

NOVÉ SMĚRY A PERSPEKTIVY V LÉČBĚ HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT

MUDr. Tomáš Papajík, CSc., MUDr. Edgar Faber, CSc., prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.
Hemato-onkologická klinika FN a LF UP v Olomouci

Moderní kombinovaná chemoterapie a zvláště vysoce dávkované režimy přinesly zlepšení výsledků léčby nádorů z krvevorných buněk. U mnohých nemocných je však tato léčba provázena řadou časných i pozdních komplikací toxického charakteru díky působení na životně důležité tkáně a orgány. Snahou proto je vyvinout takové léčebné přístupy, které by měly pokud možno co nejčilejší efekt na populaci nádorových buněk a mohly by být použity u většiny nemocných. Hlavními představiteli nových léčebných metod v hemato-onkologii jsou monoklonální protilátky, imatinib mesylát a program alogenních transplantací po přípravných režimech se sníženou intenzitou. Tyto postupy řadě nemocných prodlužují kvalitní život bez známek recidivy onemocnění a u mnohých vedou k vyléčení.

Klíčová slova: imatinib, leukémie, lymfomy, monoklonální protilátky, rituximab, transplantace.

NEW TRENDS AND PERSPECTIVES IN THE TREATMENT OF HEMATOLOGIC MALIGNANCIES

Modern cytotoxic therapy and high-dose chemotherapy have improved results and clinical management of hematologic malignancies. However this therapy is often associated with substantial early or late toxic complications due to lack of specificity for tumor cells which results in damage of normal tissues. The goal is to construct new therapeutic approaches with the target effect on population of neoplastic cells and with the possibility of administration in most of patients with certain type of leukemia or lymphoma. Monoclonal antibodies, imatinib mesylate and nonmyeloablative stem cell transplantation represent the main new therapeutic concepts in hemato-oncology. These approaches prolong disease free or progression free survival, improve quality of life and can even lead to cure a significant portion of patients.

Key words: imatinib, leukemia, lymphoma, monoclonal antibodies, rituximab, transplantation.

Úvod

Moderní léčebné metody přinesly v posledních dvou desetiletích významný pokrok pro nemocné s nádory z krvevorných buněk. U velké části z nich jsme schopni dosáhnout kombinovanou chemoterapií kompletní remisi (CR) a nezanedbatelné procento pacientů můžeme takovýmto postupem dokonce vyléčit. Rozvoj vysoce dávkovaných režimů s následným podáním autologních kmenových buněk a program alogenních transplantací šanci hemato-onkologických nemocných na uzdravu ještě zvětšuje. I přesto však značná část pacientů umírá na svou základní nádorovou chorobu. Hlavní překážkou na cestě k vyléčení je léková rezistence nádorových buněk, kterou můžeme konvenčně překonat jen terapií se značnou toxicitou. Ta však nebývá tolerována staršími nemocnými a jedinci s horším klinickým stavem či další přidruženou chorobou. Léčebné úspěchy intenzivních postupů jsou ale provázeny řadou pozdních druhotných komplikací nádorové nebo nenádorové povahy, a to i u pacientů s úspěšně eradikovanou základní chorobou (3, 4).

Cílem dnešního farmakologického a klinického výzkumu je vyvinout léky a aplikovat léčebné metody s co nejmenší toxicitou pro zdravé tkáně a buňky, ale s cíleným a selektivním efektem na nádorové elementy. Historie posledních let a úspěchy léčby promyelocytární leukémie transretinovou kyselinou, maligních lymfomů monoklonálními protilátkami a chronické myeloidní leukémie imatinibem představují na této cestě jedny z hlavních mezníků. Poznání významu interakcí mezi efektorovými buňkami imunitního systému a buňkami nádoru a schopnost imunitních elementů nádorové buňky specificky ničit odhaluje další možnosti jak účinně a relativně specificky ná-

dor eliminovat. Příkladem této strategie mohou být alogenní transplantace krvevorných buněk po nemyeloablativních přípravných režimech, léčba pomocí aktivovaných dendritických buněk a další vývoj moderních protinádorových vakcín. Genetické manipulace v imunitním systému nebo přímo v nádorových buňkách a vývoj a léčba „antisense“ oligonukleotidy pak mohou přinést další impulzy a nové naděje na vyléčení mnoha hemato-onkologickým nemocným (1, 3, 4, 18).

V následujícím sdělení bychom se rádi zmínili o třech nejvýznamnějších nových směrech v léčbě hematologických neoplázií, které jsou rutinně používány v léčbě nemocných ve specializovaných hematologických centrech v České republice a se kterými se proto může internista nebo praktický lékař relativně často setkat. Je to použití monoklonálních protilátek v terapii leukemií a lymfomů, léčba chronické myeloidní leukémie přípravkem Glivec® (imatinib mesylát, STI 571) a alogenní transplantace krvevorných buněk po nemyeloablativním přípravném režimu (alogenní minitransplantace).

Monoklonální protilátky v léčbě leukemií a lymfomů

Myšlenka využít protilátky k léčbě nádorů se datuje do první poloviny 50. let. Pressman a Korngold tehdy pozorovali, že určité protilátky se mohou selektivně vázat na nádorové buňky. Klinman následně prokázal, že lze vytvořit monoklonální protilátku proti jakémukoliv antigenu. Skutečně revoluční krok znamenaly pro medicínu a biologii vůbec výzkumy Kohlera a Milsteina publikované v roce 1975, které vyústily v technologii hybridomů (věčně žijících fúzovaných buněk myši sleziny s myelomovými elementy) produkujících specifické protilátky (práce byla oceněna Nobelovou cenou za

medicínu) (8, 14). Pomocí monoklonálních protilátek byla na povrchu zdravých i nádorových buněk krvetvorné povahy detekována řada antigenů, které brzy sloužily jako identifikační znak jednotlivých buněčných linií a také pomáhaly v diagnostice hematologických malignit. A jelikož byly monoklonální protilátky schopné se vázat na antigenní místa těchto maligních elementů, optimistické prognózy naznačovaly, že budou moci být užity v séroterapii nádorů krvetvorby díky selektivnímu zasažení a zničení jejich buněk (4, 8).

V roce 1979 Nadler poprvé podal myší monoklonální protilátku pacientovi s ne Hodgkinským lymfomem (NHL) a i když efekt léčby nebyl díky výběru antigenu dobrý, přesto prokázal tolerovatelnost a schůdnost takovéto terapie. Levy o tři roky později poprvé úspěšně použil monoklonální protilátku u nemocného s NHL. Šlo o specifickou antiidiotypovou protilátku proti imunoglobulinu, který se vyskytoval na povrchu jeho lymfomových buněk. Pacient dosáhl kompletní remise choroby, která trvala sedm let. Použití antiidiotypových protilátek se však ukázalo v širším měřítku a rutinní praxi nepoužitelné a navíc se zjistilo, že díky idiotypovým somatickým mutacím dochází k selekci klonů rezistentních k léčbě protilátkou. Proto vědci hledali jakýsi univerzálnější cíl – antigen, který by se vyskytoval na všech buňkách všech nemocných s danou malignitou a proti kterému by byly namířeny průmyslově vyráběné protilátky (4, 14).

Anti-CD20 monoklonální protilátka (rituximab, MabThera®)

Jedním z nejvíce prozkoumaných antigenů co do interakce s možným léčebným účinkem protilátky je antigen CD20. CD20 molekula se nalézá jen na zralých buňkách B-lymfoidní povahy (nádorových i fyziologických), na kmenových krvetvorných buňkách nebyla zjištěna. Její výskyt byl popsán na více jak 95 % B-buněčných NHL, které tvoří až 85 % ze všech lymfoidních neoplázií na západní polokouli. Atraktivitu tohoto antigenu podporuje poměrně vysoká hustota výskytu jeho molekul na jedné buňce, absence uvolňování antigenu do cirkulace a nemožnost větší internalizace do nitra buňky po vazbě protilátky, což umožňuje další interakce s komplementem a efektorovými buňkami. Poslední výzkumy ukazují, že CD20 molekula tvoří a kontroluje Ca^{2+} kanál, který je důležitým prvkem regulace buněčného cyklu (14).

Biotechnologickými metodami se podařilo vytvořit chimerickou protilátku, kdy myší variabilní region odpovědný za rozpoznání antigenu je vložen do „páteře“ tvořené lidským imunoglobulinem. Nový chimerický (myší-lidský) protein má prodlouženou dobu cirkulace v plazmě a je výrazně méně imunogenní. To umožňuje opakované podávání. Lidská Fc část navíc zlepšuje spolupráci s efektorovými protinádorovými mechanismy (komplement a lymfoidní buňky). Akutní toxicita se přitom nezvyšuje a dokonce s opakovaným podáváním slabne. Dnes je chimerická anti-CD20 protilátka – IDEC-C2B8 – rituximab – nejintenzivněji studovanou nekonjugovanou monoklonální protilátkou v onkologii, která je registrovaná a komerčně dostupná i v ČR.

První klinickou studii s tímto lékem provedl v roce 1993 Maloney ve Stanfordu (USA). Autor dokumentoval minimální toxicitu, příznivou farmakokinetiku a klinickou účinnost u relabujících CD20 pozitivních, především nízce maligních NHL. Celkem 46 % nemocných dosáhlo významné odpovědi ve fázi II klinické studie, kde se dávka léku ustálila na 375 mg/m^2 $1 \times$ týdně do celkového počtu čtyř dávek (8, 14).

Tato pozorování byla potvrzena skupinou M.D.A.C.C. z Houstonu (USA) vedenou McLaughlinem (1997), který inicioval multicentrickou studii. Rituximab podaný ve stejné dávce jako ve studii Maloneyho navodil remisi u 48 % ze 166 pacientů s relabujícím, většinou intenzivně předléčeným nízce maligním nebo folikulárním lymfomem (FL). Odpověď trvala v průměru 13 měsíců. Údaje těchto klinických studií vedly ke schválení jeho prodeje Úřadem pro potraviny a léky (FDA) v USA. V prvním roce po schválení bylo ve Spojených státech léčeno tímto přípravkem přes 14 000 pacientů, převážně s relabujícími folikulárními a jinými nízce maligními NHL (14).

Dobrý efekt léčby u nízce maligních lymfomů podnítil studie s rituximabem u dalších CD20 pozitivních lymfoidních nádorů – difuzních velkobuněčných lymfomů, mantle cell lymfomů, B-chronické lymfocytární leukemie (B-CLL) a B-prolymfocytární leukemie. Protilátka byla rovněž úspěšně vyzkoušena u nemocných s FL při diagnóze choroby a vzápětí byla u nemocných s FL testována kombinace rituximabu a chemoterapie CHOP (cyklofosamid, doxorubicin, vincristin, prednison – šest cyklů léčby). Všechny 100 % jedinců dosáhlo léčebné odpovědi, 66 % pacientů dosáhlo CR choroby, 39 % z hodnocených dokonce dosáhlo molekulárně-genetické remise choroby v kostní dřeni. Podobné výsledky byly získány i při takto kombinované primární terapii nemocných s agresivními NHL. Výrazný vliv na zlepšení počtu dosažených odpovědí a prodloužení přežití měla uvedená terapie (CHOP + rituximab) i u nemocných starších 60 let (14).

Během posledních dvou let se navíc objevily studie demonstrující efekt aplikace rituximabu v období před sběrem periferních kmenových buněk, po autologní transplantaci a u potransplantačních lymfoproliferativních chorob.

Anti-CD52 monoklonální protilátka (alemtuzumab, CAMPATH-1H)

Antigen CD52 je exprimován na povrchu B- i T-lymfocytů stejně jako monocytů a granulocytů, ale nenachází se na povrchu kmenových krvetvorných buněk. Humanizovaná verze anti-CD52 protilátky – CAMPATH-1H – se ukázala být účinnou v léčbě B-CLL i když s vyšší toxicitou, než která byla předpokládána. Počet odpovědí v prvních studiích kolísá od 33 % do více jak 80 % a závisel na předléčenosti pacientů. Bylo zjištěno, že protilátka poměrně špatně penetruje do lymfatické tkáně, proto léčebný efekt u jedinců s velkými uzlinovými formacemi strmě klesá. Lymfopenie a pokles CD4 lymfocytů po podání alemtuzumabu u některých jedinců vede k protrahované imunosupresi s výskytem těžších oportunních infekcí. Definitivní zhodnocení účinnosti této protilátky a její

místo v léčbě B-CLL, nízké maligních lymfomů a T-lymfoproliferací bude záviset na výsledcích velkých klinických studií, které právě probíhají v USA a v Evropě (4).

Anti-CD33 monoklonální protilátka konjugovaná s kalicheamicinem (gemtuzumab ozogamicin, Mylotarg®)

Relativně málo zkušeností existovalo do poslední doby s použitím monoklonálních protilátek v léčbě akutních leukemií. Myši a humanizovaná protilátka anti-CD33 byla použita u nemocných s relabující a refrakterní akutní myeloidní leukémií (AML) s nevelkým efektem. Úspěšnější bylo podání této protilátky (HuM195) u nemocných s akutní promyelocytární leukémií ve stadiu minimální zbytkové choroby, kde zhruba polovina jedinců dosáhla po léčbě PCR negativity přestavy t(15;17) ve vzorcích kostní dřeně. Naopak nadějně se jeví použití anti-CD33 protilátky vázané s protinádorovým antibiotikem kalicheamicinem (gemtuzumab ozogamicin, Mylotarg®). Severoamerická multicentrická studie fáze II s použitím gemtuzumabu u relabujících nemocných s CD33 pozitivní AML prokázala jeho dobrou účinnost (dosážno 16 % CR a 13 % remisi s nekompletní obnovou produkce trombocytů) a poměrně příznivý toxický profil. To vedlo FDA ke schválení léku v polovině roku 2000 v indikaci léčby prvního relapsu AML u nemocných, kteří nejsou kandidáti jiné cytotoxické terapie nebo jsou starší jak 60 let (10).

Monoklonální protilátky konjugované s radioizotopem

Smyslem konstrukce takové molekuly je vazba radionuklidu k monoklonální protilátce s cílem dopravit selektivně ionizující záření k nádorové buňce. V hemato-onkologii se nejčastěji k těmto účelům používají izotopy jódu (^{131}I) a yttria (^{90}Y). Ty vyzařují β^- částice – elektrony, které způsobují nevratné poškození DNA. Navíc dochází k „ozáření“ nejen buněk nesoucích antigen, ale také jejich nejbližšího okolí, což může být výhodné pro zasažení nádorových buněk, které vybraný antigen nenesou. Nevýhodou ^{131}I je vyzařování gamma-paprsků, což vyžaduje opatrné podávání léku za hospitalizace a přísné radiační kontroly. V dnešní době jsou komerčně dostupné dvě protilátky – ^{131}I -anti-CD20 (tositumomab, Bexxar®) a ^{90}Y -anti-CD20 (ibritumomab tiuxetan, Zevalin®) (9).

První zkušenosti s ^{131}I -anti-CD20 protilátkou u nemocných s relabovanými NHL byly nadějně – 57 % léčebných odpovědí, 32 % CR a délka léčebné odpovědi v mediánu 20 měsíců. Další práce tento dobrý výsledek potvrdily a prokázaly vyšší účinnost podání protilátky oproti konvenční terapii, delší trvání remise a poměrně značný počet molekulárně-genetických remisí v kostní dřeni. Velmi vysoká byla účinnost i v primoléčbě FL (97 % odpovědí, 63 % CR). V poslední době se zkouší podání tositumomabu v rámci přípravných transplantačních režimů.

Monoklonální protilátka ^{90}Y -anti-CD20 má radioizotop yttria vázaný na molekulu imunoglobulinu pomocí chelátoru tiuxetanu. Také tato protilátka prokázala velmi slušnou účinnost u relabovaných indolentních lymfomů – 67 % léčebných odpovědí. Dokonce u pacientů, kteří zrelabovali po podání rituximabu, se podařilo dosáhnout 74 %

léčebných úspěchů a randomizovaná studie fáze III potvrdila vyšší efekt ibritumomabu ve srovnání s rituximabem (80 % versus 56 % terapeutických efektů).

Malé zkušenosti jsou zatím s podáváním protilátek konjugovaných s radioizotopem u akutních leukemií. Největší studie čítající 44 nemocných s myelodysplastickým syndromem, myeloidní i lymfoblastickou leukémií dosáhla výrazných 45 % CR choroby za použití ^{131}I -anti-CD45 protilátky a vysoce dávkované chemoterapie s podáním autologních nebo alogenních kmenových buněk. Použití ^{131}I -anti-CD45 v přípravném režimu (spolu s busulfanem a cyklofosfamidem) před alogenní transplantací kmenových buněk od HLA-identického příbuzenského dárce u nemocných s AML v 1. CR vedlo k velmi nízkému procentu potransplantačních relapsů (10 %). Navíc dlouhodobě přežívalo 72 % pacientů z této skupiny bez známek recidivy choroby. Rozhodnout, zda bude tento postup přínosnější než samotné podání chemoterapie, by měla fáze III randomizovaná studie, která se plánuje (9, 10).

Obecné rozdělení a klinicky dostupné monoklonální protilátky používané v hemato-onkologii jsou přehledně uvedeny v tabulkách (tabulky 1, 2).

Imatinib mesylát (STI571, Glivec®) v léčbě chronické myeloidní leukemie

Chronická myeloidní leukemie (CML), která reprezentuje asi 15 % ze všech leukemií, je charakteristická expresí patologického fúzního genu BCR/ABL, který je v naprosté většině případů přítomen na tzv. Filadelfském chromozomu. Důsledkem exprese genu BCR/ABL je syntéza proteinu p210 (resp. p185) s konstitutivní tyrozinázovou enzymatickou aktivitou. P210 fosforyluje tyrozinové zbytky celé řady proteinů, což v konečném důsledku vede k poruše buněčného cyklu, proliferace a apoptózy. Léky, které se v současnosti stan-

Tabulka 1. Obecné rozdělení protilátek používaných v hemato-onkologii

1. podle původu protilátky
• nemodifikované myši
• chimerické myši-lidské
2. podle charakteru navázané látky
• nekonjugované
• konjugované s imunotoxiny
• konjugované s radioizotopy
• konjugované s cytokiny
• konjugované s cytostatiky
• konjugované s další protilátkou – bispecifické protilátky

Tabulka 2. Klinicky dostupné monoklonální protilátky pro léčbu nádorů z hemopoetických buněk

1. Monoklonální protilátky pro léčbu lymfoproliferativních chorob
Anti-CD20 monoklonální protilátka (rituximab, MabThera®)
Anti-CD52 monoklonální protilátka (alemtuzumab, Campath-1H, MabCampath®)
^{131}I -anti-CD20 (tositumomab, Bexxar®)
^{90}Y -anti-CD20 (ibritumomab tiuxetan, Zevalin®)
2. Monoklonální protilátky pro léčbu akutních myeloidních leukemií
Anti-CD33 monoklonální protilátka konjugovaná s kalicheamicinem (gemtuzumab ozogamicin, Mylotarg®)

dardně používají v léčbě CML, nepůsobí selektivně na leukemické buňky. Působení hydroxyurey a busulfanu je cytostatické, mechanismus účinku interferonu alfa není do detailu znám, předpokládá se víceúrovňové antiproliferativní a imunomodulační působení.

V první polovině devadesátých let testoval dr. Brian Druker ve spolupráci s tehdejší farmaceutickou firmou Ciba Geigy (nyní součást společnosti Novartis) u řady molekul jejich schopnost zablokovat leukemickou tyrozinkinázu P210. Ze všech zkoušených látek v in vitro testech zabráňovala nejlépe růstu leukemických BCR/ABL pozitivních klonů sloučenina tehdy označovaná jako CGP 57148B. Dalším zkoumáním se ukázalo, že její molekula blokuje v tyrozinkináze P210 vazebné místo pro ATP. Nepodařilo se prokázat účinek na většinu ostatních tyrozinkinázových enzymů, molekula však interferuje také s tyrozinkinázou ABL, receptorem pro stem cell faktor (c-kit) a receptorem pro růstový faktor odvozený z destiček (PDGF platelet-derived growth factor).

Látka, která je chemicky derivátem fenylaminopyrimidinu (obrázek 1), byla donedávna známá jako **STI 571**. Pod tímto označením byla od roku 1998 klinicky zkoušena na lidech (6). Výsledky klinického zkoušení byly tak jednoznačné, že od objevení molekuly po její zavedení do praxe uplynulo necelých pět let. Důležitá byla velmi dobrá snášenlivost preparátu, který se užívá perorálně a jehož nejčastěji popisovanými vedlejšími účinky (kromě poměrně malé hematologické toxicity) bývají projevy gastrointestinální intolerance (dyspepsie, nauzea, zvracení, průjem), retence tekutin s otoky končetin a obličeje, bolesti kloubů a kostí, svalové křeče a kožní vyrážky. Tiže nežádoucích účinků přitom v naprosté většině případů nepřesahuje druhý stupeň toxicity.

Rozhodujícím faktorem je však hematologická účinnost a v ní v současnosti imatinib u CML nemá konkurenci. Maximální účinnost je možno pozorovat při zahájení léčby v časně fázi choroby. I když lék je poměrně účinný také v blastické a akcelerované fázi onemocnění (15,17), častěji zde dochází k rozvoji primární i sekundární rezistence (většinou v důsledku bodových mutací leukemického proteinu) (tabulka 3). Naopak i v chronické fázi CML účinnost lehce klesá, pokud se lék aplikuje jako medikament druhé volby po hematologickém nebo cytogenetickém selhání terapie interferonem (11).

Za nejdůležitější se v klinických studiích považuje průkaz účinnosti v randomizované multicentrické studii. Tato byla zahájena v červnu 2000 a srovnávala imatinib a interferon v léčbě nemocných s nově diagnostikovanou CML. Bylo do ní zařazeno celkem 1 106 nemocných a už po 12 měsících sledování výsledků jejich léčby bylo zřejmé, že efektivita a profil nežádoucích účinků jsou u imatinibu jednoznačně výhodnější. Tyto výsledky byly potvrzeny při dalším hodnocení po 18 měsících. Pravděpodobnost dosažené kompletní hematologické a cytogenetické odpovědi byla u nemocných léčených imatinibem o více než 40 % vyšší než u nemocných léčených interferonem. Rozdíl se promítl signifikantně nejen do pravděpodobnosti přežití bez

progrese, ale i do zlepšení celkového přežití nemocných. Závažná toxicita nebo neúčinnost vyžadující změnu léčby byla pozorována téměř u 40 % nemocných léčených interferonem, kteří byli vzápětí převedeni na léčbu imatinibem (tzv. crossover), zatímco změna z téhož důvodu byla vynucena v ramenu s imatinibem pouze u 2 % nemocných (tabulka 4) (12).

Na základě klinického zkoušení druhé fáze byl lék do poloviny roku 2001 registrován v USA a ve státech Evropské unie (pod generickým názvem imatinib, název přípravku je Glivec®) k léčbě nemocných v blastické i akcelerované fázi CML a u CML s prokázanou rezistencí nebo intolerancí interferonu alfa. Po zjištění prvních výsledků randomizované studie IRIS srovnávající imatinib s interferonem v léčbě nově diagnostikovaných nemocných s CML byl Glivec koncem roku 2002 v USA a v lednu 2003 v Evropské unii registrován jako lék první volby pro nemocné s Ph pozitivní CML.

Česká republika přitom nezůstala stranou: v průběhu roku 2000 byla zařazena mezi země, ve kterých firma Novartis otevřela tzv. program rozšířené dostupnosti (expanded access programme), v jehož rámci bylo umožněno v Olomouci léčit nemocné v akcelerované fázi CML anebo s relapsem Ph pozitivní akutní lymfoblastické leukemie (studie CSTI571 0114) a v Hradci Králové nemocné v chronické fázi CML rezistentní na léčbu interferonem alfa (studie CSTI571 0113). Obě klinické studie, do nichž bylo zařazeno celkem 72 nemocných a jejichž výsledky byly v souladu s výše uvedenými zahraničními zkušenostmi, byly uzavřeny v květnu 2001 (7). V současnosti je Glivec v ČR dostupný v šesti transplantčních centrech pro nemocné CML s hematologickou nebo

Tabulka 3. Souhrnné výsledky klinického hodnocení studií fáze II podávání imatinibu mesylátu (STI 571, Glivec®) u nemocných s chronickou myeloidní leukemií

fáze onemocnění	blastický zvrát	akcelero- vaná fáze	chronická fáze
medián přežití nemocných na dosavadní léčbě	3–6 měsíců	6–9 měsíců	5–7 let
kompletní hematologická odpověď po imatinibu	8 %	34 %	95 %*
kompletní cytogenetická odpověď po imatinibu	7 %	17 %	41 %*

*u nemocných s rezistencí na interferon

Tabulka 4. Výsledky studie IRIS srovnávající účinnost podávání imatinibu mesylátu s interferonem alfa v léčbě nově diagnostikovaných nemocných s CML prezentované na 44. konferenci Americké hematologické společnosti v prosinci 2002

lék	Imatinib	Interferon + AraC
kompletní hematologická odpověď	97 %	69 %
kompletní cytogenetická odpověď	76 %	14 %
podíl nemocných bez projevů progrese onemocnění	92 %	74 %
podíl nemocných převedených do druhého ramene studie (crossover) pro toxicitu nebo progresi	1 %	39 %

cytogenetickou rezistenci na interferon, pro nemocné se závažnou toxicitou interferonu, v léčbě akcelerované a blastické fáze CML, dále pro nemocné s Ph pozitivní ALL a u nemocných s Ph pozitivní CML nebo ALL před nebo po alogenní transplantaci krvetvorných buněk, na jeho schválení jako léku prvním volby u CML v ČR zatím čekáme.

Další indikace imatinibu na sebe nejspíše nedají dlouho čekat. Poté, co se prokázal jeho účinek u gastrointestinálních stromálních nádorů, chronických myeloproliferativních stavů s abnormalitou chromozomu 5 a hypereozinofilního syndromu rezistentního na standardní terapii se otevírají nebo probíhají další studie. Ověřuje se možnost kombinované terapie s některými cytostatiky, arzenikem a interferonem u CML, účinek imatinibu se zkouší také u mnohotného myelomu a myelodysplastického syndromu.

Nejdůležitějším však zůstává fakt, že imatinib ověřil úspěšnost léčebného použití malé molekuly, blokující cílené mechanismy vedoucí ke vzniku nádorového klonu. Terapeutický model, při němž se nádor beze zbytku sice neodstraní, ale jeho růst je efektivně suprimován, je tedy životaschopný a motivuje výzkum k vývoji a testování dalších a dalších látek, na něž onkologové už nyní netrpělivě čekají.

Alogenní transplantace krvetvorných buněk po přípravném režimu s redukovanou intenzitou (nemyeloablativní transplantace, minitransplantace)

Myšlenka použití alogenní transplantace kostní dřeně v léčbě nádorů z krvetvorných buněk vycházela původně z podání vysoké (myeloablativní) dávky chemoterapie a celotělového ozáření, které měly za cíl totálně zničit nádor, zatímco následné podání kostní dřeně bylo chápáno jen jako podpůrný krok k překonání hematologické toxicity podané megaterapie a k nastolení nové, fungující krvetvorby. Postupem času preklinický výzkum, ale i praktická pozorování transplantačních týmů podaly jasné důkazy, že u mnoha nemocných vysoce dávkovaná chemo/radioterapie nedokáže zničit všechny nádorové elementy, ale že existuje ještě další velmi významný mechanismus, kterým alogenní transplantace dokáže nádorovou chorobu zničit (2, 5).

Již na přelomu 70. a 80. let minulého století se objevily zprávy, ukazující na to, že u nemocných s akutní nebo chronickou formou reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host disease, GVHD) se vyskytuje výrazně méně relapsů než u jedinců bez této reakce či u transplantací od jednovaječných dvojčat (syngenní transplantace). Vyšší výskyt relapsů byl později patrný i u alogenních transplantací prováděných se štěpem s redukováným počtem T-lymfocytů (T-lymfocytární deplece). Zdálo se pravděpodobné, že eradikace tzv. minimální zbytkové choroby je závislá na přítomnosti nějaké imunologicky podmíněné reakce buněk štěpu (dárce) s buňkami původní nádorové choroby příjemce. Začalo se mluvit o reakci štěpu proti leukemii (graft versus leukemia effect, GVL), později obecně o reakci štěpu proti nádoru (graft versus tumor effect, GVT).

Klinicky nejzřetelnější důkazy GVL nebo GVT efektu byly předloženy na počátku 90. let v případech nemoc-

ných relabujících po alogenní transplantaci, u kterých byla znovu navozena kompletní remise choroby po podání (infúzi) dárcovských leukocytů (lymfocytů, DLI), tentokrát bez podání jakékoliv formy chemoterapie. Posléze bylo prokázáno, že imunitní systém po úspěšné transplantaci se derivuje z buněk dárcovské krvetvorby a že u relabujících nemocných došlo k inefektivní imunitní kontrole zbývajících buněk nádoru imunokompetentními buňkami dárcovské krvetvorby, a to z několika možných důvodů (13, 16).

Jak bylo dále zjištěno, mezi jednotlivými nádory z krvetvorných buněk existuje rozdílná „vnímavost“ ke GVL efektu. Retrospektivní analýzy a později i prospektivní studie prokázaly, že většina nemocných s CML (cca 70 %), kteří po transplantaci zrelabují a ocitnou se v chronické fázi choroby, se po DLI opět dostane do kompletní remise. U relabující akutní myeloidní leukemie (AML) či myelodysplastického syndromu (MDS) zareaguje na DLI jen asi jedna třetina pacientů, u nemocných s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) je toto procento ještě výrazně menší. Příčinou je zřejmě jednak chybění určitých molekul na povrchu nádorových buněk, které jsou schopny stimulovat účinnou imunitní odpověď, jednak také kinetika růstu populace nádorových buněk, která v případech AML a hlavně ALL výrazně předstihne možnosti imunitního systému jakoukoliv reakci rozvinout. Navíc se zdá, že GVL efekt může být u různých typů onemocnění zprostředkován různou měrou různými imunokompetentními buněčnými subpopulacemi. Zatímco u CML zřejmě hraje hlavní roli populace T-lymfocytů, u AML se zdá, že výraznější antileukemickou roli mohou hrát přirození zabijáci (NK buňky). V poslední době byl GVT efekt prokázán také u lymfoidních nádorů (B-chronická lymfatická leukemie, NHL a mnohotný myelom) a dokonce u solidních tumorů (adenokarcinomy – ledvina, tlusté střevo) (2, 5).

Reakce štěpu na nádor je často přítomna v souvislosti s jinou imunologickou reakcí – GVHD. Na druhé straně existují důkazy, že GVT efekt může u mnoha nemocných proběhnout bez vazby na klinicky významnější stupeň GVHD. Potíž je v tom, že ani cílové antigeny těchto imunitních reakcí, ale ani samotné buňky, které v nich hrají roli, nejsou ještě zdaleka přesně definovány. CD4+ a CD8+ T-lymfocyty jsou významné v zahájení GVHD, zatímco ostatní buněčné populace imunitního systému (zejména NK buňky) a cytokiny hrají výraznou roli v následném poškození cílových tkání. V laboratorních modelech GVL efektu, pak byl s různou měrou popsán anti-leukemický efekt všech zmíněných buněčných skupin. Hlavním cílem moderní transplantační léčby je eliminovat GVHD reakci, a naopak co nejvíce zachovat, event. i posílit GVL (GVT) efekt, respektive tyto efekty od sebe v budoucnu oddělit. Z mnoha studií vyplynulo, že jedním z hlavních spouštěcích mechanismů časně a závažné GVHD reakce je nadměrné uvolnění „zánětlivých“ cytokinů z tkání poškozených toxickým (myeloablativním) přípravným režimem, resp. následnými těžkými infekty v organizmu. Na základě všech těchto myšlenek a předložených

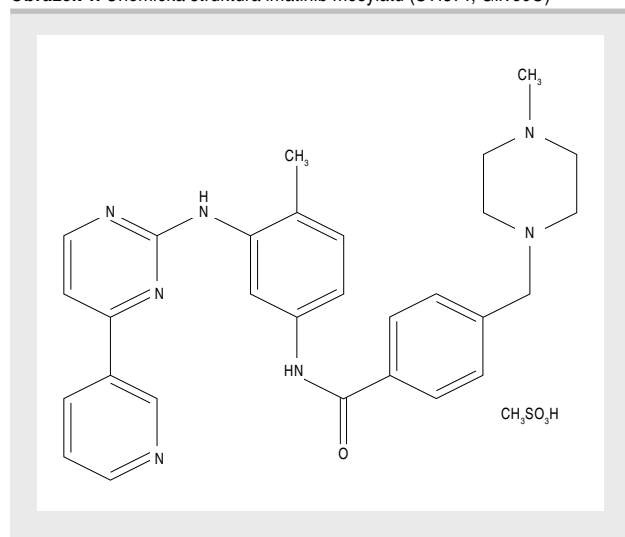
důkazů začali lékaři zabývajících se transplantacemi krvetvorných buněk uvažovat, jak snížit toxicitu přípravného režimu, přitom umožnit co nejrychlejší a pokud možno trvalý rozvoj dárcovské krvetvorby, snížit výskyt závažných forem akutní GVHD a přitom posílit GVT efekt. Navíc většina hematologicko-onkologických chorob se vyskytuje u starších nemocných, kde jak biologický věk, tak i často přidružené choroby jsou příčinou významných komplikací a nezanedbatelné mortality u klasicky prováděných myeloablativních transplantací. Velká část nemocných proto k takovéto terapii nemůže být ani prakticky indikována.

Alternativní strategií jak snížit toxicitu a mortalitu alogenních transplantací a učinit ji dostupnou pro větší skupinu nemocných je metoda alogenních transplantací s použitím přípravných režimů o nízké intenzitě (minitransplantace, nemyeloablativní transplantace). Jejich smyslem je podání takového přípravného režimu, který není určen k eradikaci nádorové choroby, ale indukuje účinnou

Tabulka 5. Výsledky alogenních transplantací po přípravných režimech s redukovanou intenzitou

choroba	celkové přežití
akutní myeloidní leukemie, myelodysplastický syndrom (naprostá většina relabujících a refrakterních nemocných)	41–47 % 1 rok od transplantace 28 % 2 roky od transplantace
akutní lymfoblastická leukemie (většina relabujících a refrakterních nemocných)	15 % 1 rok od transplantace
chronická myeloidní leukemie (cca polovina nemocných v chronické fázi choroby)	62–65 % 1 rok od transplantace
mnohotný myelom (chemosenzitivní i chemorezistentní nemocní)	54–69 % 1 rok od transplantace
indolentní lymfomy (cca ⅔ chemosenzitivních nemocných)	39–100 % 1 rok od transplantace
chronická lymfatická leukemie (opakovaně relabující nemocní)	90 % ½ roku od transplantace
agresivní lymfomy (cca polovina chemosenzitivních nemocných)	41–60 % 1 rok od transplantace

Obrázek 1. Chemická struktura imatinib mesylátu (STI571, Glivec®)



imunosupresi v příjemcově organismu, která umožní přijetí (toleranci) štěpu (krvetvorných buněk dárce) a posléze i rozvoj imunitního GVT efektu. Zprvu se tedy v organismu příjemce vytvoří stav smíšeného chimerizmu (v těle jsou přítomny krevní buňky jak příjemce tak i dárce). Kompletní chimerizmus dárce (fungující dárcovská krvetvorba ve 100 %, eliminace příjemcovy krvetvorby) se vytváří postupně, nejdříve většinou v populacích T-lymfocytů. Ty pak eliminují zbylé krevní buňky příjemce a mají za úkol imunitně kontrolovat, resp. zničit buňky nádoru. Tento proces může trvat měsíce a může vyžadovat posílení dárcovské krvetvorby, resp. protinádorové imunity opakovanými převody DLI. Tento postup výrazně redukuje farmakologickou toxicitu dříve používaných přípravných režimů, snižuje riziko těžké akutní formy GVHD a riziko těžkých potransplantačních systémových infekcí (5, 16).

Základním lékem nemyeloablativních přípravných režimů jsou purinová analoga, zejména fludarabin. Tyto léky mají jak protinádorový efekt prokázaný u řady nádorů z krvetvorných buněk, tak především efekt imunosupresivní (zejména T-lymfotoxický). Purinová analoga se kombinují s cyklofosfamidem, melfalanem, busulfanem nebo s infuzí antithymocytárního imunoglobulinu. Přípravných, nemyeloablativních režimů je dnes testováno několik. Jejich intenzita musí být volena v závislosti na mnoha faktorech: na stavu nemocného, biologické aktivitě a velikosti nádorové masy, imunitním stavu příjemce a stupni histokompatibility dárce a příjemce (shoda v HLA antigenech). Po transplantaci krvetvorných buněk od dárce, stejně jako u myeloablativních transplantací, je ve většině případů indikována imunosupresivní terapie. Ta má za cíl zabránit těžké a nekontrolované akutní GVHD reakci, na druhé straně pak dovolit přijetí štěpu a obnovu hemopoézy z dárcovských krvetvorných buněk. V případě neúspěšného přijetí, nedostatečného stupně chimerizmu či vyhasínání imunologického působení štěpu je imunosuprese vysazována a jsou podávány DLI (často opakovaně).

Údajů o počtu alogenně transplantovaných po přípravných režimech s redukovanou intenzitou stále přibývá. Podařilo se prokázat, že incidence a stupeň akutní GVHD poklesly a spolu s poklesem dalších těžkých komplikací (těžké metabolické dysbalance, invazivní infekty) se snížila i časná peritransplantační mortalita. Na druhé straně však byl zaznamenán mírný nárůst pozdních komplikací. Spolu s přibývajícím zkušenostmi bylo zřejmé, že pro relabující nebo refrakterní akutní leukemie nebo agresivní lymfomy ve floridní fázi onemocnění tato léčba nepřináší výraznější zlepšení prognózy ve srovnání s konvenční chemoterapií. Naopak u indolentně probíhajících onemocnění, byť jsou i relativně refrakterní na léčbu, může tento postup znamenat naději na vyléčení z choroby (chronická lymfatická leukemie, mnohotný myelom, indolentní lymfomy, chronická myeloidní leukemie u starších nemocných,...). Tato metoda může být také použita u některých nemocných s aplastickou anémií, vrozenými metabolickými chorobami a těžkými imuno-deficity indikovanými k takové léčbě. Jak bylo řečeno již výše, GVT efekt byl prokázán také u řady solidních nádorů,

zejména adenokarcinomů. Nadějně se zdají výsledky s touto terapií u světlobuněčného karcinomu ledviny (Grawitzův nádor), zprávy přicházejí i o nemyeloablativních alogenních transplantacích u adenokarcinomu tlustého střeva, karcinomu prsu či metastazujícího melanomu. Zdá se, že určitá část solidních nádorů může vykazovat poměrně slušnou „imunogenicitu“ a stát se tak terčem pro efektorové buňky imunitního systému dárce. Stručně shrnutí údajů o dosud publikovaných výsledcích nemyeloablativních transplantací přináší tabulka 5 (1, 2, 5, 13).

I tato léčba má svá úskalí a komplikace a není zcela standardním a rutinním postupem použitelným u většiny nemocných s hemato-onkologickými či jinými nádorovými chorobami. Její indikace z hlediska typu choroby, jejího stavu, výběru nemocného, složení a intenzity přípravného režimu, event. manipulace se štěpem, míry potransplantační imunoprese, resp. její délky a načasování event. DLI jsou předmětem diskuzí a budou dále upřesňovány.

Literatura

1. Anagnostopoulos A, Giral S. Critical review on non-myeloablative stem cell transplantation (NST). *Crit Rev Oncol Hematol* 2002; 44: 175–190.
2. Barret J, Childs R. Non-myeloablative stem cell transplants. *Br J Haematol* 2000; 111: 6–17.
3. Bocchia M, Bronte V, Colombo MP, et al. Antitumor vaccination: where we stand. *Haematologica* 2000; 85: 1172–1206.
4. Countouriotis A, Moore TB, Sakamoto KM. Cell surface antigen and molecular targeting in the treatment of hematologic malignancies. *Stem Cells* 2002; 20: 215–229.
5. Champlin R, Khouri I, Shimon A, et al. Harnessing graft-versus-malignancy: non-myeloablative preparative regimens for allogeneic haematopoietic transplantation, an evolving strategy for adoptive immunotherapy. *Br J Haematol* 2000; 111: 18–29.
6. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001; 344: 1031–1037.
7. Faber E, Hluší A, Indrák K, et al. Imatinib (Gleevec) v léčbě nemocných s akcelerovanou fází chronické myeloidní leukemie – první zkušenosti. *Trendy v medicíně* 2002; 4: 3–7.
8. Feuring-Buske M, Buske C, Unterhalt M, Hiddemann W. Recent advances in antigen-targeted therapy in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2000; 79: 167–174.
9. Goldenberg DM. The role of radiolabeled antibodies in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma: the coming of age of radioimmunotherapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 39: 195–201.

Závěr

Obrovský rozvoj poznání genomu, buněčné fyziologie a patofyziologie, imunitního systému a vzájemných interakcí nádorových buněk a organismu umožňuje stále detailnější poznání etiopatogeneze nádorových chorob. Na základě těchto poznatků se daří konstruovat účinné a cílené léky a léčebné metody, jejichž společným znakem je klesající toxicita a větší míra cílenosti vůči nádorové buňce. Nemocní s nádory hemopoetických tkání již dnes mohou profitovat z řady takových možností. Alogenní transplantace po přípravných režimech s redukovanou intenzitou, léčba monoklonálními protilátkami u lymfoproliferativních chorob a imatinib mesylátem u chronické myeloidní leukemie přináší mnoha nemocným naději na výrazné prodloužení života bez známek recidivy choroby a mnoha z nich i naději na plnou úzdravu z těžkého onemocnění.

10. Jurcic JG. Antibody therapy for residual disease in acute myelogenous leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 38: 37–45.
11. Kantarjian H, Sawyers Ch, Hochhaus A, et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 2002; 346(9): 645–652.
12. Larson RA. On behalf of the IRIS (International Randomized INF vs STI571 Study Group): Imatinib (STI571, Gleevec™) as initial therapy for patients with newly diagnosed Ph+ chronic myeloid leukemia (CML): Results of a randomized phase III study vs interferon-alfa + cytarabine (INF+AraC). *Blood* 2002; 100: 4(a).
13. McCarthy NJ, Bishop MR. Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplantation: early promise and limitations. *Oncologist* 2000; 5: 487–496.
14. McLaughlin P. Rituximab: perspective on single agent experience, and future directions in combination trials. *Crit Rev Oncol Hematol* 2001; 40: 3–16.
15. Sawyers Ch, Hochhaus A, Feldman E, et al. Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase 2 study. *Blood* 2002; 99: 3530–3539.
16. Spitzer TR. Nonmyeloablative allogeneic stem cell transplant strategies and the role of mixed chimerism. *Oncologist* 2000; 5: 215–223.
17. Talpaz M, Silver RT, Druker BJ, et al. Imatinib induces durable hematologic and cytogenetic responses in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia: results of phase 2 study. *Blood* 2002; 99(6): 1928–1937.
18. Tamm I, Dörken B, Hartmann G. Antisense therapy in oncology: new hope for an old idea? *Lancet* 2001; 358: 489–497.