalino, D. D., McGuire, B. B., Perry, K. T., Nadler, R. B. (2016). Update on the Diagnosis and Management of Renal Angiomyolipoma. *J Urol*. 195(4 Pt 1):834-846.
- Friedman, D. L., Whitton, J., Leisenring, W., Mertens, A. C., Hammond, S., Stovall, M., Donaldson, S. S., Meadows, A. T., Robison, L. L., Neglia J. P. (2010). Subsequent Neoplasms in 5-Year Survivors of Childhood Cancer: The Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst* 102(14):1083-95.
- Friedman, G. D., Tekawa, I. S. (2000). Association of basal cell skin cancers with other cancers (United States). *Cancer Causes Control* 11(10):891-7.
- Garwicz, S., Anderson, H., Olsen, J. H., Winther, J. F., Sankila, R., Langmark, F., Tryggvadóttir, L., Möller, T. R., Association of the Nordic Cancer Registries, Nordic Society for Pediatric Hematology Oncology (2011). Late and very late mortality in 5-year survivors of childhood cancer: changing pattern over four decades—Experience from the Nordic countries. *Int J Cancer* 131(7):1659-66.
- Geenen, M. M., Cardous-Ubbink, M. C., Kremer, L. C., van den Bos, C., van der Pal, H. J. H., Heinen, R. C., Jaspers, M. W. M., Koning, C. C. E., Oldenburger, F., Langeveld, N. E., Hart, A. A. M., Bakker, P. J. M., Caron, H. N., van Leeuwen, F. E. (2007). Medical assessment of adverse health outcomes in long-term survivors of childhood cancer. *JAMA* 297(24):2705-15.
- Giannikou, K., Malinowska, I. A., Pugh, T. J., Yan, R., Tseng, Y. Y., Oh, C., Kim, J., Tyburczy, M. E., Chekaluk, Y., Liu, Y., Alesi, N., Finlay, G. A., Wu, Ch. L., Signoretti, S., Meyerson, M., Getz, G., Boehm, J. S., Henske, E. P., Kwiatkowski, D. J. (2016). Whole exome sequencing identifies TSC1/TSC2 biallelic loss as the primary and sufficient driver event for renal angiomyolipoma development. *PLoS Genet* 12(8):e1006242.
- Gramatges, M. M., Liu, Q., Yasui, Y., Okcu, M. F., Neglia, J. P., Strong, L. C., Armstrong, G. T., Robison, L. L., Bhatia, S. (2014). Telomere Content and Risk of Second Malignant Neoplasm in Survivors of Childhood Cancer: A Report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Clin Cancer Res*. 20(4): 904-911.
- Greider, C. W., Blackburn, E. H. (1985). Identification of a specific telomere terminal transferase activity in *Tetrahymena* extracts. *Cell* 43(2 Pt 1):405-13.
- Greider, C. W., Blackburn, E. H. (1987). The telomere terminal transferase of *Tetrahymena* is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity. *Cell* 51(6):887-98.
- Greider, C. W., Blackburn, E. H. (1989). A telomeric sequence in the RNA of *Tetrahymena* telomerase required for telomere repeat synthesis. *Nature* 337(6205):331-7.
- Hannum, G., Guinney, J., Zhao, L., Zhang, L., Hughes, G., Sada, S., Klotzle, B., Bibikova, M., Fan, J. B., Gao, Y., Deconde, R., Chen, M., Rajapakse, I., Friend, S., Ideker, T., Zhang, K. (2013). Genome-wide Methylation Profiles Reveal Quantitative Views of Human Aging Rates. *Mol Cell* 49(2):359-367.
- Hawkins, M. M., Kingston, J. E., Wilson, L. M. K. (1990). Late deaths after treatment for childhood cancer. *Arch Dis Child* 65(12):1356-63.
- Hayflick, L., Moorhead, P. S. (1961). The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 25(3):585-621.
- Hayflick, L. (1965). The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 37:614-636.
- Henderson, T. O., Rajaraman, P., Stovall, M., Constine, L. S., Olive, A., Smith, S. A., Mertens, A., Meadows, A., Neglia, J. P., Hammond, S., Whitton, J., Inskip, P. D., Robison, L. L., Diller, L. (2012). Risk factors associated with secondary sarcomas in childhood cancer survivors: a report from the childhood cancer survivor study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 84(1):224-30.
- Henderson, T. O., Moskowitz, C. S., Chou, J. F., Bradbury, A. R., Neglia, J. P., Dang, Ch. T., Onel, K., Novetsky Friedman, D., Bhatia, S., Strong, L. C., Stovall, M., Kenney, L. B., Barnea, D., Lorenzi, E., Hammond, S., Leisenring, W. M., Robison, L. L., Armstrong, G. T., Diller, L. R., Oeffinger, K. C. (2016). Breast Cancer Risk in Childhood Cancer Survivors Without a History of Chest Radiotherapy: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 34(9):910-8.
- Henske, E. P., Neumann, H. P., Scheithauer, B. W., Herbst, E. W., Short, M. P., Kwiatkowski, D. J. (1995). Loss of heterozygosity in the tuberous sclerosis (TSC2) region of chromosome band 16p13 occurs in sporadic as well as TSC-associated renal angiomyolipomas. *Genes Chrom Cancer*. 13(4):295-298.

- Heuser, M. (2016). Therapy-related myeloid neoplasms: Does knowing the origin help to guide treatment? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016(1):24-32.
- Hisada, M., Garber, J. E., Fung, C. Y., Fraumeni Jr., J. F., Li, F. P. (1998). Multiple Primary Cancers in Families With Li-Fraumeni Syndrome. *J Natl Cancer Inst*. 90(8):606-11.
- Holt, S. E., Wright, W. E., Shay, J. W. (1997). Multiple pathways for the regulation of telomerase activity. *Eur J Cancer* 33(5):761-6.
- Hooten, N. N., Evans, M. K. (2018). Techniques to Induce and Quantify Cellular Senescence. *Journal of Visualized Experiments* (123):55533.
- Horvath, S. C. (2013). DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology* 14:3156.
- Howlader, N., Noone, A. M., Krapcho, M., Miller, D., Brest, A., Yu, M., Ruhl, J., Tatalovich, Z., Mariotto, A., Lewis, D. R., Chen, H. S., Feuer, E. J., Cronin, K. A. (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975-2016, National Cancer Institute. Bethesda, MD, [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2016/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2016/), based on November 2018 SEER data submission, posted to the SEER web site, April 2019.
- Huang, R. S., Kistner, K. O., Bleibel, W. K., Shukla, S. J., Dolan, M. E. (2007). Effect of population and gender on chemotherapeutic agent-induced cytotoxicity. *Mol Cancer Ther* 6(1):31-36.
- Hudson, M. M., Ness, K. K., Gurney, J. G., Mulrooney, D. A., Chemaitilly, W., Krull, K. R., Green, D. M., Armstrong, G. T., Nottage, K. A., Jones, K. E., Sklar, Ch. A., Srivastava, D. K., Robison, L. L. (2013). Clinical ascertainment of health outcomes among adults treated for childhood cancer. *JAMA* 309(22):2371-81.
- Hussain, T., Lam, V., Farhad, M., Lee, S., Stephenson, J. A., Kockelbergh, R., Rajesh, A. (2020). Can subcentimetre ultrasound detected angiomyolipomas be safely disregarded? *Clin Radiol*. 75(4):287-292.
- Chan, K. E., Chedgy, Ecp., Bent, C. L., Turner, K. J. (2018). Surveillance imaging for sporadic renal angiomyolipoma less than 40 mm: lessons learnt and recommendations from the experience of a large district general hospital. *Ann R Coll Surg Engl*. 100(6):480-484.
- Chemaitilly, W., Sklar, Ch. A. (2019). Childhood Cancer Treatments and Associated Endocrine Late Effects: A Concise Guide for the Pediatric Endocrinologist. *Horm Res Paediatr* 91:74-82.
- Chen, J., Ruczinski, I., Jorgensen, T. J., Yenokyan, G., Yao, Y., Alani, R., Liégeois, N. J., Hoffman, S. C., Hoffman-Bolton, J., Strickland, P. T., Helzlsouer, K. J., Alberg, A. J. (2008). Nonmelanoma skin cancer and risk for subsequent malignancy. *J Natl Cancer Inst* 100(17):1215-22.
- Cho, H. G., Kuo, K. Y., Li, S., Bailey, I., Aasi, S., Chang, A. L. S., Oro, A. E., Tang, J. Y., Sarin, K. Y. (2018). Frequent basal cell cancer development is a clinical marker for inherited cancer susceptibility. *JCI Insight* 3(15):e122744.
- Inskip, P. D., Sigurdson, A. J., Veiga, L., Bhatti, P., Ronckers, C., Rajaraman, P., Boukheris, H., Stovall, M., Smith, S., Hammond, S., Henderson, T. O., Watt, T. C., Mertens, A. C., Leisenring, W., Stratton, K., Whitton, J., Donaldson, S. S., Armstrong, G. T., Robison, L. L., Neglia, J. P. (2016). Radiation-related New Primary Solid Cancers in the Childhood Cancer Survivor Study: Comparative Radiation Dose-response and Modification of Treatment Effects. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 94(4):800-7.
- Jacks, S. K., Witman, P. M. (2015). Tuberous Sclerosis Complex: An Update for Dermatologists. *Pediatr Dermatol*. 32(5):563-70.
- Johnson, A. A., Shokhirev, M. N., Wyss-Coray, T., Lehallier, B. (2020). Systematic review and analysis of human proteomics aging studies unveils a novel proteomic aging clock and identifies key processes that change with age. *Aging Res. Rev*. 60:101070.
- Jones, G. E., Wise, C. J. (1997). Establishment, maintenance, and cloning of human dermal fibroblasts. *Methods Mol Biol*. 75:13-21.
- Kamb, A., Gruis, N. A., Weaver-Feldhaus, J., Liu, Q., Harshman, K., Tavtigian, S. V., Stockert, E., Day 3rd, R. S., Johnson, B. E., Skolnick, M. H. (1994). A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science* 264:436-40.
- Kamran, S. C., Berrington de Gonzalez, A., Ng, A., Haas-Kogan, D., Viswanathan, A. N. (2016). Therapeutic Radiation and the Potential Risk of Second Malignancies. *Cancer* 122(12):1809-21.
- Kandoth, C., McLellan, M. D., Vandin, F., Ye, K., Niu, B., Lu, Ch., Xie, M., Zhang, Q., McMichael, J. F., Wyczalkowski, M. A., Leiserson, M. D. M., Miller, Ch. A., Welch, J. S., Walter, M. J., Wendl, M. C., Ley, T. J., Wilson,

- R. K., Raphael, B. J., Ding, L. (2013). Mutational landscape and significance across 12 major cancer types. *Nature* 502:333-339.
- Kenney, L. B., Yasui, Y., Inskip, P. D., Hammond, S., Neglia, J. P., Mertens, A. C., Meadows, A. T., Friedman, D., Robison, L. L., Diller, L. (2004). Breast cancer after childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Ann Intern Med.* 141(8):590-7.
- Kepák, T., Štěřba, J., Kadlecová, V., Holcnerová, P. (2005). Kdy pomýšlet na nádorové onemocnění v ambulanci praktického lékaře pro děti a dorost? *Pediatric pro praxi* 2(2):76-80
- Kim, N. W., Piatyszek, M. A., Prowse, K. R., Harley, C. B., West, M. D., Ho, P. L., Coviello, G. M., Wright, W. E., Weinrich, S. L., Shay, J. W. (1994). Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. *Science* 266(5193):2011-5.
- Kisiel, M. A., Klar, A. S. (2019). Isolation and Culture of Human Dermal Fibroblasts. *Methods Mol Biol.* 1993:71-78.
- Knudsen, E. S., Nambiar, R., Rosario, S. R., Smiraglia, D. J., Goodrich, D. W., Witkiewicz, A. K. (2020). Pan-cancer molecular analysis of the RB tumor suppressor pathway. *Commun Biol* 3(1):158.
- Konończuk, K., Latoch, E., Żelazowska-Rutkowska, B., Krawczuk-Rybak, M., Muszyńska-Roslan, K. (2021). Increased Levels of Adipocyte and Epidermal Fatty Acid-Binding Proteins in Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors. *J Clin Med.* 10(8): 1567.
- Koutecký, J., Kabičková, E., Starý, J. (2002). *Dětská onkologie pro praxi*. První vydání. Praha: Triton. ISBN 80-7254-288-5
- Krejčí, D., Pehalová, L., Talábová, A., Pokorová, K., Katinová, I., Mužík, J., Dušek, L. *Novotvary 2018* [online]. 2021 [cit. 2023-4-8]. Dostupné z: [www.uzis.cz](http://www.uzis.cz)
- Krejčí, D., Ščavnický, J., Zapletalová, M., Svobodová, I., Karolyi, M., Mužík, J., Jarkovský, J., Klimeš, D., Loula, Z., Komenda, M., Štěřba, J., Starý, J., Dušek, L. *Czech Childhood Cancer Information System* [online]. 2018 [cit. 2022-6-21]. Dostupné z: <https://ccc-is.uzis.cz>.
- Krishnamurthy, J., Torrice, Ch., Ramsey, M. R., Kovalev, G. I., Al-Regaiey, K., Su, L., Sharpless, N. E. (2004). Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J. Clin. Invest.* 114:1299-1307.
- Kruseová, J., Gottfriedová, B., Zichová, A., Švojgr, K., Hošek, P., Lukš, A., Kynčl, M., Eckschlager, T. (2021). Is There a Higher Incidence of Sporadic Renal Angiomyolipoma in Childhood Cancer Survivors? *Clinical Epidemiology* 13:707-716.
- Kruseová, J., Vícha, A., Feriančíková, B., Eckschlager, T. (2021). Possible Mechanisms of Subsequent Neoplasia Development in Childhood Cancer Survivors: A Review. *Cancers* 13(20):5064.
- Kruseová, J., Zichová, A., Eckschlager, T. (2023). Premature ageing in childhood cancer survivors. *Oncology Letters* 25(2):43.
- Krutílková, V., Eckschlager, T. (2009). The survey of syndromes with the risk of cancer in children age. *Klin Onkol* 22 Suppl:S45-9.
- Kuhlen, M., Taubner, J., Brozou, T., Wiczorek, D., Siebert, R., Borkhardt, A. (2019). Family-based germline sequencing in children with cancer. *Oncogene* 38(9):1367-1380.
- Kuilman, T., Michaloglou, Ch., Mooi, W. J., Peeper, D. S. (2010). The essence of senescence. *Genes Dev.* 24(22): 2463-2479.
- Kurt, B. A., Nolan, V. G., Ness, K. K., Neglia, J. P., Tersak, J. M., Hudson, M. M., Armstrong, G. T., Hutchinson, R. J., Leisenring, W. M., Oeffinger, K. C., Robison, L. L., Arora, M. (2012). Hospitalization rates among survivors of childhood cancer in the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Pediatr Blood Cancer* 59(1):126-32.
- Kutsenko, A., Berrington de Gonzalez, A., Curtis, R. E., Rajaraman, P. (2014). Risk of second benign brain tumors among cancer survivors in the surveillance, epidemiology, and end results program. *Cancer Causes Control* 25(6):659-68.
- Lebl, J., Janda, J., Pohunek, P., Starý, J. et al. (2014). *Klinická pediatrie*. Kapitola 14: Onkologie str. 569-594, Starý, J., Druhé vydání. Praha: Galén a Karolinum. ISBN 978-80-7492-131-5 (Galén) a ISBN 978-80-246-2697-0 (Karolinum)
- Lee, K. H., Tsai, H. Y., Kao, Y. T., Lin, H. C., Chou, Y. C., Su, S. H., Chuang, C. K. (2019). Clinical behavior and management of three types of renal angiomyolipomas. *J Formos Med Assoc.* 118:162-169.

- Levine, M. E., Hosgood, H. D., Chen, B., Absher, D., Assimes, T., Horvath, S. (2015). DNA methylation age of blood predicts future onset of lung cancer in the women's health initiative. *Aging* 7(9):690–700.
- Li, P., Hou, M., Lou, F., Björkholm, M., Xu, D (2012). Telomere dysfunction induced by chemotherapeutic agents and radiation in normal human cells. *Int J Biochem Cell Biol* 44(9):1531–40.
- Liu, Y., Sanoff, H. K., Cho, H., Burd, Ch. E., Torrice, Ch., Ibrahim, J. G., Thomas, N. E., Sharpless, N. E. (2009). Expression of p16INK4a in peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging. *Aging Cell*. 8(4):439–448.
- Little, M. P., de Vathaire, F., Shamsaldin, A., Oberlin, O., Campbell, S., Grimaud, E., Chavaudra, J., Haylock, R. G., Muirhead C. R. (1998). Risk of brain tumor following treatment for cancer in childhood: modification by genetic factors, radiotherapy and chemotherapy. *Int J Cancer* 78(3):269–75.
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., Kroeme, G. (2013). The Hallmarks of Aging. *Cell* 153(6):1194–1217.
- Lorenzi, M. F., Xie, L., Rogers P. C., Pritchard, S., Goddard, K., McBride, M. L. (2011). Hospital-related morbidity among childhood cancer survivors in British Columbia, Canada: Report of the childhood, adolescent, young adult cancer survivors (CAYACS) program. *Int J Cancer* 128(7):1624–31.
- Lu, Y., Leong, W., Guérin, O., Gilson, E., Ye, J. (2013). Telomeric impact of conventional chemotherapy. *Front Med* 7(4):411–7.
- Lundblad, V., Szostak, J. W. (1989). A mutant with a defect in telomere elongation leads to senescence in yeast. *Cell* 57(4):633–43.
- MacArthur. A. C., Spinelli, J. J., Rogers, P. C., Goddard, K. J., Phillips, N., McBride, M. L. (2007). Risk of a second malignant neoplasm among 5-year survivors of cancer in childhood and adolescence in British Columbia, Canada. *Pediatr Blood Cancer* 48(4):453–9.
- MacCarthy, A., Bayne, A. M., Brownbill, P. A., Bunch, K. J., Diggens, N. L., Draper, G. J., Hawkins, M. M., Jenkinson, H. C., Kingston, J. E., Stiller, C. A., Vincent, T. J., Murphy, M. F. G. (2013). Second and subsequent tumours among 1927 retinoblastoma patients diagnosed in Britain 1951–2004. *Br. J. Cancer* 108(12):2455–2463.
- MacKeigan, J. P., Krueger, D. A. (2015). Differentiating the mTOR inhibitors everolimus and sirolimus in the treatment of tuberous sclerosis complex. *Neuro Oncol*. 17(12):1550–1559.
- Maggio, I., Franceschi, E., Tosoni, A., Nunno, V. D., Gatto, L., Lodi, R., Brandes, A. A. (2021). Meningioma: not always a benign tumor. A review of advances in the treatment of meningiomas. *CNS Oncol*. 10(2):CNS72.
- Maniakas, A., Dadu, R., Busaidy, N. L., Wang, J. R., Ferrarotto, R., Lu, Ch., Williams, M. D., Gunn, G. B., Hofmann, M. C., Cote, G., Sperling, J., Gross, N. D., Sturgis, E. M., Goepfert, R. P., Lai, S. Y., Cabanillas, M. E., Zafereo, M. (2020). Evaluation of Overall Survival in Patients With Anaplastic Thyroid Carcinoma, 2000 – 2019. *JAMA Oncol*. 6(9):1397–1404.
- Marcoux, S., Le, O. N. L., Langlois-Pelletier, Ch., Laverdiere, C., Hatami, A., Robaey, P., Beauséjour, Ch. M. (2013). Expression of the senescence marker p16INK4a in skin biopsies of acute lymphoblastic leukemia survivors: a pilot study. *Radiation Oncology* 8:252.
- Meadows, A. T., Baum, E., Fossati-Bellani, F., Green, D., Jenkin, R. D., Marsden, B., Nesbit, M., Newton, W., Oberlin, O., Sallan, S. G. (1985). Second malignant neoplasms in children: an update from the Late Effects Study Group. *J Clin Oncol*. 3:532–538.
- Meadows, A. T., Friedman, D. L., Neglia, J. P., Mertens, A. C., Donaldson, S. S., Stovall, M., Hammond, S., Yasui, Y., Inskip, P. D. (2009). Second Neoplasms in Survivors of Childhood Cancer: Findings From the Childhood Cancer Survivor Study Cohort. *J Clin Oncol*. 27(14):2356–2362.
- Meignin, V., Gluckman, E., Gambaraelli, D., Devergie, A., Ramee, M. P., Janin, A., Socié, G. (1998). Meningioma in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation* 22:723–724.
- Meijer, A. J. M., Diepstraten, F. A., Langer, T., Broer, L., Domingo, I. K., Clemens, E., Uitterlinden, A. G., de Vries, A. C. H., van Grotel, M., Vermeij, W. P., Ozinga, R. A., Binder, H., Byrne, J., van Dulmen-den Broeder, E., Garrè, M. L., Grabow, D., Kaatsch, P., Kaiser, M., Kenborg, L., Winther, J. F., Rechnitzer, C., Hasle, H., Kepak, T., Kepakova, K., Tissing, W. J. E., van der Kooi, A. L. F., Kremer, L. C. M., Kruseova, J., Pluijm, S. M. F., Kuehni, C. E., van der Pal, H. J. H., Parfitt, R., Spix, C., Tillmanns, A., Deuster, D., Matulat, P., Calaminus, G., Hoetink, A. E., Elsner, S., Gebauer, J., Haupt, R., Lackner, H., Blattmann, C., Neggers, S. J. C. M. M., Rassekh, S. R., Wright, G. E. B., Brooks, B., Nagtegaal, A. P., Drögemöller, B. I., Ross, C. J. D., Bhavsar, P., am Zehnhoff-Dinnesen, A. G., Carleton, B. C.,

- Zolk, O., van den Heuvel-Eibrink, M. M., the PanCareLIFE Consortium and the CPNDS Consortium (2021). TCERG1L allelic variation is associated with cisplatin-induced hearing loss in childhood cancer, a PanCareLIFE study. *NPJ Precis Oncol.* 5:64.
- Morgenstern, P. F., Shah, K., Dunkel, I. J., Reiner, A. S., Khakoo, Y., Rosenblum, M. K., Gutin, P. (2016). Meningioma after radiotherapy for malignancy. *J Clin Neurosci* 30:93-97.
- Moskowitz, Ch. S., Malhotra, J., Chou, J. F., Wolden, S. L., Weathers, R. E., Stovall, M., Armstrong, G. T., Leisenring, W. M., Neglia, J. P., Robison, L. L., Oeffinger, K. C. (2015). Breast Cancer Following Spinal Irradiation for a Childhood Cancer: A Report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Radiother Oncol* 117(2):213-6.
- Mudigonda, T., Pearce, D. J., Yentzer, B. A., Williford, P., Feldman, S. R. (2010). The economic impact of non-melanoma skin cancer: a review. *J Natl Compr Canc Netw.* 8(8):888-896.
- Neglia, J. P., Friedman, D. L., Yasui, Y., Mertens, A. C., Hammond, S., Stovall, M., Donaldson, S. S., Meadows, A. T., Robison L. L. (2001). Second malignant neoplasms in five-year survivors of childhood cancer: childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst* 93(8):618-29.
- Neglia, J. P., Robison, L. L., Stovall, M., Liu, Y., Packer, R. J., Hammond, S., Yasui, Y., Kasper, C. E., Mertens, A. C., Donaldson, S. S., Meadows, A. T., Inskip P. D. (2006). New primary neoplasms of the central nervous system of survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivors Study. *J Natl Cancer Inst* 98(21):1528-37.
- Neofytou, K., Famularo, S., Khan, A. Z. (2015). PEComa in a young patient with known Li-Fraumeni syndrome. *Case Rep Med.* 2015:906981.
- Ness, K. K., Krull, K. R., Jones, K. E., Mulrooney, D. A., Armstrong, G. T., Green, D. M., Chemaitilly, W., Smith, W. A., Wilson, C. L., Sklar, Ch. A., Shelton, K., Srivastava, D. K., Ali, S., Robison, L. L., Hudson, M. M. (2013). Physiologic Frailty As a Sign of Accelerated Aging Among Adult Survivors of Childhood Cancer: A Report From the St Jude Lifetime Cohort Study. *Journal of Clinical Oncology* 31:36, 4496-4503.
- Ngeow, J., Eng, C. (2016). Precision medicine in heritable cancer: when somatic tumour testing and germline mutations meet. *npj Genomic Med* 1:15006
- Nicholson, H. S., Fears, T. R., Byrne, J. (1994). Death during Adulthood in Survivors of Childhood and Adolescent Cancer. *Cancer* 73(12):3094-102.
- Nobori, T., Miura, K., Wu, D. J., Lois, A., Takabayashi, K., Carson, D. A. (1994). Deletions of the cyclin-dependent kinase-4 inhibitor gene in multiple human cancers. *Nature* 368:753-6.
- Norsker, F. N., Rechnitzer, C., Cederkvist, L., Holmqvist, A. S., Tryggvadottir, L., Madanat-Harjuoja, L. M., Øra, I., Thorarinsdottir, H. K., Vettenranta, K., Bautz, A., Schröder, H., Hasle, H., Winther, J. F. (2018). Somatic late effects in 5-year survivors of neuroblastoma: a population-based cohort study within the Adult Life after Childhood Cancer in Scandinavia study. *Int J Cancer* 143 (12):3083-3096.
- Nottage, K., Lanctot, J., Li, Z., Neglia, J. P., Bhatia, S., Hammond, S., Leisenring, W., Meadows, A., Srivastava, D., Robison, L. L., Armstrong, G. T. (2011). Long-term risk for subsequent leukemia after treatment for childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *Blood* 117(23):6315-8.
- O'Brien, M. M., Donaldson, S. S., Balise, R. R., Whittemore, A. S., Link, M. P. (2010). Second Malignant Neoplasms in Survivors of Pediatric Hodgkins Lymphoma Treated With Low-Dose Radiation and Chemotherapy. *J Clin Oncol* 28(7):1232-9.
- Oeffinger, K. C., Baxi, S. S., Friedman, D. N., Moskowitz, Ch. S. (2013). Solid Tumor Second Primary Neoplasms: Who is at Risk, What Can We Do? *Semin Oncol* 40(6):676-89.
- Oeffinger, K. C., Hudson, M. M. (2014). Long-term Complications Following Childhood and Adolescent Cancer: Foundations for Providing Risk-based Health Care for Survivors. *CA Cancer J Clin* 54(4):208-36.
- Oeffinger, K. C., Mertens, A. C., Sklar, Ch. A., Kawashima, T., Hudson, M. M., Meadows, A. T., Friedman, D. L., Marina, N., Hobbie, W., Kadan-Lottick, N. S., Schwartz, C. L., Leisenring, W., Robison, L. L. (2006). Chronic Health Conditions in Adult Survivors of Childhood Cancer. *N Engl J Med* 355;15.
- Ozuah, N. W., Marcus, K. J., LaCasce, A. S., Billett, A. L. (2018). Excellent outcomes following response-based omission of radiotherapy in children and adolescents with intermediate or high-risk hodgkin lymphoma. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 40:e338-e342.



- Pacientům a rodinám* (2021) [online]. Klinika dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN Motol [cit. 2021-11-21]. Dostupné z: <http://www.fnmotol.cz/microsite-kdho/>
- Perkins, S. M., Dewees, T., Shinohara, E. T., Reddy, M. M., Frangoul, H. (2013). Risk of subsequent malignancies in survivors of childhood leukemia. *J Cancer Surviv.* 7(4):544-50.
- Perrino, M., Cooke-Barber, J., Dasgupta, R., Geller, J. I. (2019). Genetic predisposition to cancer: Surveillance and intervention. *Semin Pediatr Surg* 28(6):150858.
- Pffafel, M. W., Horgan, G. W., Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res* 30:e36.
- Portocarrero, L. K. L., Quental, K. N., Samorano, L. P., Prado de Oliveira, Z. N., Rivitti-Machado, M. C. M. (2018). Tuberous sclerosis complex: review based on new diagnostic criteria. 93(3):323-331.
- Prowse, K. R., Greider, C. W. (1995). Developmental and tissue-specific regulation of mouse telomerase and telomere length. *Proc Natl Acad Sci USA* 92(11): 4818-4822.
- Randle, S. C. (2017). Tuberous Sclerosis Complex: A Review. *Pediatr Ann.* 46(4):e166-e171.
- Rebholz, C. E., Reulen, R. C., Toogood, A. A., Frobisher, C., Lancashire, E. R., Winter, D. L., Kuehni, C. E., Hawkins, M. M. (2011). Health care use of long-term survivors of childhood cancer: the British Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol* 29(31):4181-8.
- Robison, L. L., Hudson, M. M. (2014). Survivors of Childhood/Adolescent Cancer: Life-long Risk and Responsibilities. *Nat Rev Cancer* 14(1): 61–70.
- Sadowski, K., Kotulska, K., Schwartz, R. A., Józwiak, S. (2016). Systemic effects of treatment with mTOR inhibitors in tuberous sclerosis complex: a comprehensive review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 30(4):586-94.
- Saha, A., Salley, Ch. G., Saiga, P., Rolnitzky, L., Goldberg, J., Scott, S., Olshefski, R., Hukin, J., Sands, S. A., Finlay, J., Gardner, S. L. (2014). Late effects in survivors of childhood CNS tumors treated on Head Start I and II protocols. *Pediatr Blood Cancer.* 61(9):1644-1672.
- Sanoff, H. K., Deal, A. M., Krishnamurthy, J., Torrice, Ch., Dillon, P., Sorrentino, J., Ibrahim, J. G., Jolly, T. A., Williams, G., Carey, L. A., Drobish, A., Gordon, B. B., Alston, S., Hurria, A., Kleinhans, K., Rudolph, K. L., Sharpless, N. E., Muss, H. B. (2014). Effect of Cytotoxic Chemotherapy on Markers of Molecular Age in Patients With Breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 106(4):dju057.
- Satyanarayana, A., Rudolph, K. L. (2004). p16 and ARF: activation of teenage proteins in old age. *J Clin Invest.* 114(9):1237-1240.
- Smallridge, R. C., Copland, J. A. (2010). Anaplastic thyroid carcinoma: pathogenesis and emerging therapies. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 22(6):486-497.
- Smith, M. A., Rubinstein, L., Ungerleider, R. S. (1994). Therapy-related acute myeloid leukemia following treatment with epipodophyllotoxins: Estimating the risks. *Medical and Pediatric Oncology* 23(2):86-98.
- Sørensen, G. V., Winther, J. F., de Fine Licht, S., Andersen, K. K., Holmqvist, A. S., Madanat-Harjuoja, L., Tryggvadottir, L., Bautz, A., Lash, T. L., Hasle, H. (2019). Long-Term Risk of Hospitalization Among Five-Year Survivors of Childhood Leukemia in the Nordic Countries. *J Natl Cancer Inst* 111 (9): 943-951.
- Spathis, A., Hatcher, H., Booth, S., Gibson, F. Stone, P., Abbas, L., Barclay, M., Brimicombe, J., Thiemann, P., McCabe, M. G., Campsey, R., Hooker, L., Moss, W., Robson, J., Barclay, S. (2017). Cancer-Related Fatigue in Adolescents and Young Adults After Cancer Treatment: Persistent and Poorly Managed. *J Adolesc Young Adult Oncol.* 6:489-493.
- Stelwagen, J., Lubberts, S., Steggink, L. C., Steursma, G., Kruij, L. M., Donkerbroek, J. W., van Roon, A. M., van Gessel, A. I., van de Zande, S. C., Meijer, C., zu Eulenburg, Ch. H. G., Oosting, S. F., Nuver, J., Walenkamp, A. M. E., de Jong, I. J., Lefrandt, J. D., Gietema, J. A. (2020). Vascular aging in long-term survivors of testicular cancer more than 20 years after treatment with cisplatin-based chemotherapy. *Br J Cancer.* 123:1599-607.
- Stewart, S. A., Weinberg, R. A. (2006). Telomeres: cancer to human aging. *Annu Rev Cell Dev Biol* 22:531-57.
- Stokkevaag, C. H., Engeseth, G. M., Ytre-Hauge, K. S., Röhrich, D., Odland, O. H., Muren, L. P., Brydøy, M., Hysing, L. B., Szostak, A., Palmer, M. B., Petersen, J. B. B. (2014). Estimated risk of radiation-induced cancer following paediatric cranio-spinal irradiation with electron, photon and proton therapy. *Acta Oncol* 53(8):1048-57.

- Stone, N. N., Atlas, I., Kim, U. S., Kwan, D., Leventhal, I., Waxman, J. S. (1993). Renal angiomyolipoma associated with neurofibromatosis and primary carcinoid of mesentery. *Urology*. 41(1):66–71.
- Strahm, B., Malkin, D. (2006). Hereditary cancer predisposition in children: Genetic basis and clinical implications. *Int J Cancer* 119(9):2001-6.
- Swärd, J., Henrikson, O., Lyrdal, D., Peeker, R., Lundstam, S. (2020). Renal angiomyolipoma-patient characteristics and treatment with focus on active surveillance. *Scand J Urol*. 54(2):141-146.
- Tanaka, T., Biancotto, A., Moaddel, R., Moore, A. Z., Gonzalez-Freire, M., Aon, M. A., Candia, J., Zhang, P., Cheung, F., Fantoni, G., CHI consortium, Semba, R. D., Ferrucci, L. (2018). Plasma proteomic signature of age in healthy humans. *Aging Cell* 17(5): e12799.
- Tanguay, C., Harvey, I., Houde, M., Strigley, J. R., Têtu, B. (2003). Leiomyosarcoma of urinary bladder following cyclophosphamide therapy: report of two cases. *Mod. Pathol*. 16:512-514.
- Taylor, A. J., Little, M. P., Winter, D. L., Sugden, E., Ellison, D. W., Stiller, Ch. A., Stovall, M., Frobisher, C., Lancashire, E. R., Reulen, R. C., Hawkins, M. M. (2010). Population-Based Risks of CNS Tumors in Survivors of Childhood Cancer: The British Childhood Cancer Survivor Study. *J Clin Oncol*. 28(36): 5287-5293.
- Teepen, J. C., van Leeuwen, F. E., Tissing, W. J., van Dulmen-den Broeder, E., van den Heuvel-Eibrink, M. M., van der Pal, H. J., Loonen, J. J., Bresters, D., Versluys, B., Neggers, S. J. C. M. M., Jaspers, M. W. M., Hauptmann, M., van der Heiden-van der Loo, M., Visser, O., Kremer, L. C. M., Ronckers, C. M., DCOG LATER Study Group (2017). Long-term risk of subsequent malignant neoplasms after treatment of childhood cancer in DCOG Later study cohort: Role of Chemotherapy. *J Clin Oncol* 35(20):2288-2298.
- Travis, L. B., Hill, D., Dores, G. M., Gospodarowicz, M., van Leeuwen, F. E., Holowaty, E., Glimelius, B., Andersson, M., Pukkala, E., Lynch, Ch. F., Pee, D., Smith, S. A., Van't Veer, M. B., Joensuu, T., Storm, H., Stovall, M., Boice Jr, J. D., Gilbert, E., Gail, M. H. (2005). Cumulative absolute breast cancer risk for young women treated for Hodgkin lymphoma. *J. Natl. Cancer Inst*. 97:1428-1437.
- Tukenova, M., Guibout, C., Hawkins, M., Quiniou, E., Mousannif, A., Pacquement, H., Winter, D., Bridier, A., Lefkopoulos, D., Oberlin, O., Diallo, I., de Vathaire, F. (2011). Radiation therapy and late mortality from second sarcoma, carcinoma, and hematological malignancies after a solid cancer in childhood. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 80(2):339-46.
- Turcotte, L. M., Whitton, J. A., Friedman, D. L., Hammond, S., Armstrong, G. T., Leisenring, W., Robison, L. L., Neglia, J. P. (2015). Risk of Subsequent Neoplasms During the Fifth and Sixth Decades of Life in the Childhood Cancer Survivor Study Cohort. *J Clin Oncol* 33(31):3568-75.
- Turcotte, L. M., Liu, Qi, Yasui, Y., Arnold, M. A., Hammond, S., Howell, R. M., Smith, S. A., Weathers, R. E., Henderson, T. O., Gibson, T. M., Leisenring, W., Armstrong, G. T., Robison, L. L., Neglia, J. P. (2017). Temporal trends in treatment and subsequent neoplasm risk among five-year survivors of childhood cancer, 1970-2015. *JAMA* 317(8):814-824.
- Turcotte, L. M., Liu, Q., Yasui, Y., Henderson, T. O., Gibson, T. M., Leisenring, W., Arnold, M. A., Howell, R. M., Green, D. M., Armstrong, G. T., Robison, L. L., Neglia, J. P. (2019). Chemotherapy and Risk of Subsequent Malignant Neoplasms in the Childhood Cancer Survivor Study Cohort. *J Clin Oncol* 37(34):3310-3319.
- Turnbull, C., Sud, A., Houlston, R. S. (2018). Cancer genetics, precision prevention and a call to action. *Nat Genet* 50(9):1212-1218.
- Tuttle, C. S. L., Waaijer, M. E. C., Slee-Valentijn, M. S., Stijnen, T., Westendorp, R., Maier, A. B. (2019). Cellular senescence and chronological age in various human tissues: A systematic review and meta-analysis. *Aging Cell* 19(2):e13083.
- Van Cott, Ch. (2020). Cancer Genetics. *Surg Clin North Am* 100(3):483-498.
- van den Berg, H., Paulussen, M., Le Teuff, G., Judson, I., Gelderblom, H., Dirksen, U., Brennan, B., Whelan, J., Ladenstein, R. L., Marec-Berard, P., Kruseova, J., Hjorth, L., Kühne, T., Brichard, B., Wheatley, K., Craft, A., Juergens, H., Gaspar, N., Le Deley, M. C., Euro-EWING99 Group (2015). Impact of gender on efficacy and acute toxicity of alkylating agent -based chemotherapy in Ewing sarcoma: Secondary analysis of the Euro-Ewing99-R1 trial. *Eur J Cancer* 51(16):2453-64.
- van Santen, H. M., Tytgat, G. A. M., van de Wetering, M. D., van Eck-Smit, B. L. F., Hopman, S. M. J., van der Steeg, A. F., van Dijkum, E. J. M. N., van Trotsenburg, A. S. P. (2012). Differentiated Thyroid Carcinoma After <sup>131</sup>I-MIBG

- Treatment for Neuroblastoma During Childhood: Description of the First Two Cases. *Thyroid* 22(6):643-6.
- Vodicka, P., Kumar, R., Stetina, R., Sanyal, S., Soucek, P., Hufroid, V., Dusinska, M., Kuricova, M., Zamecnikova, M., Musak, L., Buchancova, J., Norppa, H., Hirvonen, A., Vodickova, L., Naccarati, A., Matousu, Z., Hemminki, K. (2004). Genetic polymorphisms in DNA repair genes and possible links with DNA repair rates, chromosomal aberrations and single-strand breaks in DNA. *Carcinogenesis* 25(5):757-63.
- Vos, N., Oyen, R. (2018). Renal angiomyolipoma: the good, the bad, and the ugly. *J. Belg. Soc. Radiol.* 102(1):41.
- Wang, S., Prizment, A., Thyagarajan, B., Blaes, A. (2021). Cancer Treatment-Induced Accelerated Aging in Cancer Survivors: Biology and Assessment. *Cancers* 13:427.
- Wang, Z., Wilson, C. L., Easton, J., Thrasher, A., Mulder, H., Liu, Q., Hedges, D. J., Wang, S., Rusch, M. C., Edmonson, M. N., Levy, S., Lanctot, J. Q., Caron, E., Shelton, K., Currie, K., Lear, M., Patel, A., Rosencrance, C., Shao, Y., Vadodaria, B., Yergeau, D., Sapkota, Y., Brooke, R. J., Moon, W., Rampersaud, E., Ma, X., Chang, T. Ch., Rice, S. V., Pepper, C., Zhou, X., Chen, X., Chen, W., Jones, A., Boone, B., Ehrhardt, M. J., Krasin, M. J., Howell, R. M., Phillips, N. S., Lewis, C., Srivastava, D., Pui, CH. H., Kesserwan, Ch. A., Wu, G., Nichols, K. E., Downing, J. R., Hudson, M. M., Yasui, Y., Robison, L. L., Zhang, J. (2018). Genetic Risk for Subsequent Neoplasms Among Long-Term Survivors of Childhood Cancer. *J Clin Oncol* 36(20):2078-2087.
- Watt, T. C., Inskip, P. D., Stratton, K., Smith, S. A., Kry, S. F., Sigurdson, A. J., Stovall, M., Leisenring, W., Robison, L. L., Mertens, A. C. (2012). Radiation – related risk of basal cell carcinoma: a report from the Childhood Cancer Survivor Study. *J Natl Cancer Inst.* 104(16):1240-1250.
- Witkiewicz, A. K., Knudsen, K. E., Dicker, A. P., Knudsen, E. S. (2011). The meaning of p16<sup>ink4a</sup> expression in tumors. Functional significance, clinical associations and future developments. *Cell Cycle* 10(15):2497-2503.
- Wong, J. R., Morton, L. M., Tucker, M. A., Abramson, D. H., Seddon, J. M., Sampson, J. N., Kleinerman, R. A. (2014). Risk of subsequent malignant neoplasms in long-term hereditary retinoblastoma survivors after chemotherapy and radiotherapy. *J Clin Oncol* 32(29):3284-90.
- Wood, W. A., Krishnamurthy, J., Mitin, N., Torrice, Ch., Parker, J. S., Snavely, A. C., Shea, T. C., Serody, J. S., Sharpless, N. E. (2016). Chemotherapy and Stem Cell Transplantation Increase p16<sup>INK4a</sup> Expression, a Biomarker of T-cell Aging. *EBioMedicine* 11:227-238.
- Wu, P. E., Shen, Ch. Y. (2011). ‘Hide-then-hit’ to explain the importance of genotypic polymorphism of DNA repair genes in determining susceptibility to cancer. *Journal of Molecular Cell Biology* 3(1):59-65.
- Yu, G. L., Bradley, J. D., Attardi, L. D., Blackburn, E. H. (1990). In vivo alteration of telomere sequences and senescence caused by mutated Tetrahymena telomerase RNAs. *Nature* 344(6262):126-32.
- Zhu, J., Wang, F., Shi, L., Cai, H., Zheng, Y., Zheng, W., Bao, P., Shu, X. O. (2020). Accelerated aging in breast cancer survivors and its association with mortality and cancer recurrence. *Breast Cancer Res Treat.* 180(2):449-459.
- Zichova, A., Eckschlager, T., Ganevova, M., Malinova, B., Luks, A., Kruseova, J. (2020). Subsequent neoplasms in childhood cancer survivors. *Cancer Epidemiol* 68:101779.

