

RADIOSENZIBILIZAČNÍ A RADIOPROTEKTIVNÍ LÁTKY V LÉČBĚ NÁDOROVÝCH ONEMOCNĚNÍ (SE ZAMĚŘENÍM NA AMIFOSTIN)

RADIOSENZITISERS AND RADIOPROTECTORS IN THERAPY OF MALIGNANT DISEASES (AMIFOSTINE)

BURKOŇ P., PETÝREK P.*, SPURNÝ V.

ODDĚLENÍ KLINICKÉ A RADIAČNÍ ONKOLOGIE, FN U SV. ANNY V BRNĚ
*ÚSTAV RADIOBIOLOGIE A IMUNOLOGIE VLA JEP, HRADEC KRÁLOVÉ

Souhrn: Účinná terapie pacientů s nádorovým onemocněním by měla zahrnovat maximální zničení maligních buněk za minimálního poškození buněk zdravých tkání. Radio- a chemoterapie jsou však často spojeny s řadou nežádoucích účinků. Snížení toxicity protinádorové terapie a zvýšení kvality života onkologických pacientů je dnes věnována značná pozornost. Vedlejší účinky spojené s léčbou mohou krátkodobě i dlouhodobě nepříznivě ovlivnit kvalitu života, mohou být příčinou snížení aplikované dávky či zkrácení celkové doby léčby i přežití pacienta. Proto se dnes dostávají do popředí našeho zájmu látky, které zmírňují či eliminují některé nežádoucí účinky naší léčby. Jednou z možností, jak snížit toxicitu, je podání radio- či chemoprotektivních látek. Cytoprotekce zdravých tkání látkami ze skupiny aminosulfidů je jedním z nejslibnějších směrů výzkumu i klinické praxe. Amifostin chrání zdravé tkáně před poškozením radio- či chemoterapií. Ve srovnání s pacienty léčenými pouze radioterapií bylo při aplikaci radioterapie spolu s amifostinem prokázáno signifikantně méně závažných akutních i pozdních nežádoucích účinků léčby. Tento článek popisuje současné znalosti farmakodynamiky a farmakokinetiky amifostinu a možnosti jeho využití v léčbě různých nádorů. Také jsou zařazeny základní informace o radioprotektivních a radiosenzibilizačních látkách. Vzrůstající množství biochemických, preklinických a klinických zkušeností potvrzuje oprávněnost použití protektiv jako např. amifostinu ke zmírnění nežádoucích účinků radioterapie.

Klíčová slova: radioterapie, radiosenzibilizátory, radioprotektiva, radioprotekce, amifostin.

Summary: Effective therapy for patients with cancer should include maximal tumor cell killing with minimal injury to normal tissue. Radio- and chemotherapy for treatment of malignancies are often associated with significant toxicity. Much effort is being made to reduce the toxicity of treatment in order to improve the quality of life of cancer patients. Because toxicities associated with radio- and chemotherapy can adversely affect short- and long-term patient quality of life, they can limit the dose and duration of treatment, and may be life-threatening, specific agents designed to ameliorate or eliminate certain radio- and chemotherapy toxicities have been developed. One approach to reduce the toxicity is the concomitant treatment with radio- and chemoprotective agents. Cytoprotection of healthy tissue by thiol group donors is one of the most promising lines of research and clinical practice. Amifostine protects normal tissues from the damaging effects of irradiation and chemotherapy. Amifostine treated patients showed less acute radiation toxicity and significantly less severe delayed radiation toxicity in normal tissue compared with that in patients receiving radiation therapy alone. This paper presents current knowledge about amifostine pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in therapy of various malignant diseases. Basic knowledge about the effects of radioprotectors and radiosensitizers on radiotherapy is described in this article. The increasing body of biochemical, preclinical, and clinical data could justify the use of protectors such as amifostine with radiotherapy to provide improved therapeutic efficacy and quality of life for the patient.

Key words: radiotherapy, radiosensitizers, radioprotectors, radioprotection, amifostine

ÚVOD

Radioterapie patří k základním léčebným modalitám, které se používají v terapii nádorových onemocnění. Její význam byl v posledních letech výrazně posílen technickým pokrokem, který zavedením moderních zdrojů záření umožnil dosáhnout lepších terapeutických výsledků.

Obecným záměrem radioterapie je dodat do cílového objemu takovou dávku ionizujícího záření, která je schopna eradikovat nádorové buňky. Velikost této dávky je limitována tolerancí okolních orgánů a tkání na ionizující záření. Paprsky ionizujícího záření nejsou schopny vyhnout se zdravým tkáním a dochází tak k jejich poškození. Proto je dalším požadavkem na léčbu ionizujícím zářením ochrana zdravých tkání v ozářeném objemu. (28)

Obvyklým způsobem jak snížit nežádoucí účinky radioterapie je jednak omezení ozáření zdravých tkání tumoricidní dávkou (tzn. snížením celkové dávky), jednak pozastavení a odložení jednotlivých sérií radioterapie, aby se dopřál postiženým tkáním čas k reparaci. U chemoterapie nádorových onemocnění je tomu obdobně - omezení toxických příznaků spočívá především ve snížení dávek a v prodloužení celkové doby aplikace. Oba tyto přístupy mají za následek snížení účinku léčby na nádorovou tkáň.

Současný trend léčby nádorových onemocnění navíc zdůrazňuje intenzifikaci léčby řady nádorů na základě zjištění, že je tak možno dosáhnout lepší lokoregionální kontroly a prodloužit dobu přežívání pacientů. Ať je aplikována radioterapie nebo radiochemoterapie, vždy je nutné minimalizovat výskyt akutních nežádoucích účinků, které by mohly vést k nutnosti snížit dávku nebo způsobit zpoždění v aplikaci a ovlivnit tak intenzitu léčby. Dostatečné omezení pozdních nežádoucích účinků ozáření zmírňuje poškození funkcí ozářených orgánů a zlepšuje tak kvalitu života pacienta. Při dobré dlouhodobé prognóze pacientů s řadou nádorů je patrná enormní potřeba minimalizace pozdních následků.

Základním cílem radioterapie je tedy ozáření nádoru tumoricidní dávkou za minimálního poškození okolních tkání ionizujícím zářením.

V dnešní době chráníme zdravé tkáně v okolí nádorového ložiska především přesným plánováním ozáření cílového objemu pomocí simulátoru a počítačové techniky (CT, 3D plánování). Samozřejmostí je též použití moderních ozařovacích přístrojů (lineární urychlovač, radiokobalt). Nezbytnou součástí je i fungující systém zajištění kvality radioterapie a jeho dodržování všemi pracovníky. (28)

Do budoucna se otevírá celá škála možností, kterými se k tomu cíli můžeme ještě více přiblížit:

- 1) Jednou z nich je využití moderních technik ozáření, jako je např. konformní radioterapie (při trojrozměrném plánování léčby umožní cílenější ozáření nádoru), stereotaktické ozáření nebo použití záření s vysokým LET (znamená „hustší“ ionizaci a excitaci podél dráhy urychlené částice záření).
- 2) Další možností je potenciace záření fyzikálními vlivy, např. využití hypertermie nebo hyperbaroxie, které zvyšují účinek záření na hypoxické buňky.
- 3) Samostatnou kapitolou je možnost použití farmakologických látek, radioprotektiv nebo radiosenzibilizujících látek, které cíleně chrání před ozářením zdravé buňky, respektive zvyšují radiosenzitivitu nádorových buněk.
- 4) Léčebnou účinnost lze posílit též vhodnou kombinací radioterapie s ostatními metodami protinádorové léčby, např. použitím radiochemoterapie. (10)

RADIOSENZIBILIZACE

Ve většině případů, kdy se radioterapie aplikuje jako kurativní léčba, je výše radiační dávky limitována mírou tolerance tkání, které se nacházejí v radiačním poli. Aby se zlepšil terapeutický index radioterapie, byly zkoušeny dva základní přístupy:

- 1) použití radiosenzibilizujících látek
- 2) použití radioprotektivních látek

Účinná radiosenzibilizační látka musí selektivně zvyšovat senzitivitu tumorózních buněk, přičemž radiosenzitivita ostatních buněk zůstává nedotčena. V praxi se ukázalo, že tato cesta je méně přínosná díky vnitřní přirozené radiosenzitivitě většiny normálních tkání. Radioprotektiva se ukázala být slibnějšími látkami. Efektivní radioprotektivum musí chránit normální tkáň před účinky záření, přičemž vlastní buňky nádoru musí zůstat nechráněny.

Radiosenzibilizátory, ve vlastním slova smyslu, jsou látky, které nemají samostatný účinek na buňku, ale ve spojení s ozářením zvyšují jeho biologický efekt.

Elektronafinní látky

Při ozáření maligních nádorů významně rozhoduje o výsledku léčby ionizujícím zářením s nízkým LET radiorezistence hypoxických buněk. Hypoxické buňky jsou také nejpravděpodobnějším důvodem recidivy nádoru, protože dávka ionizujícího záření potřebná k jejich zničení často přesahuje toleranci normální zdravé tkáně, i když se během frakcionované radioterapie objevují biologické pochody reoxygenace. (27,32)

Jednou ze základních skupin látek, které mají schopnost zvýšit účinnost radioterapie na hypoxické buňky a jsou relativně netoxické pro lidský organismus, jsou nitroimidazoly. (10, 27, 32)

V 60. letech bylo prokázáno, že tyto látky mohou nahradit účinek kyslíku ve tkáních během ozáření akumulací volných radikálů. Proto jsou označovány jako látky elektronafinní. Kyslík se na rozdíl od těchto látek spotřebuje metabolismem nádorových buněk ležících v blízkosti kapilár a na vzdálenější buňky se ho již nedostává. Elektronafinní látky, které jsou jen málo metabolizovány, difundují dále a rovnoměrně se rozloží v nádorové tkáni. (27,32)

Nevýhodou aplikace elektronafinních látek jsou gastrointestinální potíže (nauzea, zvracení), hepatotoxicita, neurotoxicita, příznaky polyneuropatie sensorických vláken většinou v podobě tlaku – příznak „těsných rukavic a punčoch“, křečovitě stavy, zvláště dolních končetin aj. (27,32)

Do této skupiny látek patří – metronidazol (Entizol), misonidazol, etanidazol a nimorazol, který má mírnější vedlejší účinky než předchozí látky. (10,27,32)

S imidazoly byla provedena řada studií. Například, jak uvádí Perez (20), dvojité slepá randomizovaná studie měla prokázat

Tabulka č. 1: Incidence akutní a pozdní xerostomie (23)

	RT + amifostin	Pouze RT
Akutní xerostomie (≥ grade 2)		
Počet pacientů	51%	78%
Počátek příznaků	45 dní	30 dní
Průměrná kumulativní dávka	60 Gy	42 Gy
Pozdní xerostomie		
Stupeň 0	16%	11%
Stupeň 1	49%	32%
Stupeň 2 a více	34%	57%

Tabulka č. 2: Zhodnocení léčby po 18 měsících (23)

Výsledek léčby po 18 měsících	RT + amifostin	Pouze RT
Hodnota lokoregionální kontroly	61%	64%
Hodnota přežívání bez příznaků choroby	63%	63%
Celková doba přežívání	81%	73%

pozitivní efekt misonidazolu při ozáření nádorů hlavy a krku. Nebylo však dosaženo signifikantně vyšší lokální kontroly nádorů než ve skupině pacientů, kterým bylo podáváno placebo. Podobných výsledků dosáhly studie s pokročilým nádorem plic, nádorem děložního čípku či jaterními metastázemi. Lepších výsledků bylo dosaženo ve studii s nimorazolem při léčbě nádorů hlavy a krku (opět uvedená studie). Bylo zjištěno signifikantní zvýšení lokální kontroly nádorů v imidazolové skupině oproti skupině léčené jen zářením (52% oproti 33% za 4 roky).

Z nových preparátů se zkouší tirapazamin, který patří mezi biologicky modifikované cytotoxiny. Tyto látky jsou enzymaticky aktivovány v buňkách na látky cytotoxické, které selektivně ničí hypoxické buňky. Tirapazamin je předmětem dalších výzkumů. (20)

Mezi radiosenzibilizátory řadíme i některá cytostatika

Blokátory reparačních pochodů po ozáření

Aktinomycin D představuje cytostatikum ze skupiny antibiotik, které potlačuje reparační pochody po ozáření. Při jeho kombinaci s ozářením je nutné redukovat dávku ozáření. Působí radiopotenciačně již při nízkých dávkách, které ještě nepůsobí cytostaticky. Podobně účinkuje také Adriamycin. (10,27)

Synchronizátory

Nádorové buňky jsou asynchronní buněčná populace, tzn. že se nacházejí v různých fázích buněčného cyklu. Podaří-li se soustředit nádorové buňky v radiosenzitivní fázi a nádor v té době ozářit, je účinek záření vyšší.

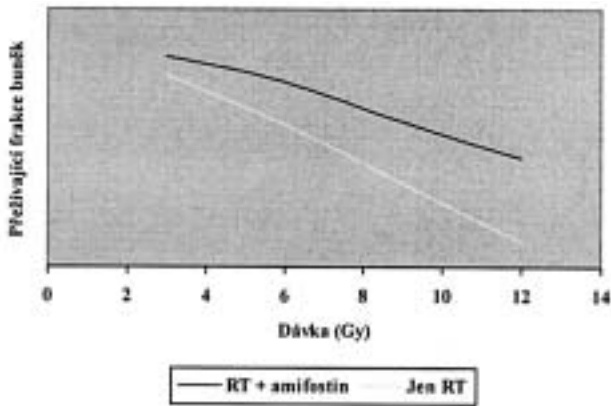
Takové synchronizace se dá dosáhnout použitím některých cytostatik, např. 5-fluorouracilu (5-FU). Působením 5-FU dochází k reverzibilnímu potlačení vestavby thymidinu do DNA buňky, čímž je porušena její syntéza a buňky se hromadí na počátku S fáze. Po ukončení tohoto bloku pokračují buňky v cyklu a za určitou dobu se dostanou na přechod G₂ a M fáze, tedy do fáze radiosenzitivní. Ozáříme-li nádor v tuto dobu, je vyšší pravděpodobnost cíleného zásahu. (27,32)

Radiomimetika

Některá protinádorová antibiotika polypeptidové povahy (např. bleomycin) působí zlomy v jednom, popřípadě v obou řetězcích DNA. Rozštěpují tedy molekulu DNA. Protože působí stejným mechanismem jako ionizující záření, a navíc ve stejných fázích buněčného cyklu, označují se jako radiomimetika. Při vyšších dávkách bleomycinu v kombinaci se zářením se zvyšuje počet těchto zlomů a tím je větší pravděpodobnost dvojitých (ireparabilních) zlomů. Tento účinek je zprostředkovan kyslíkovými radikály, které vznikají z komplexu bleo-

Obrázek č. 1: Pokles přežívající frakce buněk při aplikaci amifostinu 30 minut před ozářením (6, 7, 25)

Aplikace amifostinu 30 minut před ozářením



mycinu se železem jako výsledek mnohastupňové reakce. Význam pro posílení protinádorového účinku má i současná inhibice ligáz, které by mohly defekty vzniklé v molekule DNA opravit. (10,27,32)

RADIOPROTEKCE

Již téměř 50 let jsou známy radioprotektivní účinky některých chemických látek. Zkoumají se v zájmu ochrany zdravých tkání pacientů, kteří pro onkologické onemocnění podstupují intenzivní protinádorovou léčbu. Také je nutná individuální ochrana osob před účinky ionizujícího záření při odstraňování následků havárií jaderných zařízení či v průběhu jaderného válečného konfliktu. I další pronikání člověka do vesmíru je nutně spojeno s rozvojem radioprotektivních opatření. (14)

Dělení radioprotektiv

Z praktického hlediska je vhodné rozdělit radioprotektivní látky podle délky jejich účinku na látky s krátkodobým a dlouhodobým účinkem:

1. Radioprotektivní látky s krátkodobým účinkem jsou určeny k jednorázové ochraně před akutním zevním ozářením. Krátkodobým účinkem myslíme řádově minuty až hodiny. Tyto látky nebo jejich kombinace je možno aplikovat téměř jedinci opakovaně. Použití těchto prostředků připadá v úvahu před každým radioterapeutickým lokálním ozářením, event. před vstupem do radioaktivního prostředí.
2. Radioprotektiva s dlouhodobým účinkem jsou určena k navození déle trvající radiorezistence organismu. Nástup ochranné účinnosti zpravidla vyžaduje prodloužení intervalu mezi podáním takové látky a ozářením přibližně na 24 hodin. Někdy je nutné opakované podání. Praktická aplikace je možná u profesionálních pracovníků s ionizujícím zářením nebo u kosmonautů při dlouhodobých kosmických letech.

Protože nositeli krátkodobých účinků jsou z velké většiny látky chemické povahy, hovoříme také o chemické radioprotekci, zatímco dlouhodobé ochranné účinky vznikají po podání látek biologického původu, proto hovoříme o radioprotekci biologické. (14)

Chemická radioprotektiva:

Současně chemické radioprotektivní látky rozdělujeme do dvou základních skupin:

- radioprotektiva obsahující síru a
- deriváty indolylalkylaminů. (14)

Radioprotektiv obsahujících síru je celá řada. Mezi nejvýznamnější z hlediska radioprotektivních účinků řadíme:

- CYSTAMIN a CYSTEAMIN (aminothioly, účinky objeveny v r. 1951)

- AMINOETYLIZOTIOURONIUM (AET, derivát thiomocoviny, z r.1955)
- AMIFOSTIN (WR-2721) a CYSTAFOS (deriváty kyseliny thiofosforečné, 1969)
- CITRIFOS a ADETURON (sloučeniny cysteaminu a AET s adenosintrifosfátem, 1981)
- MERKAPTOPROPIONYLGLYCIN (MPG, 1980).

Mezi deriváty indolylalkylaminů patří:

- SEROTONIN a MEXAMIN (přirozeně se vyskytující látky, jejich radioprotektivní účinek byl popsán v letech 1962 a 1963).

Základním rozdílem mezi těmito skupinami látek není jen jejich chemická struktura, ale také mechanismus účinku. Radioprotektivní účinek látek obsahujících síru probíhá především vychytáváním kyslíkových radikálů vznikajících při ozářením (podrobně viz dále účinky amifostinu). Deriváty indolylalkylaminů na druhé straně zvyšují radiorezistenci tkání hlavně rozvojem hypoxie, která vzniká jejich vasokonstrikčním farmakologickým účinkem. (14)

Biologická radioprotektiva:

Celá řada netoxických biologických látek může dlouhodobě zvyšovat odolnost organismů proti ozářením. Jsou to látky, které zvyšují celkovou odolnost organismu, rezistenci vůči infekci nebo stimulují krvevornou aktivitu.

Určitou radioprotektivní účinnost při podání pokusným zvířatům (zejména myším a krysám) před ozářením měly (14):

- endotoxiny a polysacharidy izolované z bakterií kmenů *Salmonella typhi*, *paratyphi* či *Proteus vulgaris*
- vitamín C, kyselina nikotinová, kyselina panthotenová a vitamín E
- rostlinné extrakty, například z ženšenu, z pohanky
- antibiotika, například streptomycin
- pohlavní hormony (zejména estradiol)
- mléko podané intraperitoneálně
- parenterálně podaná citrátová krev
- heparin, reserpin a insulin aj.

Tyto biologické radioprotektivní látky mají řadu společných vlastností. Je nutná jejich aplikace zpravidla jeden den, ale i více dní před radioterapií, protože při podání bezprostředně před ozářením nejsou účinné. Ochranná radioprotektivní účinnost těchto látek je proti chemickým radioprotektivům podstatně nižší. U většiny z nich je pozorován stimulační efekt na krvevornou aktivitu, který je považován za podstatu ochranného účinku těchto látek. (14)

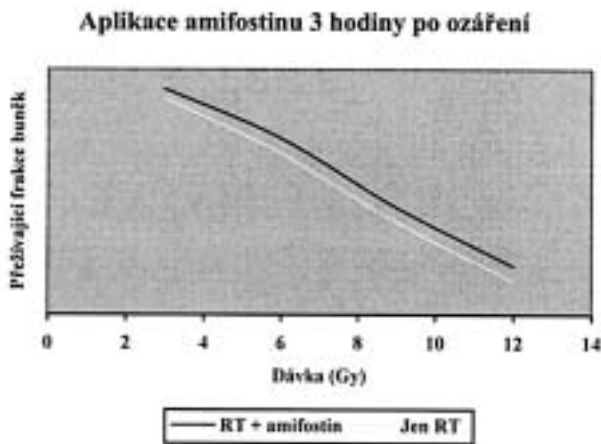
Ideální radioprotekce

Snahou klinických lékařů je používat radioprotektivní látky s minimálními nežádoucími účinky a maximálním efektem. „Ideální“ radioprotektivní látka by měla mít tyto základní vlastnosti:

- možnost podávání cytoprotektiva před nebo současně s vlastní léčbou
- cytoprotektivní účinek je selektivní pouze vůči zdravým buňkám
- cytoprotektivní účinek brání vzniku toxického poškození při radioterapii, chemoterapii, nebo snižuje míru takového poškození
- cytoprotektivní látka nesnižuje protinádorový účinek léčby
- cytoprotektivní látka samotná je dobře tolerována a vykazuje minimální míru toxicity

Pouze amifostin zatím nejlépe vyhovuje všem výše uvedeným charakteristikám ideální cytoprotektivní látky. Preklinické a klinické studie prokázaly, že amifostin je vysoce selektivní k normálním tkáním a může tak omezit jak toxické účinky radioterapie, tak cytotoxické chemoterapie. Proto je v současné době považován za globální standard pro srovnávací studie, při dalším vývoji cytoprotektiv. (6)

Obrázek č. 2: Pokles přežívající frakce buněk při aplikaci amifostinu 30 minut po ozáření (6, 7, 25)



AMIFOSTIN

Amifostin (Ethyol, WR-2721) je jednoduchý aminothioliol, který je produktem vývojového programu zahájeného v roce 1959 ve „Walter Reed Institute of Research“ armády Spojených států. Výzkum byl zaměřen na syntézu a testování látek určených k protekci pracujících s ionizujícím zářením. V rámci tohoto programu bylo v letech 1959 až 1965 syntetizováno a testováno na 4000 látek. (21)

Využití aminothioliolových sloučenin jako radioprotektivních látek popsal Patt a spol. již v roce 1949 (19). Cystein podaný myším před letálním rentgenovým ozářením zabránil postradiačnímu uhynutí velkého počtu zvířat.

V dalších pokusech se zjistilo, že amifostin může selektivně chránit normální buňky, kdežto buňky maligního nádoru ponechává vystavené účinkům radiace a cytotoxicity alkylačních preparátů. Toto podnítilo intenzivní výzkum, který měl zjistit, zda se amifostin hodí jako cytoprotektivní preparát chránící zdravé tkáně před vedlejšími toxickými účinky spojenými s radioterapií a chemoterapií. Završením těchto pokusů bylo jeho uvedení na trh jako léčiva k potlačení nefrotoxických účinků a neutropenie při terapii cisplatinou.

Dále následovaly a stále pokračují studie ověřující jeho protektivní účinky před nežádoucími účinky radioterapie a chemoterapie v nejrůznějších klinických indikacích. (9, 29, 31)

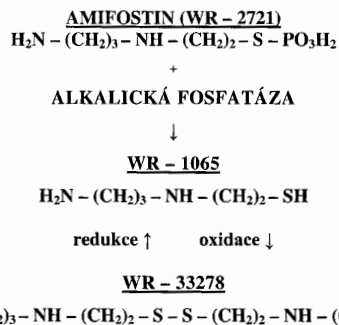
Mechanismus účinku amifostinu

Amifostin inaktivuje prostřednictvím své SH-skupiny volné kyslíkové radikály, které vznikají v buňce působením ionizujícího záření nebo cytostatik. Navíc v poškozených tkáních usnadňuje reparaci poškozené DNA.

Struktura amifostinu a jeho metabolismus

Jak ukazuje schéma, amifostin je prekurzor (prolék), který je inaktivní až do okamžiku, kdy je v cílové tkáni defosforylován alkalickou fosfatázou. Tím vzniká metabolit WR-1065. Tato sloučenina s volnou SH skupinou je dále přeměněna intracelulárními redoxními (oxidačně redukčními) reakcemi na disulfidickou (SS) sloučeninu WR-33278, která má podobnou strukturu a funkci jako některé polyaminy, např. spermin.

Cytoprotektivní účinek amifostinu je dán především intracelulární koncentrací aktivního metabolitu WR-1065. Amifostin sám prakticky nevstupuje do buněk, především díky koncové části své molekuly, která je tvořena kyselou fosfotioliolovou skupinou. Při enzymatické aktivaci dochází pomocí alkalické fosfatázy k defosforylaci v oblasti této skupiny. Vzniklý defosforylovaný thiol WR-1065 již snadno pomocí pasivní difúze proniká do buněk. (3, 6, 17, 25)



Je to právě potřeba enzymatické aktivace, která odpovídá za specifitu cytoprotektivního účinku amifostinu. Alkalická fosfatáza je, jako membránově vázaný enzym, přítomná ve vysoké koncentraci ve zdravých tkáních, především v endotelu krevních kapilár. Rovněž pH zdravých buněk a tkání je z hlediska optimální aktivity alkalické fosfatázy příznivé. Naopak nízká vaskularizace, hypoxie a nižší pH v nádorových tkáních neumožňují dostatečnou přeměnu amifostinu na jeho aktivní metabolity a jejich následný vstup do nádorových buněk. Tímto způsobem je zajištěn selektivní protektivní účinek pro zdravé a nikoliv pro buňky nádorové. (3,6,25)

Účinek obou metabolitů

Radioprotektivní účinky mají obě sloučeniny, WR-1065 i WR-33278, mechanismus jejich působení je však odlišný. Zatímco význam WR-1065 spočívá především v jeho cytoprotektivním účinku, který se uplatňuje pouze v době, kdy jsou buňky vystaveny ionizačnímu záření nebo cytotoxickým látkám, je WR-33278 naproti tomu aktivní ještě několik hodin po ozáření a zdá se, že omezuje radiací vyvolané mutace podobným mechanismem jako polyaminy. (25,26)

Účinek WR - 1065

Vlastní radioprotektivní účinek WR-1065 spočívá v tom, že je donátorem vodíkového iontu (H^+) z koncové sulfhydrylové skupiny (SH^-), který inaktivuje reaktivní skupiny molekul cytostatika anebo přítomné volné radikály vznikající v buňce působením ionizujícího záření nebo cytostatik (především alkylačních látek, platinových derivátů či antacyklinů).

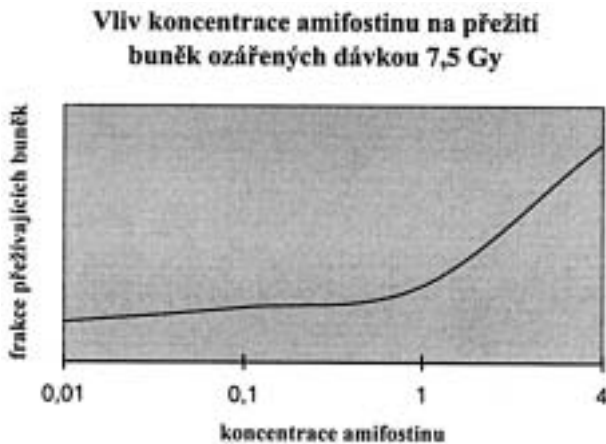
Vzhledem k tomu, že kyslíkové radikály jsou zahrnuty v procesech buněčného stárnutí, buněčné transformace, mutagenese a karcinogeneze, lze očekávat, že látky mající schopnost je inaktivovat – lapat - hrají významnou roli v buněčné cytoprotekci. Protože biologický poločas volných radikálů je extrémně krátký (méně než 10-5 s) lze cytoprotektivní účinek očekávat pouze v případě, že lapač kyslíkových radikálů, v našem případě WR - 1065 je přítomen již při zahájení ozařování. (6,7,25)

Tato zjištění poukazují na důležitost správného načasování podání amifostinu. Jak ukazují obrázky č. 1 a č. 2, je-li amifostin podán 30 minut před ozářením, zajistí ozařovaným buňkám radioprotekci (zvýšení frakce přežívajících buněk po ozáření), je-li však podán v intervalu 3 hodin po ozáření, cytoprotektivní efekt se ztrácí. (6,7,25)

Význam koncentrace WR - 1065 z hlediska cytoprotektivního účinku amifostinu ukazují obrázek č.3. Porovnáme-li poměr frakcí buněk přežívajících dávku záření 7,5 Gy vidíme, že nižší koncentrace WR - 1065 poskytují jen minimální cytoprotekci, zatímco při vyšších koncentracích roste cytoprotektivní účinek násobně v závislosti na koncentraci. (6,7,25)

WR-1065 prostřednictvím volné sulfhydrylové skupiny (SH) také působí v místech poškození DNA, kdy usnadňuje rychlou neenzymatickou reparaci poškození. Specifický transportní protein zajišťuje cílený transport WR - 1065 na ta důležitá místa v jaderném chromatinu, která jsou rozhodující pro udržení integrity DNA a která je proto důležité chránit před účinkem

Obrázek č. 3: Vliv koncentrace amifostinu na přežití buněk ozářených dávkou 7,5 Gy (6, 7, 25)



kyslíkových radikálů. (6,8) Indukce antioxidačních procesů vyvolává intracelulární hypoxii, která významně snižuje účinek záření na buňky. (6)

Mechanismy radioprotekce WR – 1065 tedy zahrnují:

- zachycení volných radikálů.
- dodání atomu vodíku zlepšuje přímou chemickou reparaci v místech poškození DNA
- indukce antioxidačních procesů vyvolává intracelulární hypoxii.(21)

Účinek WR - 33278

V případě amifostinu byl za jediný aktivní metabolit považován právě popsaný WR – 1065, zatímco WR–33278 byl považován za nefunkční. Jak přibývá poznatků o významu poly-aminů pro mnohé intracelulární pochody, roste i zájem o možný význam disulfidů v těchto procesech. Zájem vychází z nápadné podoby polyaminů (například sperminu) a disulfidů, vznikajících při přeměně amifostinu (WR – 33278). (4,6)

WR–33278 se akumuluje především v jádře, kde se váže na nukleární proteiny a DNA a pravděpodobně se účastní řady intracelulárních pochodů, které mají vliv na stabilizaci chromatinu, syntézu DNA, aktivitu kinázových enzymů, expresi genů a tvorbu terciální a kvartérní struktury proteinů. Tedy na procesy, které ovlivňují mutagenézi. (4,6)

Jsou-li buňky vystaveny účinku neutronového záření, frekvence mutací vzroste zhruba o dva řády. Přidání amifostinu dokáže frekvenci snížit přibližně v rozsahu jednoho řádu. Přitom se antimutagenní účinek významně neliší s ohledem na dobu, frekvenci či dávku podaného amifostinu. (4,6)

Shrnutí

Amifostin má mnoho vlastností požadovaných po ideálním radioprotektivu:

- je podáván v inaktivní formě, která jen pomalu proniká do intracelulárního prostoru;
- jeho aktivace alkalickou fosfatázou, která je přítomná ve vysokých koncentracích v kapilárách a na povrchu normálních, netumorózních buněk, probíhá extracelulárně;
- po aktivaci se účinná forma dostává do nitra buněk rychle pasivní difúzí;
- poskytuje ochranu jak přímo během působení cytotoxické noxy, tak proti jejím pozdním následkům. (21,22)

Farmakokinetika amifostinu

Amifostin rozpuštěný ve vodě a podaný parenterálně se vstřebává velmi rychle. Již za 5 minut po jeho intraperitoneálním, nitrovalovém či podkožním podání byl prokázán na myších modelech nepochybný ochranný efekt před smrtícími účinky dávek celotělového gama ozáření. (14)

Studie prokázaly, že amifostin je rychle eliminován z plazmy nejspíše díky jeho rychlé konverzi na WR – 1065. Zdá se však, že eliminace je při aplikaci vyšších dávek saturačně omezená. Ve srovnání s krátkým poločasem amifostinu v séru (méně než 5 minut) je průměrný poločas volné thiolové formy (WR – 1065) asi 7 hodin a disulfidové formy (WR – 33278) asi 10 hodin. Poměrně nízké stopy amifostinu a jeho metabolitů jsou nalézány v moči, i když konečný osud většiny dávky je dosud nejasný. (12,13,24)

Rychlost vstřebávání a nástup účinku je důležitý faktor z hlediska praktického použití. V řadě studií, které ve své práci popisuje Kuna (14), byla zkoumána rychlost vstřebávání a tkáňová distribuce označeného S³⁵-amifostinu. Bylo prokázáno, že po i.m. aplikaci je ochranné účinnosti dosaženo během 15 až 30 minut, zatímco po p.o. podání je nástup účinku za podstatně delší dobu a stupeň poskytované ochrany je nižší. K dosažení srovnatelného účinku je pro p.o. podání nutné zvýšit dávku přibližně třikrát.

Vstup amifostinu do různých tkání je odlišný; při sledování označeného S³⁵-amifostinu bylo největší nahromadění jeho aktivity zjištěno v kostní dřeni, slinných žlázách, střevní sliznici, játrech a v kůži, což koreluje s radioprotekcí v těchto tkáních. U těchto tkání se koncentrace látky zvyšuje po aplikaci rychle. Pomalé zvyšování koncentrace bylo zaznamenáno v srdci. Nízká akumulace byla stanovena v kosterním svalu, periferní krvi a prakticky žádná aktivita nebyla zaznamenána v mozku.

Vedlejší účinky amifostinu

Ke zjištění bezpečnosti a účinnosti amifostinu při použití u pacientů procházejících radioterapií bylo provedeno několik studií fáze I a II, které prokázaly, že amifostin je bezpečný a účinný v dávkách mezi 100 mg a 910 mg/m². Počáteční studii prováděla RTOG (Radiation Therapy Oncology Group, (11)). Uvedla, že amifostin může být bezpečně aplikován v 15-ti minutové intravenózní infuzi v dávce 340 mg/m² před zahájením frakcionované radioterapie prováděné 4 dny v týdnu po 5 následujících týdnů a v dávce 900 mg/m² dvakrát týdně před ozářením poloviny těla.

Při podání amifostinu v dávkách nižších než 250 mg/m² se neobjevily žádné nepříznivé účinky. Rovněž nebyla popsána pozdní orgánová toxicita při aplikaci dávek od 50 mg do 1330 mg/m² a nedošlo k žádnému úmrtí ve vztahu k léčebnému použití amifostinu.(16,23)

Při aplikaci dávek vyšších než 250 mg/m² popsali Turrisi aj.(30) nepříznivé účinky jako jsou zvracení, hypotenze, spavost a kýchání u 201 pacientů, kteří obdrželi jednu dávku látky. Při opakované aplikaci amifostinu v dávkách 100 až 450 mg/m² během 5 minut, 15 - 30 minut před frakcionovanou radioterapií po dobu 3 - 6 týdnů, bylo zjištěno, že jako ve studiích s jednorázovou aplikací, zvracení (33%), hypotenze (31%), somnolence (13%) a kýchání (17%) jsou nejčastější společné nepříznivé účinky po aplikaci amifostinu.

Jiné, méně významné společné účinky spojené s aplikací amifostinu v těchto studiích zahrnovaly pocit chuti kovu, zčervenání v obličeji, které se obvykle objevuje při ukončení infuze, idiosynkratické reakce zahrnující horečku a vyrážku, ochablost, škytavku a pocit chladu. (21)

K poznání příčiny hypotenze účinku amifostinu přispěli Yuhas a spol. (31), když zjistili, že za jednu hodinu po i.p. podání dávek 100 – 600 mg/kg amifostinu myším, dochází k nahromadění asi 20% krevního objemu ve slezině následkem mohutné vasodilatace se současným omezením krevního zásobení zbylých tkání.

Při aplikaci amifostinu je tedy nutné počítat s rozvojem nechutenství, popřípadě zvracení. U většiny pacientů účinkuje při jejich zvládnutí podání standardních antiemetik. Osvědčila se i.v. aplikace kortikoidů či setronů 1 hodinu před vlastní aplikací. Pokud bychom antiemetikum podali perorálně, je nutné jeho podání minimálně 3 hodiny před aplikací amifostinu.(6,23)

Pokles krevního tlaku v průběhu nebo bezprostředně po ukončení infuze amifostinu bývá přechodný a obvykle se upravuje do pěti minut po přerušení nebo ukončení infuze. Jako prevence vzniku hypotenze se doporučuje dostatečná hydratace pacienta. Pacient by měl být v průběhu aplikace uložen na lůžku a po jejím ukončení zůstat v této poloze nebo vsedě zhruba dalších 5 minut. Systolický krevní tlak by měl být monitorován v intervalu pěti minut. Pokud dochází k poklesu systolického tlaku o více než 20 mm Hg, je nutno infuzi přerušit a vyčkat úpravy na původní hodnoty. Pokud se tak nestane, je nutné aplikaci ukončit a při dalším podávání snížit dávku amifostinu o 20%. (6,23)

Častým nežádoucím účinkem je pokles hladiny sérového kalcia. Proto by každý pacient před podáním amifostinu měl mít stanovenou výchozí hladinu kalcia. Mimořádnou pozornost je nutné věnovat pacientům s již existující hypokalcémií jakéhokoliv původu. (5,6,23)

Protektivní účinky amifostinu a jeho klinické využití v praxi

Amifostin je účinné radioprotektivum s preferencí pro normální tkáň, především slinné žlázy, sliznice a kostní dřeň, které zabraňuje toxickým účinkům vyvolaným radio- nebo chemoterapií. Protože amifostin selektivně chrání normální buňky, kdežto tumorózní ne, dochází při jeho aplikaci v průběhu terapie k plné expozici nádoru účinkům záření či chemoterapie. Účinnost amifostinu při ochraně normálních tkání před radiačním poškozením při radioterapii byla sledována v řadě studií. Mezi nejrozsáhlejší patří práce s aplikací amifostinu při léčbě nádorů hlavy a krku. (22)

Nádory hlavy a krku

První práce, které zkoumaly účinnost amifostinu ve smyslu jeho potenciálu omezit výskyt xerostomie u pacientů po ozáření hlavy a krku, byly provedeny v Japonsku v 80. letech (18). U pacientů, kteří obdrželi dávku nad 30 Gy, měl amifostin v dávce 100 mg výrazný vliv na zachování funkcí slinných žláz po 6 a více měsíců následujících po ozáření.

Tyto výsledky podnítl zahájení studií fáze II v USA (16) s dávkováním 100–200 mg/m² v šestiminutové i.v. infuzi před zahájením frakcionované radioterapie (1,8–2,0 Gy denně, 5 dní v týdnu, po 6 až 7 týdnů). Funkce parotických žláz byla posuzována podle scintigrafie prováděné ^{99m}Tc – technecianem. Přestože byly aplikovány dávky nad 45 Gy, funkce se vrátila po 18 měsících na asi 54 % původních hodnot.

Rozsáhlá, randomizovaná studie fáze III sledující cytoprotektivní účinnost amifostinu u 315 pacientů s karcinomem hlavy a krku byla dokončena v roce 1999 Sauerem a spol. (23). Pacienti byli randomizováni před radioterapií (1,8 až 2 Gy denní frakce, celková dávka 50 až 70 Gy), buď s nebo bez kombinace s amifostinem, který byl aplikován v dávce 200 mg/m² během třímínutové infuze před každým ozářením.

Primárním úkolem této studie bylo rozhodnutí, zda amifostin může snížit incidenci akutní a pozdní xerostomie (> stupeň 2) a akutní mukozitidy (stupeň 3 nebo 4), aniž by došlo ke snížení antitumorózní účinnosti radioterapie.

Akutní (do 90 dní) a pozdní (90 dní až 2 roky) nežádoucí účinky terapie byly klasifikovány ošetřujícím lékařem podle kritérií postradiační morbidity používaných RTOG, symptomy související s xerostomií byly posuzovány na základě dotazníku. Zachování funkce slinných žláz bylo hodnoceno objektivně podle přímého měření objemu vytvářených slin (bez i se stimulací). Ve studii byla tak posuzována xerostomie na podkladě lékařských vyšetření, pacientova subjektivního hodnocení i objektivního měření. Léčebný efekt byl hodnocen podle dosaženého stupně lokoregionální kontroly tumoru, času bez přítomnosti choroby a celkové doby přežívání.

Průměrný věk pacientů byl 56 let, většina měla primární tumory stupně T2–T4 lokalizovaných v orofaryngu, ústní dutině a v laryngu s postižením lymfatických uzlin. Pacienti zařazení do studie měli > 75% objemu parotických žláz v radiačním

poli, Karnofského index > 60, bez přítomnosti metastáz, adekvátní hematologické, renální a hepatální funkce.

Incidence akutní xerostomie (> stupeň 2), jak ukazuje tabulka č.1, byla podstatně nižší u pacientů, kteří dostávali amifostin (51% oproti 78%) a průměrná doba, než se objevily příznaky stupně 2, byla signifikantně delší u téže skupiny (45 dnů oproti 30 dnům). Pacienti, kteří dostávali amifostin tolerovali podstatně vyšší kumulativní dávky ozáření (v průměru 60 oproti 42 Gy) do nástupu xerostomie stupně 2. Incidence pozdní xerostomie za rok po léčbě byla signifikantně nižší u pacientů, kterým byl podáván amifostin (34% oproti 57%).

Incidence pozdní xerostomie, viz též tabulka č.1, souhlasila s analýzou produkce slin po 1 roce, která potvrdila, že signifikantně větší část pacientů ve skupině radioterapie s amifostinem byla schopna bez stimulace vytvořit dostatečný objem slin na rozdíl od skupiny pacientů léčené pouze radioterapií (72% oproti 49%).

Pacienti vyplňovali dotazník před zahájením terapie, v jejím průběhu a při každé kontrole. V dotazníku se zjišťoval pocit sucha v ústech, obtíže při mluvení a jídle a potřeba tekutin a ústních sprejů. Po vyhodnocení byl prokázán pozitivní účinek amifostinu ve smyslu zlepšení příznaků xerostomie.

Podávání amifostinu, viz tabulka č.2, nemělo žádný negativní účinek na lokoregionální kontrolu tumoru, přežívání bez příznaků nemoci a celkovou dobu přežívání. Hodnoty lokoregionální kontroly tumoru a přežívání bez příznaků nemoci po 18 měsících byly obdobné v obou skupinách. Signifikantní rozdíl byl však patrný v celkové době přežívání ve prospěch pacientů, kteří dostávali amifostin (81% oproti 73% ve skupině jen s zářením).

Další poznatek účinnosti amifostinu vyplývá z práce uvedené Antonadouem a spol. (1). Padesát pacientů bylo léčeno týdenními cykly carboplatiny (90 mg/m²) v kombinaci s frakcionovanou radioterapií (2 Gy/den, 5x týdně, 6 týdnů) buď s nebo bez podávání amifostinu v dávce 300 mg/m². Ve skupině pacientů, jimž byl podán amifostin bylo pozorováno signifikantní snížení incidence pozdní xerostomie a incidence akutní mukozitidy stupně 3 a 4. Byla také uvedena tendence ke zlepšení lokoregionální kontroly tumoru po 18 měsících (83% oproti 76% bez amifostinu).

Studie publikovaná Bourhisem a spol. (2) u 24 pacientů léčených 2x denně frakcemi ozáření (1,9 Gy na frakci) také potvrdila signifikantní omezení závažnosti akutní mukozitidy a snížení incidence mukozitidy stupně 4 u pacientů, kteří dostávali amifostin v dávce 100 mg/m² před každou frakcí.

Nádory štítné žlázy

Zhoršení funkce slinných žláz je také významnou komplikací léčby vysokými dávkami radiojodu. Jako radioprotektivní látka byl králikům aplikován amifostin v dávce 200 mg/kg před aplikací radiojodu. Amifostin byl aplikován i pacientům s karcinomem štítné žlázy v dávce 500 mg před aplikací 6 GBq ¹³¹I. Výsledky získané u laboratorních zvířat i u pacientů potvrdily, že po aplikaci amifostinu došlo k významnému snížení poškození parenchymálních funkcí slinných žláz., což vede ke zlepšení kvality života pacientů po léčbě. (22)

Nádory rekta

Dále byl studován efekt amifostinu při léčbě rektálního karcinomu. Liu a spol. (15) provedl v Číně randomizovanou studii s použitím radioterapie a amifostinu při paliativní léčbě inoperabilního, neresekabilního či recidivujícího adenokarcinomu rekta.

Sto pacientů s adenokarcinomem rekta bylo ozařováno s nebo bez amifostinu. Amifostin byl aplikován intravenózně v dávce 340 mg/m² 15 min před ozářením, 4 dny v týdnu (středně vynechána) po dobu 5 týdnů. Vnitřní pánev byla ozařována dávkou 2,25 Gy na frakci do celkové dávky 45 Gy.

Medián přežití pacientů léčených zářením a amifostinem byl 15 měsíců, zatímco u pacientů léčených samotnou radioterapií byl pouze 12,3 měsíce. Kompletní odpověď na léčbu byla zjištěna u 16% pacientů s kombinovanou léčbou oproti pou-

hým 10% pacientů, kteří byli léčeni pouze zářením. Tyto výsledky potvrdily, že při aplikaci amifostinu nedochází k žádné protekci nádorových buněk.

Při sledování pacientů byla též hodnocena incidence pozdních nežádoucích účinků ozáření. Z 37 pacientů léčených jen radioterapií došlo u pěti k rozvoji lehkých či závažných komplikací v oblasti močového měchýře nebo rektální sliznice. Na druhé straně, ani u jednoho ze 34 pacientů léčených kombinovanou terapií nebyly žádné kožní ani slizniční komplikace popsány.

Nádory plic

Byl studován i společný radiochemoprotektivní účinek amifostinu při léčbě inoperabilního nemalobuněčného karcinomu plic III.klinického stadia. Pacientům byl amifostin aplikován v dávce 740 nebo 910 mg/m² před podáním cisplatinu (120 mg/m²) 1.a 29. den. Před aplikací vinblastinu v dávce 120 mg/m² 1x týdně po dobu 5 týdnů amifostin podáván nebyl. Po chemoterapii byl amifostin v dávce 340 mg/m² aplikován 4x v týdnu po dobu 5 týdnů, nebo v dávce 200 mg/m² 5x týdně po dobu 6 týdnů 15 min před ozařováním hrudníku. Radioterapie byla prováděna do celkové dávky 60 Gy za 6 týdnů. Získané výsledky svědčí o tom, že amifostin může být v uvedeném léčebném schématu aplikován bez nebezpečí, že zhorší odpověď na léčbu. Přestože po chemoterapii došlo u 11 pacientů k neutropenii 4. stupně a u 7 pacientů 3. stupně, nedošlo k žádné septické smrti. Amifostin signifikantně snížil cisplatinou vyvolanou nefrotoxicitu a také nebyly u pacientů pozorovány žádné příznaky neurotoxicity.

Nežádoucí účinky po radioterapii byly velmi mírné. Byla popsána pouze esofagitida a myelosuprese ne výraznější než 2. stupně. (22)

Nádory děložního čípku

Amifostin byl aplikován společně s cisplatinou, zevním ozářením a brachyterapií 19 ženám s karcinomem děložního čípku. Cisplatinu byla podávána v dávce 20 mg/m² denně po 5 dní každé tři týdny v kombinaci se zevním ozářením do celkové dáv-

ky 39,6 Gy a pak v dávce 100 mg/m² po brachyterapii, jako strategie zlepšení lokální účinnosti ozáření a snížení pozdního poškození léčbou. Amifostin v dávce 340-910 mg/m² byl aplikován 15 min bezprostředně před infuzí cisplatinu.

Při srovnání s historickými kontrolami amifostin redukoval výskyt poškození krvetvorby, zářením vyvolané poškození sliznic a cisplatinou vyvolanou ototoxicitu. (22)

ZÁVĚR

Bezpečnost a účinnost podávání amifostinu byla jasně potvrzena u pacientů s karcinomem hlavy a krku, kteří byli léčeni radioterapií nebo radiochemoterapií. Získané výsledky dokazují, že amifostin je účinné cytoprotektivum poskytující značný stupeň ochrany zdravým tkáním na rozdíl od tkáně maligního nádoru. Amifostin omezuje jak toxické účinky radioterapie, tak nefrotoxické a hematologické účinky spojené s chemoterapií. Jeho význam je zvláště patrný se vzrůstajícím počtem kombinovaných režimů. Na základě slibných výsledků u pacientů s dalšími typy nádorů (zejména s karcinomem plic a rektálním karcinomem) jsou očekávány výsledky probíhajících studií, které se těmito indikacemi zabývají. Naše pracoviště se v letošním roce zapojilo do léčebného protokolu pro léčbu inoperabilních nádorů hlavy a krku, který probíhá na některých onkologických pracovištích naší republiky. Tito pacienti jsou léčeni neoadjuvantním podáním dvou sérií chemoterapie režim cisplatinu (100mg/m² 1. den) a 5-FU (1000mg/den kontinuální infuzí, 2.-5.den). Po 3 týdnech (v případě inoperability) následuje radioterapie na oblast primárního tumoru a svodné lymfatické oblasti v celkové dávce 66-70 Gy (po 40 Gy změna techniky mimo míchu) konkomitantně s chemoterapií režim cisplatinu v dávce 100 mg/m² 1., 22. a 43. den radioterapie. Vzhledem k velmi intenzivnímu režimu léčby bylo rozhodnuto aplikovat k protekci zdravých tkání před každým ozářením amifostin v dávce 500 mg subkutánně. Primárním cílem tohoto léčebného protokolu je zlepšení kvality života pacientů během a po absolvování velmi náročné terapie aniž by byla jakkoli snížena její účinnost.

Literatura

1. Antonadou: The prophylactic use of amifostine in the prevention of chemoradiation induced mucositis and xerostomia in head and neck cancer. Proc. Am. Soc. Ther. Radiol. Oncol. (ASTRO).1998
2. Bourhis J., Fortin A., Dupuis O., et al.: Very accelerated radiation therapy: preliminary results in locally resect head and neck carcinomas. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1995; 32: 747-751.
3. Brown PE.:Mechanism of action of aminothioli radioprotectors. Nature. 1967; 213: 363-364
4. Fiorio R., Velloso R.,Bronzetti G.: Effects of spermine on formation of HGPRT-mutants induced by ethylmethanesulfonate, methylmethanesulfonate, and mitomycin C in V79 Chinese hamster cells. Environ Mol Mutagen. 1994; 23: 294-298.
5. Glover D., Riley L., Carmichael K, et al.: Hypocalcemia and inhibition of parathyroid hormone secretion after administration of WR-2721 (aradioprotective and chemoprotective agent). N Engl J Med. 1983; 309: 1137-1141
6. Grdina DJ., Shigematsu N., Dale P., et al.: Thiol and disulfide metabolites of the radiation protector and potential chemopreventive agent WR-2721 are linked to both its anti-cytotoxic and anti-mutagenic mechanism of action. Carcinogenesis. 1995; 16: 767-774
7. Grdina DJ., Nagy B., Hill CK., Wells RL., Peraino C.: The radioprotector WR 1065 reduces radiation-induced mutations at the hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase locus in V79 cells. Carcinogenesis. 1985; 6: 929-931.
8. Grdina DJ., Nagy B.: The effect of 2-[(aminopropyl)amino]ethanethiol (WR 1065) on radiation-induced DNA damage and repair and cell progression in V79 cells. Br J Cancer. 1986; 54: 933-941
9. Kataoka Y., Perrin J., Hunter N., Milas L., Grdina DJ.: Antimutagenic effects of amifostine: clinical implications. Semin Oncol. 1996; 23(suppl 8): 53-57.
10. Klener P.: Protinádorová chemoterapie, Praha, Galén, 1996, 614 s.
11. Kligerman MM, Turissi AT, Urtasun RC et al.: Final report on phase I trial of WR-2721 before protracted fractionated radiation therapy. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1998; 14: 1119-1122.
12. Korst AE., Eeltink CM., Vermorken JB., van der Vijgh WJ.: Pharmacokinetics of amifostine and its metabolites in patients. Eur J Cancer. 1997; 33: 1425-1429
13. Korst AE., Gall HE., Vermorken JB., van der Vijgh WJ.: Pharmacokinetics of amifostine and its metabolites in the plasma and ascites of a cancer patient. Cancer Chemother Pharmacol. 1996; 39: 162-166.
14. Kuna, P.: Chemická radioprotekce, Avicenum, 1985, 148s.
15. Liu T.,Liu Y.,He S.,Zhang Z., Kligerman MM.: Use of radiation with or without WR-2721 in advanced rectal cancer. Cancer. 1992; 69: 2820-2825.
16. McDonald S., Meyerowitz C., Smudzin T., Rubin P.: Preliminary results of a pilot study using WR-2721 before fractionated irradiation of the head and neck to reduce salivary gland dysfunction. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1994; 29: 747-754
17. Nakamura J., Shaw LM., Brown DQ.: Hydrolysis of WR 2721 by mouse liver cell fractions. Radiat Res. 1987; 109: 143-152.
18. Niibe H, Takahashi I, Mitsuhashi N, et al.: An evaluation of clinical usefulness of amifostine, radioprotective agent. A double blind placebo-controlled study. 1.Head and neck tumours (in Japanese). Nippon Gan Chiryō gakkai shi. 1985; 20: 984-993
19. Patt HM.,Tyree EB., Straube RL., Smith DE.: Cysteine protection against X radiation. Science. 1949; 110: 213-214.
20. Perez C. A., Brady L.W., et al.: Principles and practice of radiation oncology, Third Ed., Lippincott-Raven Publ., 1997, s. 685 – 700.
21. Petýřek P., Vávrová J.: Radioprotektivní látka WR 2721, od vojenského výzkumu ke klinickému využití, 1. část, Vojenské zdravotnické listy, 68, 1999, 5, 148-157.
22. Petýřek P., Vávrová J.: Radioprotektivní látka WR 2721, od vojenského výzkumu ke klinickému využití, 2. část, Vojenské zdravotnické listy, 68, 1999, 6, 185-191.
23. Sauer R., Wannemacher M., Wasserman T.,et.al.: Randomized phase III trial of radiation +/- amifostine in patients with head and neck cancer. Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 1999; 18: 392a
24. Shaw LM., Glover D., Turrisi A., et al.: Pharmacokinetics of WR-2721. Pharmacol Ther. 1988; 39: 195-201.
25. Shigematsu N., Schwartz JL., Grdina DJ.: Protection against radiation-induced mutagenesis at the HPRT locus by spermine and N,N⁺ - (dithiodi-2, 1-ethanediy) bis-1, 3-propanediamine (WR 33278). Mutagen. 1994; 9: 355-360.
26. Smoluk GD., Fahey RC., calabro-Jones PM., Aquilera JA., Ward JF.: Radioprotection of cells in culture by WR-2721 and derivatives: form of drug responsible for protection. Cancer Res. 1988; 48: 3641- 3647.
27. Spurný V., Šlampa P.: Moderní radioterapeutické metody, VI.díl, radioterapie, IPVZ Brno, 1999, 118s.
28. Šlampa P.: Konkomitantní radiochemoterapie solidních nádorů, KAP, Brno, 2000, 67s.
29. Tannehill SP., Mehta MP.: Amifostine and radiation therapy: past.,present and future. Semin Oncol. 1996; 23(suppl 8): 69-77.
30. Turrisi AT.,et al.: Final report of the phase I trial of single dose WR- 2721. Cancer Treat. Rep., 1986; 70: 1389-1393.
31. Yuhas JM., Storer JB.: Differential chemoprotection of normal and malignant tissues. J. Natl. Cancer Inst. 1969; 42: 331-335
32. Zámečník, J.: Radioterapie. Učebnice pro střední zdravotnické školy. 2. vyd., Praha, Avicenum, 1990, 464s.