

Porovnání dozimetrické a biologické predikce akutní toxicity při léčbě lokálně pokročilého NSCLC chemoradioterapií s eskalací dávky záření.

Stejskal J.¹, Dvořáková D.¹, Vaňásek J.¹, Ulrych V.¹, Kudelka K.¹, Kheck M.², Svoboda V.³

1) Oddělení radiační onkologie, Krajská nemocnice Pardubice

2) Patologicko-anatomické oddělení, Nemocnice Jihlava

3) Klinika onkologie a radioterapie, Fakultní nemocnice Hradec Králové

Východiska a cíle Lokálně pokročilá stádia nemalobuněčného plicního karcinomu (NSCLC) patří mezi onemocnění s velmi nepříznivou prognózou. V současnosti je možno za standardní léčebný přístup považovat kombinaci radioterapie a chemoterapie. 3D konformní radioterapie umožňuje eskalaci dávky záření nad konvenční schéma (60 Gy / 2 Gy). Různé způsoby chemoradioterapie a eskalace dávky záření jsou však limitovány vzestupem akutní toxicity léčby, především radiační pneumonitidy a akutní esofagitidy. Možnosti dozimetrické, fyzikální (modelové) a biologické predikce klinické toxicity umožňují výběr pacientů s nižším rizikem vývoje komplikací. Základem dozimetrické predikce jsou údaje z objemových histogramů (DVH). Pro radiační pneumonitidu je hodnotícím parametrem *MLD* (mean lung dose) – střední dávka v obou plicích po odečtení objemu GTV (Seppenwoolde et al. 2004) a parametr V_{20} – procento z objemu celé plicní tkáně, které obdrží dávku větší než 20 Gy (Rosenzweig et al. 2004). Pro predikci incidence akutní esofagitidy jsou posuzovány následující prediktory: *délka jícnu, povrch jícnu, procento objemu jícnu, konkomitantní chemoterapie* (Hirota et al. 2001, Singh et al. 2003, Bradley et al. 2004). Při aplikaci maximální tumorozní dávky a minimalizaci komplikací zdravých tkání je nutné přihlídnout k fyzikálním modelům *NTCP* (Normal Tissue Complication Probability), (Seppenwoolde et al. 2003). Sledování plasmatických hladin transformujícího růstového faktoru beta 1 ($TGF-\beta_1$) jako endogenního biologického prediktoru vykazuje vysokou senzitivitu ve vztahu k pravděpodobnosti výskytu postradiační toxicity plicní tkáně a umožňuje výběr pacientů podle rizika poškození (Anscher et al. 1998, Anscher et al. 2001). Predikovanou akutní, ale i pozdní toxicitu léčby může redukovat radioprotektivní látka amifostin. Cílem naší práce bylo porovnání dvou skupin pacientů souboru, kteří byli léčeni neoadjuvantní chemoterapií a konkomitantní chemoradioterapií s ozářením residua choroby vyšší dávkou než konvenční. Ve skupině A byla cíleně prováděna radioprotekce amifostinem, skupina B byla bez podání radioprotektivní látky. Zkoumány byly možnosti dozimetrické predikce s fyzikálními modely a vývoj plasmatických hladin $TGF-\beta_1$ a jejich korelace s histopatologickou expresí radiační pneumonitidy.

Materiál a metody

V období 1999 – 2005 jsme léčili pacienty s lokálně pokročilým NSCLC stádia IIIA a IIIB. Pacienti byli náhodně rozděleni do dvou skupin: skupina A a skupina B. Obě skupiny podstoupily identickou léčbu neoadjuvantní chemoterapií: paclitaxel 175 mg/m² i.v. 3 hod. inf. den 1 a cisplatina 75 mg/m² i.v. inf. den 1. Konkomitantní chemoradioterapie byla aplikována: paclitaxel 175 mg/m² i.v. 3 hod. inf. den 1 a cisplatina 75 mg/m² i.v. inf. den 2). Všichni pacienti byli léčeni 3D konformní radioterapií a ozáření dávkou v rozmezí 64 – 69,8 Gy. ICRU referenční bod pro PTV objemy byl zadán ve středu obrysu PTV v řezu, který

BRONCHOGENNÍ KARCINOM

odpovídal středu kraniokaudálního rozsahu zadání všech PTV objemů (ICRU 1993, ICRU 1999). Počet ozařovaných polí byl volen v rozmezí 5 – 8 v každém ozařovacím plánu. Pro jednotlivá ozařovaná pole byla použita energie 6 MV a 18 MV. Výpočet dávky záření a objemové histogramy pro potřeby analýzy byly prováděny na vzájemně kompatibilních plánovacích systémech (CadPlan a Eclipse, Varian, Palo Alto, California, USA) a k analýze NTCP použit program BioGray (Slovensko). Pacientům skupiny A byla navíc během radioterapie cíleně prováděna radioprotekce amifostinem (Ethyol 500mg) i.v. denně 15 minut před ozářením (Ethyol, Shering-Plough Central East AG, Lucern, Švýcarsko). Hodnocení klinických projevů radiační pneumonitidy a akutní esofagitidy bylo prováděno podle systému Common Toxicity Criteria, verze 2.0. Histopatologické vyšetření bylo provedeno po patologickoanatomické pitvě pacientů. Vzorky plicní tkáně byly odebrány u každého pacienta ze dvou odlišných míst. Vzorky $A_{\max}$ a $B_{\max}$ byly získány z oblasti uvnitř rekonstruovaného objemu PTV2. Referenční vzorky A_{ref} a B_{ref} intaktní plicní tkáně byly odebrány z místa nejvíce vzdáleného od rekonstruované hranice objemu PTV1. Základní barvení bylo provedeno na hematoxylin-eosin. Histopatologické hodnocení preparátů a měření šířek alveolokapilárních sept bylo provedeno na světelném mikroskopu (Leica DM LB2) s analyzátozem obrazu (IM 500) a digitální snímací kamerou (Leica DFC 320), (Leica micro-systems GmbH, Bad Dürkheim, Deutschland). Pro statistické zpracování naměřených hodnot šířek alveolokapilárních sept jsme použili Studentův T test a pro hladinu statistické významnosti zvolena úroveň $p < 0,05$. Krev na detekci plasmatických hladin TGF- β_1 byla odebírána před chemoterapií, před radioterapií, 4. týden při radioterapii, na konci radioterapie. Detekce TGF- β_1 byla stanovena metodou ELISA analyzátozem MULTISCAN-EX (Labystems, Helsinky, Finland) pomocí monoklonální protilátky specifické pro TGF- β_1 – Immunoassay Kit KAC 1688, Multispecies TGF- β_1 (BioSource International, Inc., Camarillo, California, USA). Analýza celkového přežití pacientů souboru byla provedena metodou Kaplan-Meierové (Kaplan a Meier 1958). Rozdíl v přežití mezi oběma skupinami byl zjišťován Log-rank testem (univariální analýza), statistický program NCSS 2004 (NCSS 2004, Kaysville, Utah, USA).

Výsledky

V období 1999 – 2005 jsme léčili a následně hodnotili 18 pacientů. Ve skupině A bylo léčeno 9 pacientů a těmto pacientům byl před ozářením aplikován amifostin. Ve skupině B (bez aplikace radioprotektivní látky) bylo léčeno rovněž 9 pacientů. Věkové rozmezí pacientů celého souboru bylo 45 – 68 let, medián činil 58 let. Všichni pacienti měli před ozářením aplikovány 4 cykly neoadjuvantní chemoterapie. Střední dodaná dávka zevního ozáření činila 66,2 Gy a byla aplikována v rozmezí 64 – 69,8 Gy. Střední dávka v obou plicích (MLD) činila u pacientů souboru A 29 Gy s rozmezím 23 – 33 Gy, respektive 24 Gy s rozmezím 19 – 31 Gy u souboru B. Procento plicní tkáně, které obdrželo dávku záření ≥ 20 Gy vyjádřené parametrem V_{20} , bylo zjištěno u pacientů souboru A ve výši 39% s rozmezím 19-41%, respektive 28% s rozmezím 17-34% u souboru B.

Výskyt **radiační pneumonitidy** (RP) sledovaného souboru byl klasifikován podle CTC. RP stupně 1/2 byla hodnocena u 6 pacientů s amifostinem (skupina A) a u 3 pacientů bez radioprotekce (skupina B). Stupeň toxicity 3/4 byl zaznamenán u 3 pacientů skupiny A a u 6 pacientů skupiny B. Ve skupině pacientů bez radioprotekce (B) jsme zaznamenali větší podíl pacientů s vyšším stupněm toxicity oproti skupině pacientů chráněných amifostinem. Naopak ve skupině A byl pozorován větší podíl pacientů s nižším stupněm toxicity.

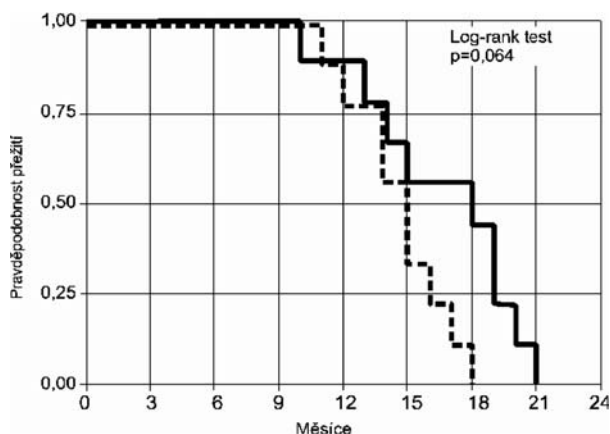
Výskyt **akutní esofagitidy** (AE) sledovaného souboru byl rovněž klasifikován podle CTC. AE stupně 1/2 byla hodnocena u 7 pacientů s amifostinem (skupina A) a u 3 pacientů bez radioprotekce (skupina B). Stupeň toxicity 3/4 byl zaznamenán u 2 pacientů skupiny A a u 6 pacientů skupiny B. Ve skupině pacientů bez radioprotekce jsme v 1 případě v průběhu léčby zaznamenali toxicitu stupně 4 a u 5 pacientů toxicitu stupně 3. Projevy akutní klinické toxicity stupně 3/4 u pacientů ve skupině B a stupně 3 ve skupině A měly přechodné trvání a nebyly důvodem k ukončení léčby podle protokolu.

Při detekci **plasmatických hladin TGF- β_1** jsme 4. týden při radioterapii ve skupině pacientů A zaznamenali medián plasmatických hladin TGF- β_1 16,1 ng/ml (6,9 – 36,8 ng/ml) a ve skupině pacientů B jsme zaznamenali medián TGF- β_1 24,8 ng/ml (6,3 – 44,3 ng/ml). Rozdíl mezi těmito mediány plasmatických hladin TGF- β_1 nedosáhl hladiny statistické významnosti. Retrospektivně jsme hodnotili stupně vyjádřené RP v obou skupinách pacientů ve vztahu k hladinám TGF- β_1 detekovaným 4. týden při konkomitantní chemoradioterapii. Pacienti s amifostinem (skupina A) se symptomy RP stupně 1/2, respektive 3/4 měli nižší hladiny TGF- β_1 s mediánem 11,9 ng/ml, respektive 19,8 ng/ml. Pacienti bez amifostinu (skupina B) s RP stupně 1/2, respektive 3/4 měli vyšší detekované hladiny TGF- β_1 s mediánem 18,7 ng/ml, respektive 27,9 ng/ml. Elevace plasmatických hladin TGF- β_1 u pacientů skupiny bez amifostinu souvisela s vyšším výskytem klinické toxicity, především radiační pneumonitidy, ale i akutní esofagitidy.

U odebraných vzorků plicní tkáně od obou skupin pacientů ($A_{\max}$, $B_{\max}$ a A_{ref} , B_{ref}) byl proveden popis **histopatologických nálezu** a změřeny šířky alveolokapilárních sept. Pacienti s radioprotekcí amifostinem (skupina A) měli zjištěné rozměry alveolokapilárních sept ($A_{\max}$) v rozmezí od 2,1 μm do 11,2 μm (medián 8,8 μm). U pacientů bez podání radioprotektivní látky (skupina B) byly naměřené šířky alveolokapilárních sept ($B_{\max}$) v rozmezí od 10,2 μm do 71,4 μm (medián 49,8 μm). Při porovnání šířek alveolokapilárních sept byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi oběma skupinami ($A_{\max}$ a $B_{\max}$) na hladině statistické významnosti (T test, $p = 0,0001$).

BRONCHOGENNÍ KARCINOM

Medián **celkového přežití** pacientů s lokálně pokročilými NSCLC stádii IIIA a IIIB činil ve skupině A 18 měsíců v rozmezí 10-21 měsíců a ve skupině B 15 měsíců v rozmezí 11 – 18 měsíců. Přežití pacientů skupiny A a skupiny B se nelišilo (Log-rank test, $p = 0,064$) – viz graf (Graf 1). Pravděpodobnost jednoletého přežití pacientů u skupiny A byla 89%, respektive 78% u skupiny B.



Graf 1 Pravděpodobnost přežití pacientů: skupina A (plná křivka), skupina B (přerušovaně)

Závěry

Hlavním cílem naší práce bylo srovnat, zda aplikace radioprotektivní látky amifostin povede ke snížení projevů predikované klinické toxicity při léčbě lokálně pokročilého NSCLC neoadjuvantní chemoterapií s následnou konkomitantní chemoradioterapií provedenou konformní 3D technikou s eskalací dávky záření. Zkoumány byly možnosti dozimetrické predikce s fyzikálními modely a vývoj plasmatických hladin TGF- β_1 a jejich korelace s histopatologickou expresí radiační pneumonitidy.

U všech pacientů jsme zaznamenali různý stupeň rozvoje akutní toxicity léčby. Amifostin vedl ke snížení incidence radiační pneumonitidy vyššího stupně, když ve skupině s amifostinem bylo postiženo o polovinu méně pacientů než ve skupině bez radioprotekce. Při porovnání klinických projevů radiační pneumonitidy s histopatologickými nálezy byly ve skupině pacientů s amifostinem zjištěny minimální patologické změny plicní tkáně a normální šířky alveolokapilárních sept. Histopatologické změny dokladují protektivní efekt amifostinu. U pacientů bez radioprotekce bylo patrné výrazné rozšíření alveolokapilárních prostorů a zjištěny výrazné fibroproduktivní změny. Rozdíly v šířkách alveolokapilárních sept mezi oběma skupinami byly statisticky významné. U pacientů s amifostinem jsme dosáhli snížení projevů akutní esofagitidy vyššího stupně. Pacienti léčbu lépe tolerovali a zlepšila se jejich kvalita života.

Potvrdili jsme prediktivní význam plasmatické hladiny TGF- β_1 v rozvoji radiační pneumonitidy. Elevace hladin TGF- β_1 4. týden při chemoradioterapii u pacientů skupiny bez radioprotekce souvisela s výskytem radiační pneumonitidy vyššího stupně. Vedle TGF β_1 jako endogenního faktoru predikce postradiační toxicity plicní tkáně je nutno přihlídnout také k faktorům dozimetrické predikce. Všeobecně uznávaný parametr MLD používaný pro dozimetrickou predikci jsme jako prediktivní faktor pro radiační pneumonitidu nepotvrdili. Parametr V_{20} byl uznán jako prediktivní faktor ve vztahu k radiační pneumonitidě ve skupině pacientů bez radioprotekce. Ověření dozimetrických parametrů s fyzikálními modely (NTCP) korelovalo s incidencí radiační pneumonitidy vyššího stupně.

Celkové přežití pacientů v obou souborech bylo srovnatelné. Medián ve skupině s amifostinem činil 18 měsíců a ve skupině bez radioprotekce 15 měsíců a pravděpodobnost jednoletého přežití u pacientů s amifostinem byla 89%, respektive 78% u pacientů bez radioprotekce.

Výsledky naší práce potvrzují, že v případě kurativního léčebného záměru s eskalací dávky záření je nutno přihlídnout k možnostem predikce léčebné toxicity a individuálně posoudit využití radioprotektivní látky amifostin.