

U 22 pacjentek z zaawansowanym rakiem jajnika (FIGO \geq IIc), po zakończeniu postępowania chirurgicznego i chemioterapii, przeprowadzono leczenie wysokodawkową chemioterapią. Dotyczyło to 7 chorych w pełnej remisji i 15 w częściowej, w następstwie chemiowrażliwej progresji choroby. Komórki krwiotwórcze pozyskano z krwi obwodowej po mobilizacji chemioterapią: endoksanem, epirubicyną, taksolem z cisplatyną lub karboplatyną i czynnikiem wzrostowym. Program obejmował 2-krotną wysokodawkową chemioterapię (ICE, a następnie CME), za każdym razem wspartą przeszczepieniem komórek krwiotwórczych. Leczenie to otrzymało 10 chorych, u 12 chorych zastosowano jedynie pojedynczą wysokodawkową chemioterapię (CME, ICE, melfalan z karboplatyną lub sam melfalan). Toksyczność hematologiczna IV stopnia przypisana była do założeń procedury (chemioterapia mieloablacyjna). Poza toksycznością hematologiczną, na 33 przeprowadzone wysokodawkowe chemioterapie stwierdzono toksyczność \geq II° wg WHO u 19 chorych. Jedna pacjentka zmarła z powodu powikłania infekcyjnego w przebiegu procedury. Dwuletnie przeżycie dotyczyło 83% chorych z CR wobec 37% chorych z jedynie częściową remisją przed przeszczepieniem ($p=0,049$). Różnica ta związana była z częstą manifestacją progresji choroby w tej ostatniej grupie chorych. Krzywa przeżycia chorych z CR w porównaniu z chorymi z PR przed wysokodawkową chemioterapią była statystycznie lepsza. Mediana przeżycia u chorych w pełnej remisji wynosiła 24,7 mies. wobec 12,5 mies. przeżycia u chorych z częściową remisją przed zabiegiem. Nie było różnic w przeżyciu chorych w zależności od czasu trwania choroby oraz liczby otrzymanych kursów wysokodawkowej chemioterapii.

Słowa kluczowe: rak jajnika, HSCT, skumulowana proporcja przeżycia.

Korzystne działanie wysokodawkowej chemioterapii z HSCT u chorych z zaawansowanym rakiem jajnika w pełnej remisji klinicznej

The beneficial effect of high dose chemotherapy with HSCT in patients with advanced ovarian carcinoma, with complete clinical remission

Andrzej Lange^{1,2}, Joanna Werkun¹, Dorota Dłubek²,
Cezary Juda¹, Marian Gryboś³, Ilona Kryczek²

¹Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych z Krajowym Bankiem Dawców Szpiku, Wrocław; ²Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej, PAN, Wrocław; ³Katedra i Klinika Ginekologii i Położnictwa, Akademia Medyczna, Wrocław

Wstęp

Rak jajnika jest częstym nowotworem u kobiet i występuje najczęściej powyżej 4. dekady życia. U 75% chorych manifestuje się już jako zaawansowana choroba, wg klasyfikacji FIGO (*International Federation of Gynecological and Obstetrics*) \geq IIc z częstym jawnym zajęciem otrzewnej [1]. Podstawowym sposobem leczenia jest radykalna operacja, możliwa do przeprowadzenia jedynie w 30% przypadków, tzn. u kobiet z najwyżej II° zaawansowania wg FIGO. Standardem jest kontynuacja leczenia poprzez podawanie chemioterapeutyków z wykorzystaniem leków zawierających platynę [2, 3]. Dane doświadczalne i kliniczne wskazują na korzystny wpływ intensyfikacji leczenia. Ilość cytostatyków podawana w jednostce czasu stanowi o efektywności chemioterapii [2, 4, 5]. Niestety, nefrotoksyczność cisplatyny i hematologiczna toksyczność karboplatyny ograniczają możliwości intensyfikacji leczenia. W wypadku karboplatyny toksyczność hematologiczna może być wyrównana dzięki wsparciu odnowy hematologicznej przeszczepieniem autologicznych komórek krwiotwórczych [5–8]. Wiadomym jest fakt, mający szerokie zastosowanie kliniczne, że podanie choremu chemioterapii powoduje w okresie burzliwej odnowy granulopojezy uwalnianie do krwi komórek krwiotwórczych, opisanych jako komórki CD34+ (łatwo identyfikowalne w badaniu cytofluorymetrycznym) [9]. Uwalnianie to jest wspomagane przez podawanie czynnika wzrostowego, stymulującego kolonie tworzące komórki linii granulopoetycznej, tzw. G-CSF (*granulocyte colony stimulating factor*). Pomiar liczby granulocytów we krwi i liczby komórek CD34+ pozwala na wybranie optymalnego czasu pozyskania komórek krwiotwórczych z krwi. Pozyskuje się je, wykorzystując separatory komórkowe. Preparat opisuje się pod względem składu komórkowego i zamraża do czasu wykorzystania w przeszczepie autologicznym. Procedura jest przejrzysta w swoim założeniu. Posiadanie preparatu zabezpieczającego odnowę hematologiczną, umożliwi chemioterapię w dawkach, których toksyczność powoduje zwykle długotrwałe, często nieodwracalne uszkodzenie szpiku. Wyższa dawka to większa intensywność leczenia i wg danych literaturowych szansa sukcesu leczniczego w przypadkach zaawansowanego raka jajnika [5, 10]. Idąc tym tropem zastosowaliśmy wysokodawkową chemioterapię u chorych z zaawansowanym rakiem jajnika wykorzystując chemioterapeutyki, w których wiodącą jest toksyczność hematologiczna, tj. ifosfamid, karboplatynę i melfalan. Rozpoczęto program 2-

Twenty-two patients with advanced ovarian carcinoma underwent high-dose chemotherapy supported by hematopoietic stem cell transplantation. Ten patients received double transplantation following ICE and CME, respectively. Twelve patients received only one course of high dose chemotherapy (CME, ICE, Melphalan and Carboplatine or Melphalan). Seven and 15 patients were in CR and PR prior to autologous HSCT, respectively. Toxicity was in a majority of cases manageable. One patient died due to infection complication after the second transplant. All patients were followed and their fate registered. It was shown that patients in clinical remission prior to HD chemotherapy enjoyed statistically significant better two years survival as compared to those with PR (83% vs 37%, $p=0.049$). The median follow-up of patients was 24.7 months in the CR group and 12.5 months in PR group. Overall cumulative proportion of survival was significantly better in the group with CR prior to the procedure. There was no difference in overall survival with respect to one or two HD chemotherapy courses and to length of the disease. The survival of patients with PR was unsatisfactory calling for a maintenance involving immunotherapy according to the recent progress in this field.

Key words: ovarian carcinoma, HSCT, cumulative proportion of survival.

krotnej chemioterapii wysokodawkowej, za każdym razem wspomaganej przeszczepieniem komórek krwiotwórczych, z których pierwsza oparta była na ifosfamidzie, etoposidzie i karboplatynie (ICE), a druga na melfalanie (CME). Badanie to jest niezwykle ważne, ponieważ pozwala na maksymalne wykorzystanie chemioterapii w leczeniu aktualnie obserwowanych pacjentek z zaawansowanym rakiem jajnika. Równocześnie pozwala odpowiedzieć na pytanie, czy chemioterapię z wykorzystaniem wysokich dawek można z powodzeniem stosować w zaawansowanych przypadkach raka jajnika. Pytanie to nabiera podstawowego znaczenia wobec osiągnięć naukowych naszego i innych zespołów, wskazujących na istotny udział mechanizmów immunologicznych w leczeniu chorych z rakiem jajnika [5, 11].

Pacjentki

Badaniem objęto 22 chore z zaawansowanym rakiem jajnika, z których 7 skierowano w pełnej remisji zweryfikowanej badaniami obrazowymi i poziomem markera Ca125, a 15 było w częściowej remisji po chemiowrażliwej wznowie (tab. 1.).

Tabela 1. Charakterystyka chorych poddanych wysokodawkowej chemioterapii wspomaganej autologicznym przeszczepem komórek krwiotwórczych
Table 1. Characteristics of advanced ovarian carcinoma patients receiving high-dose chemotherapy supported by autologous HSCT

wiek mediana (zakres)	43 (24–61)
histopatologia	
serous cystadenocarcinoma	10
nonserous cystadenocarcinoma	12
stopień zaawansowania wg FIGO	
IIc	1
IIIa	1
IIIb	0
IIIc	13
IV	7
początkowa chirurgia	
kompletna, optymalna lub suboptymalna	18
nieoptymalna	4
stopień histologicznej złośliwości	
1	2
2	12
3	2
nieznany	6
chemioterapia pierwszorzętowa oparta na cisplatynie	
liczba cykli – mediana (zakres)	6 (2–9)
odpowiedź onkologiczna przed przeszczepem	
CR	7
PR	15
odpowiedź onkologiczna po przeszczepie	
CR	9
PR	13
czas od diagnozy do transplantacji	7 (2–24)
chemioterapia kondycjonująca przeszczep	
ICE	17
CME	10
MEL140	1
MEL2	1
MEL-CARBO	3
follow-up po wysokodawkowej chemioterapii, w miesiącach, mediana (zakres)	13 (2–65)

Opis procedury

Chore otrzymały chemioterapię ze wspomaganiami odnowy hematologicznej i mobilizacji komórek krwiotwórczych preparatem G-CSF (10 µg/kg c.c. dziennie przez co najmniej 5 dni). Wykonywano dwie lub więcej separacji (Cobe-Spectra, Gambro), aby uzyskać materiał na 2 kolejne przeszczepy. Standardem postępowania było zabezpieczenie co najmniej 3×10^8 jednojądrowych komórek krwi obwodowej i/lub 2×10^6 komórek CD34+ na jedno przeszczepienie. Preparaty po pozyskaniu zamrażano w parach ciekłego azotu.

10 chorych otrzymało jako pierwszą chemioterapię ICE:

- ifosfamid – 2500 mg/m² przez 4 dni,
- karboplatyna – 300 mg/m² przez 4 dni,
- Vepesid – 300 mg/m² przez 4 dni,

i jako drugą CME:

- karboplatyna – 300 mg/m² przez 4 dni,
- etoposid – 250 mg/m² przez 4 dni,
- melfalan – 140 mg/m²; 4. doba (raz).

Dwanaście chorych otrzymało jedynie ICE lub melfalan z karboplatyną, jedna chora otrzymała jedynie melfalan.

Toksyczność oceniano wg skali WHO. Efektywność chemioterapii weryfikowano wg standardowego protokołu nadzoru nad chorymi z rakiem jajnika, wykorzystując badanie markera Ca125, badania obrazowe i laparoskopię odpowiednio do potrzeby. Pełną remisję oceniano na podstawie braku odchyłań anatomicznych i ujemnego wyniku badania markera Ca125.

Wyniki

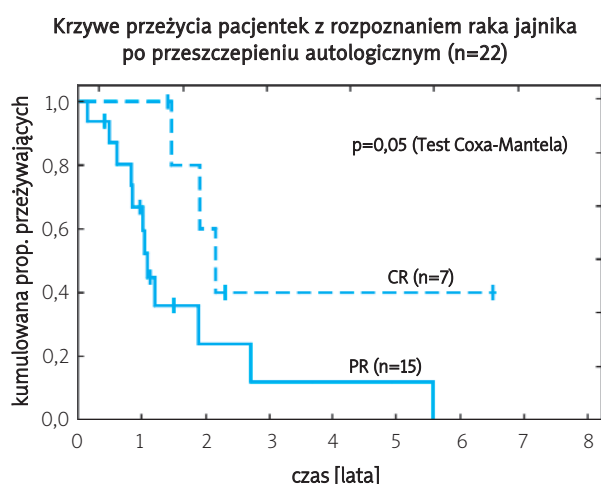
W sumie wykonano 33 przeszczepienia u 22 chorych. 10 chorych otrzymało kolejno 2 wysokodawkowe chemioterapie, za każdym razem wspomagane przeszczepieniem komórek krwiotwórczych. Toksyczność procedury wg skali WHO była \geq II° w 19 na 33 procedury wysokodawkowej chemio-

terapii. W jednym przypadku doszło do zgonu pacjentki z powodu powikłania infekcyjnego po drugim przeszczepieniu.

Ryc. 1. pokazuje przeżycie chorych z wyróżnieniem podgrup odpowiednio do stanu onkologicznego przed zastosowaniem wysokodawkowej chemioterapii. U pacjentek przeszczepianych w pełnej remisji wznowę zarejestrowano najwcześniej po 1,5-roczonej obserwacji, natomiast u chorych z chorobą resztkową przed wysokodawkową chemioterapią progresja choroby miała miejsce już kilka miesięcy po zakończeniu wysokodawkowej chemioterapii i jedynie 2 pacjentki żyły dłużej niż 3 lata. Spośród 22 chorych żyje obecnie 7 chorych z czasem obserwacji od 3 mies. do 6 lat. Nie było różnic w przeżyciu chorych w zależności od czasu trwania choroby oraz liczby otrzymanych kursów wysokodawkowej chemioterapii.

Dyskusja

Nasze obserwacje współbrzmiają z bieżącymi zestawieniami innych grup i wskazują na ograniczone możliwości chemioterapii wysokodawkowej podanej w celu zintensyfikowania dawkowania, ze wspomaganiami przeszczepieniem komórek krwiotwórczych w zaawansowanych postaciach raka jajnika [4, 6, 12, 13]. Czas przeżycia jest krótki, ograniczony w niewielu przypadkach do 5 lat i dotyczy jedynie chorych, które weszły do programu wysokodawkowej chemioterapii w pełnej remisji. Wyniki naszej jednorodnej grupy chorych leczonych w jednym ośrodku są zbliżone z danymi zaprezentowanymi przez Mary Horowitz i wsp. w imieniu 57 ośrodków, przesyłających swoje wyniki do ABMTR (*Autologous Blood and Marrow Transplant Registry*, USA) [13]. Podobne dane zaprezentował zespół *Anderson Cancer Center* z Houston w USA [14]. Jest to ważna obserwacja wskazująca, że optymalne wyniki wysokodawkowej chemioterapii w zaawansowanym raku jajnika dotyczą chorych z pełną remisją przed wspieraną przeszczepieniem komórek krwiotwórczych wysokodawkową chemioterapią. Pozostaje przeważająca grupa chorych, u których nie osiągnięto CR z powodu małej efektywności chemioterapii. Chore te pozostają w centrum uwagi i związane z nimi problem leczniczy ukierunkowuje prace wdrożeniowe w zakresie leczenia zaawansowanych postaci raka jajnika na immunoterapię. Prace naszej grupy wykazały, że dłuższym przeżyciem cieszą się chore, które mają większą liczbę komórek odpornościowych w nowotworowym wysięku otrzewnowym [15, 16]. Wskazuje to na klinicznie istotny udział czynnika immunologicznego w nadzorze przeciwnowotworowym w raku jajnika. Brak końcowej efektywności układu odpornościowego związany jest z immunosupresyjnym oddziaływaniem komórek raka jajnika, co dokumentuje ubytek receptora CD28+ na komórkach CD3 limfocytów krwi chorych z rakiem jajnika i nowotworowego wysięku otrzewnowego [dane własne, przygotowywane do druku]. Wiemy również, że w nowotworowym wysięku otrzewnowym znajdują się komórki regulatorowe, hamujące odpowiedź immunologiczną [17], znamy już mechanizmy upośledzające odporność. Nadszedł czas na wdrożenie tej wiedzy do kliniki człowieka. Dzięki tej pracy wiemy, że odpowiednimi kandydatkami do wysokodawkowej chemioterapii są tylko chore w pełnej



Ryc. 1. Przeżycie chorych z wyróżnieniem podgrup odpowiednio do stanu onkologicznego przed zastosowaniem wysokodawkowej chemioterapii

Fig. 1. Proportion of survival of advanced ovarian carcinoma patients according to the oncological status before high-dose chemotherapy

remisji po dotychczasowym leczeniu (ryc. 1). Podobne obserwacje poczyniły również inne grupy [13, 14]. Intensyfikowanie chemioterapii przy jawnej chorobie resztkowej ma ograniczone zastosowanie, jednak wieloletnie przeżycie stwierdzone w badanej grupie chorych wskazuje, że wysokodawkowa chemioterapia ma uzasadnienie, ale tylko wówczas, jeżeli będzie wspomagana immunoterapią. Bardzo ważną przesłanką potwierdzającą ten punkt widzenia jest stwierdzenie, że w grupie chorych opisanych przez EBMT najdłuższe przeżycie obserwowano u chorych, które otrzymały G-CSF lub GM-CSF po przeszczepieniu [12]. G-CSF jest w tym wypadku prototypem cytokiny, która może być zastosowana i wskazuje kierunek działania. Przyczynkiem do założenia, że modyfikacja układu odpornościowego po autologicznym przeszczepieniu komórek krwiotwórczych może korzystnie wpłynąć na los chorych, jest opisanie reakcji przeszczep przeciwko rakowi u chorej z rakiem jajnika, podanej alotransplantacji komórek krwiotwórczych [18]. Zarówno nasze badanie, opisujące mechanizmy nagromadzenia się limfocytów, jak i prace dokumentujące rolę komórek regulatorowych T w nadzorze immunologicznym raka jajnika [17, 19], ukierunkowują sposób myślenia. Prawdopodobne zastosowania przeciwciał blokujących cząsteczkę efektorową komórki regulatorowej CTLA-4 mogą być klinicznie uzasadnione [17]. Obecne prace naszego zespołu wskazują również na możliwość wykorzystania, jako podtrzymywanie efektów chemioterapii wysokodawkowej raka jajnika, inhibitorów angiogenezy [20]. Będzie to podstawą dalszych badań naszego zespołu.

Praca realizowana w ramach grantu KBN 3 P05E 17522.

Piśmiennictwo

- Lund B, Williamson P. Prognostic factors for overall survival in patients with advanced ovarian carcinoma. *Ann Oncol* 1991; 2: 281-7.
- Makatsoris T, Seiden MV. High-Dose Therapy for Ovarian Carcinoma. *Oncologist* 1997; 2: 330-9.
- Romanini A, Tanganelli L, Carnino F, et al. First-line chemotherapy with epirubicin, paclitaxel, and carboplatin for the treatment of advanced epithelial ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol* 2003; 89: 354-9.
- Barlow C, Nystrom M, Oesterling C, Fennell D, Ismay J, Gallagher C. Dose intense triplet chemotherapy with gemcitabine, carboplatin, paclitaxel with peripheral blood progenitor cell support for six cycles in advanced epithelial ovarian cancer. *Br J Cancer* 2004; 90: 1318-22.
- Lange A. Leczenie chemiczne – megadawki. W: *Onkologia ginekologiczna*. Markowska J (red.). Wyd. Urban & Partner, Wrocław 2002; 855-68.
- Morgan RJ, Doroshow JH, Leong L, et al. Phase II trial of high-dose intravenous doxorubicin, etoposide, and cyclophosphamide with autologous stem cell support in patients with residual or responding recurrent ovarian cancer. *Bone Marrow Transplant* 2001; 28: 859-63.
- Ikeba K, Okubo M, Takeda S, Kinoshita K, Maeda H. Five-year results of cyclin semi-high dose neoadjuvant chemotherapy supported by autologous peripheral blood stem-cell transplantation in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2004; 9: 113-19.
- Miyamoto T, Shinozuka T, Maeda H, et al. Effect of peripheral blood progenitor cell dose on hematopoietic recovery: identification of minimal progenitor cell requirements for rapid engraftment. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 589-95.
- Dlubek D, Pacusko T, Suchnicki K, Lange A. G-CSF-mobilized leukapheresis products: cellular characteristics and clinical performance in allografting. *J Hematother* 1999; 8: 157-66.
- Lange A. Chemioterapia dużymi dawkami, wspomagana przeszczepem komórek krwiotwórczych w zaawansowanej postaci raka jajnika. W: *Rak jajnika*. Markowska J (red.). Springer PWN, Warszawa 1997; 129-37.
- Kryczek I, Lange A. Immunoterapia nowotworów złośliwych narządu rodowego. W: *Onkologia ginekologiczna*. Markowska J (red.). Wyd. Urban & Partner, Wrocław 2002; 218-35.
- Bengala C, Guarneri V, Ledermann J, et al. High-dose chemotherapy with autologous haemopoietic support for advanced ovarian cancer in first complete remission: retrospective analysis from the Solid Tumour Registry of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 25-31.
- Stiff PJ, Veum-Stone J, Lazarus HM, et al. High-dose chemotherapy and autologous stem-cell transplantation for ovarian cancer: an autologous blood and marrow transplant registry report. *Ann Intern Med* 2000; 133: 504-15.
- Donato ML, Aleman A, Champlin RE, et al. Analysis of 96 patients with advanced ovarian carcinoma treated with high-dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 1219-24.
- Kryczek I, Grybos M, Dlubek D, Klimczak A, Rabczynski J, Lange A. Accumulation of CD45RO (+) cells in peritoneal carcinomatous fluid favours survival of ovarian carcinoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 2002; 51: 513-19.
- Lange A, Dlubek D, Grybos M, Klimczak A, Kryczek I. Biologiczne uwarunkowania wysokodawkowej chemioterapii w rakach sutki, jajnika i raka drobnokomórkowego ptac. *Współcz Onkol* 2000; 4: 203-6.
- Barnett B, Kryczek I, Cheng P, Zou W, Curiel TJ. Regulatory T cells in ovarian cancer: biology and therapeutic potential. *Am J Reprod Immunol* 2005; 54: 369-77.
- Hanel M, Bornhauser M, Muller J, Thiede C, Ehninger G, Kroschinsky F. Evidence for a graft-versus-tumor effect in refractory ovarian cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2003; 129: 12-6.
- Wei S, Kryczek I, Zou L, et al. Plasmacytoid dendritic cells induce CD8+ regulatory T cells in human ovarian carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65: 5020-6.
- Kryczek I, Lange A, Mottram P, et al. CXCL12 and vascular endothelial growth factor synergistically induce neoangiogenesis in human ovarian cancers. *Cancer Res* 2005; 65: 465-72.

Adres do korespondencji

prof. dr hab. med. **Andrzej Lange**
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN
ul. R. Weigla 12
53-114 Wrocław
tel. +48 71 337 11 72
faks +48 71 337 13 82
e-mail: lange@iitd.pan.wroc.pl