

VYUŽITÍ RITUXIMABU V LÉČBĚ CHRONICKÉ LYMFATICKÉ LEUKEMIE

RITUXIMAB IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

MAYER, J., DOUBEK, M., BRYCHTOVÁ, Y., VORLÍČEK J.

INTERNÍ HEMATOONKOLOGICKÁ KLINIKA FAKULTNÍ NEMOCNICE BRNO

Souhrn: Možnosti léčby pacientů s chronickou lymfatickou leukémií (CLL) se v posledních několika letech výrazně zlepšily. Slibné výsledky jak v primární terapii tak u relapsů CLL přineslo zavedení nových cytotoxických látek jako jsou purinová analoga fludarabin a 2-chlordeoxyadenosin. Nicméně i tak stále všichni pacienti s CLL po iniciační odpovědi na terapii relabují. Jelikož původem relapsů jsou reziduální leukemické buňky, vyvstává potřeba dalších terapeutických přístupů s odlišným mechanismem účinku, aby byly reziduální buňky eliminovány. Tyto přístupy zahrnují imunoterapii. Proto jsou dnes intenzivně zkoumány různé monoklonální protilátky. V terapii rezistentních nebo relabujících nehodgkinských lymfomů nízké malignity se osvědčila nekonjugovaná protilátka anti-CD20, rituximab. V současnosti už máme i klinickou zkušenost s podáváním rituximabu u pacientů s CLL. Nicméně přesné role této látky v terapii CLL ještě určena není. Hledat by ji měly probíhající nebo budoucí studie. U pacientů s CLL je exprese znaku CD20 na nádorových buňkách menší než u pacientů s lymfomy. Jak ukázaly některé studie, to je jeden z možných důvodů nižšího účinku rituximabu u CLL. Účinnost rituximabu může být zlepšena eskalací jeho dávek nebo změnou léčebného schématu. Naděje jsou vkládány do kombinací rituximabu s chemoterapeutiky. Při aplikaci rituximabu je nutné myslet na riziko syndromu lýzy tumoru a anafylaxe. Předkládaný referát zmiňuje mechanismy působení rituximabu a shrnuje jeho roli v léčbě pacientů s CLL.

Klíčová slova: chronická lymfatická leukémie – rituximab

Summary: The treatment options for chronic lymphocytic leukemia (CLL) have dramatically increased in the last few years. Promising results have been reported with new cytotoxic agents such as the purine analogues fludarabine and 2-chlordeoxyadenosine, either at first diagnosis or at relapse. Nevertheless, all patients with CLL relapse after initial response. Since residual leukemia cells are very likely to be the origin of the clinical relapse, there is a need for new therapeutic approaches with different mechanism of action to eliminate these residual cells. These approaches include immunotherapeutic strategies. Monoclonal antibodies are thus being actively investigated. In clinical trials the unconjugated anti-CD20 antibody rituximab achieved promising results in the treatment of patients with relapsed or refractory low-grade non-Hodgkin's lymphoma. Nowadays, there is clinical experience with rituximab in CLL patients. However, the exact role of this agent in the treatment of CLL has still to be determined in ongoing and future trials. In CLL patients the amount of CD20 on the cell surface is moderate, this being a possible reason for the low response rate to rituximab in the some studies reported so far. The effectiveness of rituximab might be improved by escalating the dose or modifying the treatment schedule. Effort is being focused on combining rituximab with chemotherapy. Furthermore, the potential risks of tumor lysis and anaphylaxis for rituximab must be taken into account. The present review will discuss the basic principles of this unconjugated monoclonal antibody and consider its role in the treatment of patients with CLL.

Key words: chronic lymphocytic leukemia – rituximab

Úvod

Léčba řady lymfoproliferativních onemocnění je stále neuspokojivá. Přes léta hledání, množství klinických studií a nových poznatků z molekulární biologie je řada těchto chorob **stále nevléčitelná**, byť více či méně léčitelná. Většina léčebných postupů je zatím založena na klasických cytostaticích. Velká pozornost se proto upíná k novým **necytostatickým postupům**. Jedním z nich by mohlo být použití speciálních **monoklonálních protilátek**. Monoklonální protilátky se jeví jako velmi atraktivní pro použití v onkologii. Jsou zacíleny přesně na určité definované a specifické struktury nádorových buněk, což vede k jejich selektivní eliminaci, aniž to negativně ovlivní ostatní zdravé buňky. To je oproti víceméně neselektivní chemoterapii s drastickými vedlejšími účinky dramatický pokrok. Nyní jsme již reálnými svědky tohoto zcela nového směru klinické onkologie v praxi.

Existují různé typy monoklonálních protilátek pro použití v onkologii. Pro lymfomy je již na českém trhu registrována protilátka **anti-CD20** (rituximab, IDEC-C2B8, preparát Mabthera firmy Roche). Jde o chimérickou monoklonální protilátku, kombinovanou myší-lidskou, obsahující konstantní části lidských IgG₁ těžkých a kappa lehkých řetězců. Genetickým inženýrstvím získaná chimérická protilátka má minimalizovat imunizaci léčeného pacienta se vznikem protilátek proti cizorodé bílkovině. Rituximab je vyráběn v kultuře ovariálních

buněk čínských křečků a byl první monoklonální protilátkou, která získala v roce 1997 povolení americké FDA (Food and Drug Administration) k léčbě onkologické choroby.

Do té doby bylo uplatnění monoklonálních protilátek v medicíně velmi omezené a bylo k dispozici jen několik léků. Mnohé monoklonální protilátky byly vyráběny víceméně jen pro výzkumné účely a jejich klinické uplatnění bylo velmi omezené. Rituximab byl primárně vyvinut tehdy malou kalifornskou biotechnologickou společností IDEC Pharmaceuticals Corporation ze San Diega (13). Protilátka IDEC 2B8 byla získána v roce 1991 z myší imunizovaných CD20. Označení 2B8 vyšlo z toho, že tato protilátka byla identifikována na laboratorní destičce č. 2, řádek B a sloupec 8. Myši produkovaly jen tři anti-CD20 protilátky, přičemž 2 z nich byly třídy IgM. Zbývající IgG protilátka byla vybrána pro další výzkum. Další geneticky inženýrské práce byly vykonány v tomtéž roce. Co bylo významné byl fakt, že ovariální buňky křečků byly schopny produkovat rituximab v dostatečném množství, takže se mohlo použít také dostatečné množství látky k léčbě. Předchozí neúspěchy jiných protilátek mohly být způsobeny mj. poddáváním. Málo je známo, že navržené dávkování doporučené firmou pro studii fáze II, tedy známé dávkování 375 mg/m² x 4, vycházelo nejen z informací studií fáze I, ale také z tehdy dostupného množství rituximabu a z plánovaného počtu nemocných studie fáze II. Bylo tedy určitým způsobem pragmatické

a z toho vyplývá, že zdaleka nemusí být optimální (13). Toto je významné hlavně z hlediska optimalizace dávkování u CLL, což bude podrobně rozebráno dále.

Mechanismus účinku rituximabu

Rituximab se selektivně váže na CD20 pozitivní buňky. Jde o buňky řady lymfoproliferativních chorob, ale také o normální B lymfocyty. Mechanismus účinku je mnohostranný. Dominantní cestou eliminace CD 20 pozitivních buněk je tzv. **buňkami zprostředkovaná cytotoxicita** (ADCC, antibody - dependent cellular cytotoxicity) a **lýza komplementem**, ale uplatňuje se pravděpodobně také **indukce apoptózy** (12). Zatímco každý z těchto účinků byl sledován in vitro, klinický účinek in vivo je pravděpodobně suma různých mechanismů. Navíc, různé mechanismy se mohou uplatňovat různou měrou podle lokalizace tumoru. Například likvidace nádorových buněk z cirkulace může být způsobena dominantně ADCC a lýzou komplementu, zatímco masy nádoru v uzlinách a extranodálních tkáních jsou těmto vlivům vystaveny méně intenzivně. Již po prvních klinických zkušenostech s rituximabem začalo být zřejmé, že existují pacienti **rezistentní** k této léčbě. Rezistence přitom může být primární, nebo získaná, u nemocných, kteří předtím na léčbu reagovali. Zásadní mechanismy rezistence a senzitivity jsou přitom zatím jen zcela málo probádané. Ví se ale, že v určitých případech mohou souviset s expresí struktury CD20 na buňkách (24).

ADCC vyžaduje aktivaci Fc receptoru efektorových buněk. Efektorové buňky zahrnují NK buňky a fagocytující buňky, monocytů a makrofágy. NK buňky likvidují protilátkou označené buňky uvolňováním perforinů a granzymů. Mohou také indukovat apoptózu prostřednictvím systému Fas – Fas ligand (24). Bylo poukázáno na dost značný význam genetických faktorů, ovlivňujících Fc receptor, pro léčebnou odpověď na rituximab. Cartron et al. (6) studovali význam **polymorfismu FcγRIIIa**, kdy na 158 pozici může být aminokyselina fenylalanin (F), nebo valin (V). Lidský IgG1 se daleko více váže na homozygotní variantu receptoru V, než na homozygotní variantu F nebo variantu heterozygotní. V klinické studii se prokázalo, že léčebná odpověď u nemocných s homozygotní variantou V po podání rituximabu byla daleko nejlepší.

Fagocytóza je mediována také Fc receptorem, receptory pro fragmenty aktivovaného komplementu deponované na povrchu nádorových buněk a receptory, které poznávají fosfidylerin translokovaný z vnitřní na vnější stranu membrány (24).

Lýza buňky komplementem vyžaduje vznik aktivního membránu atakujícího komplexu. Jaderné buňky ale obsahují ve své membráně proteiny způsobující rezistenci vůči komplementu. Inhibitory jsou i solubilní. Jde o: C1 inhibitor, CD55 (decay accelerating factor), CD46 (membrane cofactor protein) a CD59 (protectin). Zatím ale chybí jednoznačná data, že exprese těchto komplement – inhibujících bílkovin má význam pro klinickou odpověď na rituximab (24), přestože experimentální data by takové vazby mohla ukazovat (12). Komplement se může podílet na vedlejších účincích spjatých s infuzí (21), i když ne všechny práce toto potvrzují (4).

U některých protilátek, vážících se na povrch buněk, vede samotná vazba, ale bez přítomnosti kostimulačních signálů, k inhibici proliferace a k apoptóze. Jsou popsány rozmanité intracelulární signální změny, vzniklé po navázání CD20 protilátky: zvýšení intracelulárního kalcia, aktivace serin/threonin protein tyrosin kináz, zvýšení tyrozinové fosforylace, fosforylace fosfolipázy C gamma a proteinkinázy C, aktivace kaspáz, inhibice syntézy DNA, zástava buněčného cyklu, translokace fosfolipidů buněčných povrchů a apoptóza. Přes tento výčet různých nitrobuněčných pochodů zatím není jasné, jak který přispívá k rezistenci nebo senzitivě k rituximabu (24). Již po jediné terapeutické dávce rituximabu dojde k rychlému (do 3 dnů) a markantnímu (o více než 90 %) poklesu B lymfocytů v periferní krvi. Tyto se začínají znovu objevovat až po

90 dnech (22). Opakovaná terapeutická dávka vede k dlouhodobé depleci B lymfocytů, jejichž obnova v periferní krvi začíná až po 6 měsících. Koncentrace sérových imunoglobulinů však zůstávají stabilní. Koncentrace komplementu kolísá, ale není ve vztahu k toxicitě. Protilátky proti rituximabu vznikají výjimečně. Dochází ke kumulaci rituximabu v krvi; po čtvrté infuzi narůstají jeho maximální koncentrace i sérové poločasy (23). Sérový poločas byl po první dávce rituximabu 76,3 hodiny, ale po čtvrté dávce již 205,8 hodiny a rituximab byl v nízkých koncentracích detekovatelný u některých nemocných ještě po 3 i 6 měsících po skončení léčby (1). Toxicita opakovaných dávek je nízká, poklesy v krevním obraze nejsou časté a běžná laboratorní vyšetření jsou stabilní (23). Rituximab byl zatím zkoušen dominantně u nemocných s relapsem folikulárního lymfomu, ale zdá se, že se rýsuje celá řada dalších indikací. Většina lymfomů majících svůj původ v B lymfocytární řadě strukturu CD20 exprimuje. V této souvislosti se samozřejmě také nabízí využití rituximabu pro léčbu pacientů s chronickou lymfatickou leukémií (CLL).

Teoretické zdůvodnění využití rituximabu pro léčbu pacientů s CLL

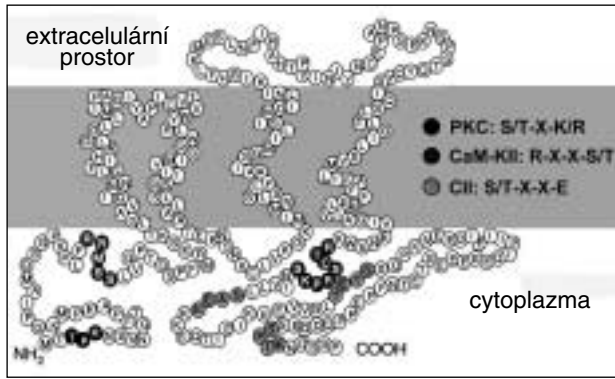
CLL je **nejčastěji se vyskytující** formou leukemie v naší zemi a také v západních zemích. Jde o onemocnění starších lidí, výskyt začíná prudce narůstat ve věkových skupinách nad 50 let (9, 19). Klinický průběh je chronický, nicméně progredující, s postupně narůstající orgánovou infiltrací leukemickými buňkami, s rozvojem infekčních komplikací, autoimunitních fenoménů anebo i transformací do agresivnějších lymfoproliferativních onemocnění. Pro CLL v současné době neexistuje standardní kurativní přístup. Na druhé straně, existuje celá škála paliativních léčebných postupů. Proto je volba správné terapie mimořádně důležitá. Iniciální stádia se zpravidla neléčí, nemocní jsou jen sledováni a léčba se zahajuje až v případě progresu. Existují dvě základní skupiny léků účinných u CLL v monoterapii: alkylační látky (zvláště chlorambucil a cyklofosfamid) a purinová analoga (fludarabin, cladribin a 2'-deoxykoformycin). Aktivní jsou také kortikoidy (19). Kromě toho je používána řada kombinovaných chemoterapeutických postupů, zahrnujících kromě výše uvedených látek také vinkristin a antracykliny (19). Vzhledem k nevléčitelnosti CLL konvenčními postupy jsou nemocní v průběhu choroby léčeni zpravidla více režimy a více cytostatiky. Po selhání jednoho postupu se zpravidla volí postup jiný, ale efekt může být i s opakovaným podáním téže léčby (19).

Velký problém představují nemocní, u nichž předchází cytostatická léčba vyčerpala dřevnou rezervu, nemocní mající masivní infiltraci kostní dřeně leukemickými buňkami, a také pacienti, kteří mají závažné, život ohrožující infekční komplikace, kontraindikující podávání imunosupresivních látek (zejména kortikoidů a purinových analog). Přitom takoví nemocní mohou být jinak v celkem uspokojivém stavu. Pro lékaře i pro pacienty samotné je pak mimořádně nesnadné a frustrující rozhodování, jak dál v léčbě pokračovat. Zde se nabízí použití necytostatického léčebného postupu, podání anti-CD20 monoklonální protilátky, rituximabu, který je v podstatě netoxický. O této léčbě u jiných typů lymfoproliferací jsme již referovali (25).

Imunofenotyp CLL a rituximab

Tomuto tématu bylo věnováno více prací. Většina nemocných má typický nález, ale existují výjimky, které mohou způsobovat i diferenciálně diagnostické rozpaky. Podle studie již starší, která analyzovala imunofenotyp u 540 nově diagnostikovaných nemocných, se na maligních buňkách typicky nacházejí tyto markery: **CD5, IgM, IgD, CD20, CD21, CD22, CD23** (10). Naprostá minorita nemocných byla CD5 negativní. Z hlediska použití rituximabu u pacientů s CLL je závažná otázka **exprese CD20 na maligních lymfocytech**. Velmi podrobně se tomuto problému věnovalo několik prací. CD20

Obr. 1. Struktura CD20 a její uložení v buněčné membráně. Podle: Riley J. K., Sliwkowski M. X, 2000.



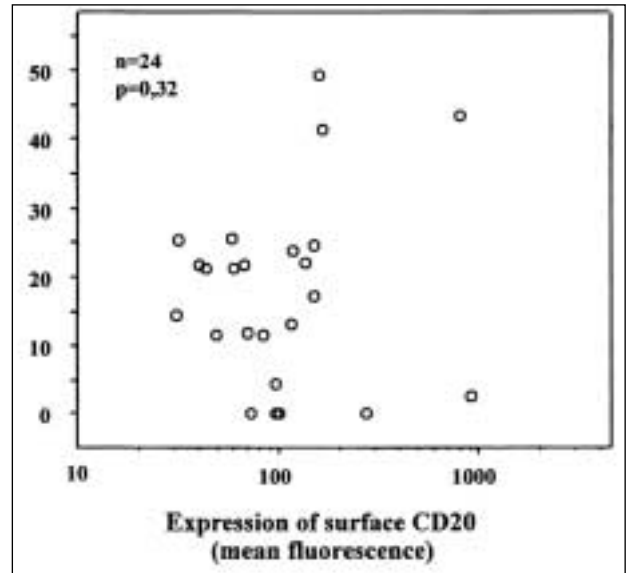
je antigenní struktura charakterizující diferenciaci do B řady. Začíná být exprimována ve stádiu pre-B buněk. Jakmile se ale B buňky diferencují do buněk plazmatických, exprese CD20 klesá a plazmatické buňky tuto strukturu neexprimují. CD20 je neglykosylovaný fosfoprotein s 297 aminokyselinami, který prochází čtyřikrát buněčnou membránou (31). Jen malá část proteinu je extracelulárně, viz obrázek 1. Na buněčné membráně je CD20 v těsném kontaktu s dalšími molekulami, jako je CD40 a struktury hlavního histokompatibilního systému II. třídy. Funkce CD20 není zcela známa, ale zdá se, že se podílí na aktivaci B buněk, regulaci buněčného růstu a transmembránového přenosu Ca (31). Je zajímavé, že u CD20 defektních myši se nepozoroval žádný defekt v B buňkách. Strukturu CD20 v jejich funkcích asi mohou nahradit jiné proteiny.

Na zdravých B buňkách byla zjištěna hodnota antigenní denzity $149 \pm 10 \times 10^3$ na buňku (2). Ve srovnání se zdravými B buňkami, ale i s jinými lymfoproliferacemi B řady, byla zjištěna u CLL snížená exprese CD20. Nicméně mezi různými nemocnými s CLL existují velké rozdíly v expresi CD20. Tefferi et al. (33) zjistili expresi slabou, střední a silnou u 62%, 12% a 26% nemocných. Intenzita exprese nekorelovala s dalšími klinickými známkami choroby, ale ani s odpovědí na léčbu a přežitím. Přestože autoři neudávají bližší podrobnosti o terapii, z doby publikace se lze domnívat, že nemocní nebyli léčeni rituximabem. Co je dále zajímavé, je fakt, že u CLL může být exprese CD20 různá u maligních buněk nacházejících se v různých kompartmentech. Huh et al. (17) zjistili, že buňky CLL v kostní dřeni a lymfatických uzlinách měly ještě nižší expresi CD20, než buňky v periferní krvi.

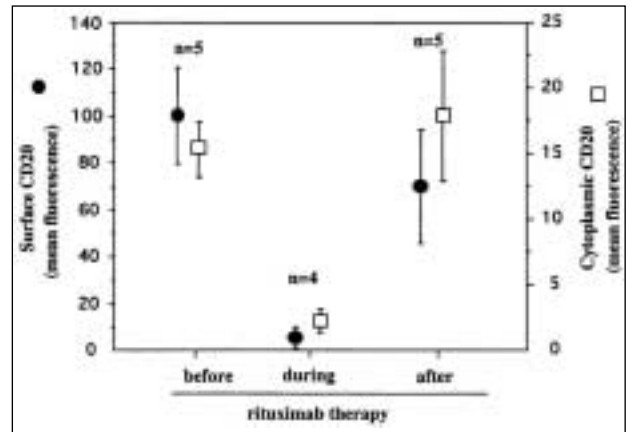
Mimofádně závažná je otázka efektu rituximabu na denzitu CD20 molekul na povrchu buněk CLL, a také otázka eventuální možnosti selekce CD20 negativních buněk po léčbě rituximabem. Data o těchto problémech nejsou nijak hojná. Byla provedena velmi zajímavá studie (29). Lýza leukemických buněk in vitro v přítomnosti rituximabu nebyla závislá na denzitě CD20 molekul na povrchu leukemických buněk (viz obrázek 2). Během léčby rituximabem docházelo ke snížení exprese povrchového, ale i cytoplazmatického CD20 a po léčbě docházelo zase ke zvýšení exprese (viz obrázek 3). To se odráželo na proměnné senzitivitě leukemických buněk k lýze rituximabem in vitro (obrázek 4). Autoři zjistili, že změny v denzitě CD20 byly způsobeny změnami v množství mRNA pro CD20 v buňkách. Během léčby nedocházelo k selekci jiných klonů leukemických buněk, jak bylo zjištěno analýzou oblasti CDR3 IgH.

Z jiné experimentální práce se ale zdá, že denzita CD20 na povrchu buněk má vztah na intenzitu lýzy těchto buněk protilátkou anti-CD20 (12). Data z této práce jsou na obrázku 5. Rozdíl mezi výsledky této práce a práce uvedené výše může být ve více faktorech. Svoji roli může hrát i koncentrace rituximabu užitá in vitro. Zatímco Golay et al. použili koncentraci rituximabu 10 $\mu\text{g/ml}$, Pickartz et al. použili koncentraci

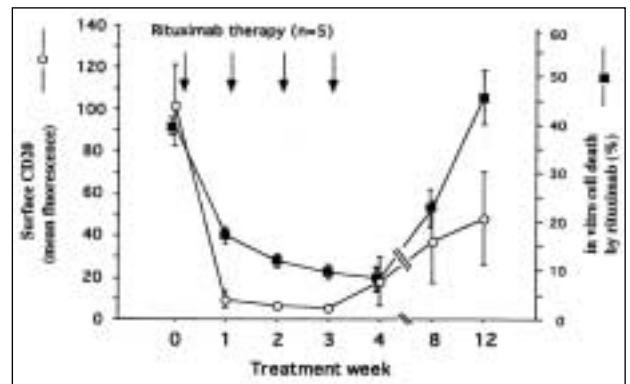
Obr. 2. Vztah mezi lýzou leukemických buněk CLL a denzitou CD20 struktury exprimované na povrchu buněk. Podle Pickartz et al., 2001.



Obr. 3. Vztah mezi intenzitou membránového CD20 (plná kolečka) a cytoplazmatického CD 20 (prázdné čtverečky) během léčby rituximabem u buněk CLL. Podle Pickartz et al., 2001.



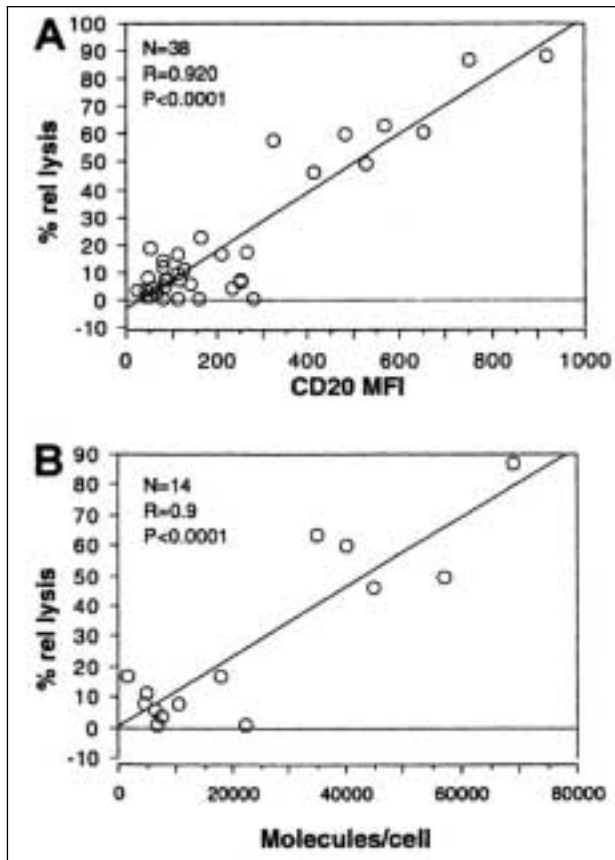
Obr. 4. Exprese CD20 na povrchu leukemických buněk CLL během léčby rituximabem a in vitro lýza buněk rituximabem. Podle Pickartz et al., 2001.



300 $\mu\text{g/ml}$. Obojí je v pásmu hodnot, které mohou být dosaženy v klinice (4, 22).

Bylo také zjištěno, že CD20 se může vyskytovat v plazmě. Ve velmi nízké koncentraci je přítomen i u zdravých lidí, u nemocných s CLL jeho hladina koreluje s prognózou. U pacientů

Obr. 5. Vztah mezi lýzou leukemických buněk CLL a densitou CD20 struktury exprimované na povrchu buněk. Podle Golay et al., 2001



s koncentrací nad 1300 molekul/ml je prognóza horší. Solubilní CD20 možná může s rituximabem tvořit komplexy a tím zhoršovat jeho léčebné účinky. Tato oblast vyžaduje další výzkumy (20).

První zkušenosti s rituximabem u CLL/SLL

První data pocházejí ze studií u nemocných s ne-Hodgkinovými lymfomy. Do těchto studií byli také zahrnuti **nemocní s SLL**, lymfomem z malých lymfocytů, který je jakousi lokalizovanou variantou CLL. Z těchto studií se zdá, že SLL reagoval na konvenční dávkování rituximabu ve srovnání s jinými typy lymfomů méně. Také studie s CLL, kde byl podáván rituximab v obvyklém dávkování, ukázovaly **nižší léčebné odpovědi**. Podrobněji jsou data uvedena v tabulce 1.

Vzhledem k tomu, že rituximab tedy může být u CLL méně účinný, než u jiných typů lymfomů z B buněk, je potřeba u této malignity zvolit jiný přístup. Menší účinnost může souviset s nižší expresí struktury CD20. Objevily se dva přístupy, jak

dávku rituximabu zvýšit. První **eskaluje dávku** v její absolutní výši (28), druhý v čase frekventnějším podáváním (4). Podívejme se na tato data blíže.

Eskalace dávky vyšla z toho, že v případech anti-CD20 protilátky nejde o klasické cytostatikum a ve studii fáze I vlastně nebylo dosaženo klasické „dose-limiting toxicity“ (22). O'Brien et al. (28) referují o 50 nemocných s B buněčnými malignitami (z toho 40 s CLL), kteří dostali jako první dávku rituximab 375 mg/m², ale další dávky byly 500, 650, 825, 1000, 1500 a 2250 mg/m². Nemocný, zařazený do určité kategorie dávky dostal další 3 dávky identické v této výši v týdenních intervalech. Všichni nemocní s CLL již byli nějakou jinou terapií léčeni. Výskyt vedlejších reakcí po první dávce rituximabu byl vysoký, 94%, nicméně většinou se jednalo o třesavku a horečku nevelké intenzity. Další dávky již byly tolerovány dobře. Vyšší výskyt vedlejších účinků se objevoval až při nejvyšší dávce (horečka, třesavka, nauzea a slabost). Nicméně, ani zde se nevyskytovaly vedlejší reakce závažného stupně.

U nemocných s CLL bylo dosaženo 36% léčebných odpovědí a jednalo se vždy o PR (NCI kritéria). Byl jednoznačný vztah mezi procentem léčebných odpovědí a dávkou léku: při nejvyšším dávkování bylo dosaženo až 75% léčebných odpovědí. Refrakternita k fludarabinu znamenala pravděpodobnost nižší léčebné odpovědi na rituximab. Medián trvání léčebné odpovědi byl 8 měsíců.

Byrd et al. (4) zahrnuli do své studie 33 pacientů s CLL, kteří již buďto byli nějak léčeni (většina), nebo sice dosud žádnou léčbu nedostávali, ale chemoterapie byla z různých důvodů kontraindikovaná. Před každým podáním rituximabu byla podávána premedikace diphenhydramin a acetaminophen. První dávka rituximabu byla vždy 100 mg, další dávky buďto 250 mg/m² nebo 375 mg/m². Bylo podáno celkem 12 dávek v průběhu 3 týdnů, tedy obvyklý časový interval co se týká celkové délky podávání, ale dávky byly podávány frekventněji, ne jednou, ale třikrát týdně. Léčebná odpověď byla hodnocena podle NCI kritérií.

Vedlejší účinky léčby (rigor, horečka, hypotenze, dušnost, nauzea, zvracení) se většinou vyskytovaly jen u prvních dvou infuzí a nebyly závažné. Vyjímkou byl jeden starší nemocný v celkově nedobrému stavu, s trombocytopenií a na antikoagulační léčbě pro žilní trombózu, který zemřel za příznaků hemoptýzy a respiračního selhání. Všichni nemocní, kteří měli problémy při druhé infuzi, měli také určité potíže při první dávce. Potíže při druhé infuzi byly ale mírnější. Hematologická toxicita byla mírná, přechodná a většinou jen během prvního týdne. Byly pozorovány trombocytopenie a neutropenie, ale tyto parametry se potom zlepšovaly a to dokonce často i nad hodnoty patrné před léčbou. Hodnoty inflamatorních cytokinů IL-6, IL-8, TNF- α a INF- γ byly po infuzi rituximabu vyšší než před ní. U nemocných, u nichž se vyskytly klinické problémy spjaté s infuzí, byly ale vzestupy cytokinů dramaticky vyšší. Po infuzi docházelo také k poklesu aktivity komplementu, což bylo vyjádřeno hodnotami CH50 a C3. Toto ale nebylo v korelaci s výskytem klinických příznaků spjatých s infuzí. Během

Tabulka 1. Léčebné odpovědi u pacientů s SLL/CLL na podání rituximabu v obvyklém dávkování 375 mg/m² i.v. ve dny 1, 8, 15 a 22.

Autoři studie; diagnózy	Počet nemocných	Léčebná odpověď	Poznámka
Hainsworth et al. (16); SLL	15	PR+CR 57%. Podobná také u folikulárních lymfomů (52% z 25 pacientů). Celkově jen 2 CR u všech lymfomů	Pacienti bez jakékoliv předchozí léčby
Foran et al. (8); SLL	28	14% PR, 0% CR. Nižší léčebná odpověď u SLL než u jiných lymfomů	Předléčení nemocní.
Maloney et al. (23); SLL	4	PR+CR 0%. Léčebné odpovědi u jiných histologických kategorií	Předléčení nemocní.
McLaughlin et al. (26); SLL	30	PR+CR 13%. Významně nižší léčebná odpověď než u folikulárních lymfomů	Předléčení nemocní
Mayer et al. (25); SLL	11	PR 55%, CR 9%	Předléčení nemocní
Huhn et al. (18); CLL	28	25% PR podle NIH kritérií, medián trvání 16 týdnů	Předléčení nemocní

všech 12 infuzí rituximabu docházelo postupně ke zvyšování koncentrací léku v krvi. Ty dosahovaly po 12. infuzi ve skupině léčené dávkou 375 mg/m² hodnot 891 ± 332 µg/ml. Celková léčebná odpověď po podání rituximabu u 29 hodnotitelných nemocných byla 52% (14 PR a 1 CR). Jen u 3 pacientů choroba progredovala, u ostatních došlo alespoň k její stabilizaci. Medián trvání léčebné odpovědi byl 10 měsíců. Denzita CD20 na povrchu maligních buněk z periferní krve nekorelovala s odpovědí na léčbu.

Další data o rituximabu u nemocných s CLL

Rituximab a komplikace CLL

Bylo referováno o úspěšném využití rituximabu pro léčbu **čisté aplázie červené řady** (pure red cell aplasia, PRCA). Ghazal (11) popisuje případy dvou nemocných, jejichž krevní obraz se po tomto léku zlepšil. V prvním případě se jednalo o nově diagnostikované onemocnění, ve druhém k PRCA došlo po léčbě fludarabinem. Jiná léčba PRCA, jako cyklosporin A, kortikoidy, erythropoetin a intravenózní imunoglobuliny nevedly k úspěchu.

Je popsán také efekt rituximabu u **Evansova syndromu** (32).

Rituximab v kombinaci s jinými látkami

Rituximab nemá toxické vedlejší účinky známé u cytostatik. Je účinný u CLL, ale také nepovede k jejímu vyléčení. Nabízí se tedy možnost kombinovat rituximab s jinými látkami účinnými u CLL a docílit tak vysoké účinnosti režimu s relativně malou toxicitou. Dosud bylo popsáno několik takových kombinací.

Rituximab a fludarabin. Tento režim byl testován ve složení (5):

- fludarabin 25 mg/m²/den, dny 1-5, opakováno po 28 dnech
- rituximab 375 mg/m²/den, dny 1 a 4 u 1. chemoterapie, jen den 1 u 2. – 6. chemoterapie
- rituximab 375 mg/m² 4 dávky s odstupem 1 týden 2 měsíce po ukončení chemoterapie.

Nutno podotknout, že jedna skupina nemocných dostávala rituximab a fludarabin s následným podáváním rituximabu, kdežto druhá skupina jen fludarabin a následně rituximab. První varianta léčebného schématu se zdála účinnější, se 100 % léčebných odpovědí a 48 % kompletních remisí. Data byla ale zatím publikována jen ve formě abstraktu.

Rituximab, fludarabin a cyklofosfamid. Tento režim, označovaný jako **FCR**, dosahoval nevídaných léčebných úspěchů. Podáván byl v následujícím schématu u 135 nově diagnostikovaných nemocných:

- fludarabin 25 mg/m²/den dny 2-4 u 1. chemoterapie a dny 1-3 u 2. – 6. chemoterapie
- cyklofosfamid 250 mg/m²/den dny 2-4 u 1. chemoterapie a dny 1-3 u 2. – 6. chemoterapie
- rituximab 375 mg/m² den 1 u 1. chemoterapie a 500 mg/m² den 1 u 2. – 6. chemoterapie.

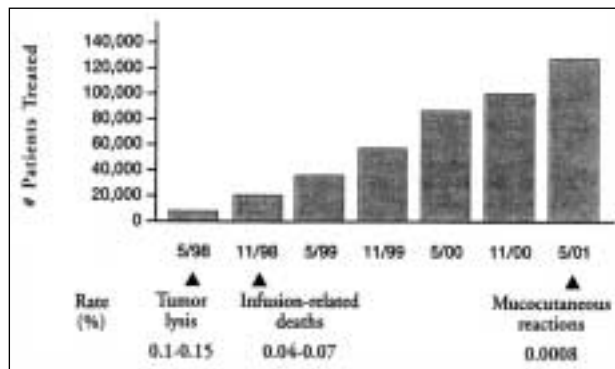
Léčebná odpověď byla hodnocena podle náročných NCI kritérií. Léčba byla velmi dobře tolerována a 76% pacientů dokončilo všech 6 léčebných kúr. Kompletní remise bylo dosaženo v 67% případů. Neutropenie pod 0,5.10⁹/l se vyskytovala ve 31 % chemoterapií. Těžká trombocytopenie a závažné komplikace byly velmi zřídka. Co je mimořádně zajímavé a důležité, v 58% testovaných případů bylo dosaženo i molekulární remise. Na podkladě těchto dat se zdá, že FCR je dosud nejúčinnějším režimem používaným u CLL.

Rituximab, cyklofosfamid a kortikoidy. Režim, nazvaný **RCD**, je podáván v následujícím složení (15, 30):

- rituximab 375 mg/m² den 1
- cyklofosfamid 750 - 1000 mg/m² den 2
- dexamethason 12 mg/den, dny 1-7. Podáváno ve 4 týdenních odstupech do dosažení maximální léčebné odpovědi.

Režim je aktivní i u hemolýzy při CLL (30). Ze 22 velmi předléčených pacientů dosáhlo 8 remise podle NCI kritérií. Léčba byla účinná i v případě relapsu po první léčebné kúře RCD. Začínají se také testovat kombinace **rituximab a pentostatin**

Obř. 6. Zkušenosti s rituximabem stran bezpečnosti od jeho schválení v r. 1997 po květen 2001, kdy bylo léčeno asi 125 000 nemocných. Podle Grillo-López et al., 2002.



(7) a **rituximab a alemtuzumab** (27). Podrobnější data ale zatím nejsou k dispozici.

Závažné toxické reakce popsané po rituximabu

Přestože rituximab není cytostatikum, můžeme se po jeho podání setkat s řadou vedlejších reakcí. Mnohé jsou dobře zdokumentované, jejich mechanismus vzniku byl zmiňován výše a souvisí zpravidla s podáním první dávky léku a aktivací imunitního systému. Jde hlavně o teplotu, třesavku, event. pokles krevního tlaku a dušnost. Tyto reakce jsou popsány v příbalovém letáku k léku, je snaha je minimalizovat podáním premedikace a řízením rychlosti podávání léku. Zde se zmíníme o některých závažnějších nebo neobvyklých situacích. Jejich výskyt je zobrazen na obrázku 6.

Syndrom akutní lýzy tumoru/a nebo masivního cytokinového uvolnění (cytokine-release syndrome). Byrd et al. (3) popsali 5 případů nemocných s různými B buněčnými malignitami, kteří měli rozsáhlou masu tumoru (cirkulující nádorové buňky v krvi i adenopatie nebo organomegalie), u nichž došlo po podání první dávky rituximabu k syndromu charakterizovanému těžkými reakcemi při infuzi, trombocytopenií, rychlým mizením nádorových buněk z krve, mírnými laboratorními známkami syndromu lýzy tumoru a u jednoho nemocného dokonce vznikl ascites. Ve 4 případech bylo možné v léčbě rituximabem pokračovat bez dalších závažnějších vedlejších efektů. Vzhledem k tomu, že klinický obraz neměl zcela typický charakter fulminantního rozpadu nádorových buněk např. doprovázený i selháním ledvin, je pravděpodobné, že celý stav byl spíše způsoben prudkým uvolňováním cytokinů. Autoři proto doporučují u pacientů, kde lze předpokládat vznik tohoto syndromu, začít léčbu malou dávkou rituximabu (100 mg) a teprve potom pokračovat v klasickém dávkování.

Na podobný klinický syndrom stav upozorňují i Winkler et al. (34). Závažné vedlejší účinky (horečka, třesavky, nauzea, zvracení, hypotenze, dušnost) se vyskytovaly zvláště u pacientů s leukocyty nad 50.10⁹/l. Byly u nich také zjištěny vysoké koncentrace TNF α a Il-6. Během 12 hodin po podání rituximabu došlo k dramatickému poklesu lymfocytů a trombocytů a objevila se elevace jaterních enzymů, D-dimerů, LD a prolongace protrombinového času. Autoři proto doporučují frakcionované podání rituximabu: 1. den 50 mg, 2. den 150 mg a 3. den zbytek do celkové dávky 375 mg/m².

V souvislosti s podáváním rituximabu bylo zcela **ojediněle popsáno i několik úmrtí** (14). Např. Byrd et al. (4) popisují 73letého nemocného s CLL po předchozích terapiích alkylačními látkami a fludarabinem, s trombocytopenií, v klinicky nevalném stavu a na terapii nízkomolekulárním heparinem pro hlubokou žilní trombózu. Během první infuze rituximabu se objevila hypoxémie, dušnost a tachykardie. Stav se přechodně zlepšil, ale pacient nakonec zemřel za příznaků progredující dušnosti a hemoptýzy. Úmrtí popisují i Huhn et al. (18) u 65letého nemocného s CLL, leukocytózou 274.10⁹/l, u něhož se do 10 hodin po

podání rituximabu rozvinulo multiorganové selhání s renální insuficiencí, hyperkalémií a nakonec srdeční zástavou.

Je tedy evidentní, že rituximab může u některých velmi rizikových nemocných, zvl. s velmi vysokými koncentracemi maligních buněk v krvi způsobit syndrom akutní lýzy tumoru a nebo syndrom masivního uvolnění cytokinů. Oba tyto stavy, ten či onen a nebo v kombinaci, mohou být potencionálně smrtelné. Po rituximabu byly popsány i **kožní reakce**. Jsou velmi vzácné a jejich vazba na tento lék není zcela stoprocentní. Kliniky se projevují jako paraneoplastický pemfigus, Stevens-Johnson syndrom a toxická epidermální nekrolýza (14). Vznik byl popsán v rozmezí 1-13 týdnů po aplikaci léku a s touto kožní reakcí byly dávány do souvislosti i úmrtí.

Závěr

Rituximab je jistě obohacením našich léčebných možností u nemocných s CLL. Nevykazuje vůbec toxické reakce, které jsou zcela běžné po cytostaticích, neboť i jeho mechanismus účinku je zcela odlišný od působení cytostatik. Jeho použití je možné i tam, kde je vyčerpána dřevňová rezerva po předchozí cytostatické opakované léčbě. Nižší léčebnou odpověď po standardních dávkách lze zvýšit eskalací dávek rituximabu. U nemocných s vysokým počtem cirkulujících nádorových buněk je vhodné napřed podat dávku menší a předejít tak syndromu akutní lýzy tumoru. Intenzivně se studuje kombinace rituximabu s cytostatiky a jeho podávání v časnějších stádiích choroby.

Literatura

- Berinstein N. L., Grillo-López A. J., White C.A. et al.: Association of serum rituximab (IDEC-C2B8) concentration and anti-tumor response in the treatment of recurrent low-grade or follicular non-Hodgkin's lymphoma. *Ann. Oncol.* 9, 1998, s. 995-1001.
- Bikoue A., George F., Poncelet P. et al.: Quantitative analysis of leukocyte membrane antigen expression: normal adult values. *Cytometry* 26, 1996, s. 137-147.
- Byrd J. C., Waselenko J. K., Maneatis T. J. et al.: Rituximab therapy in hematologic malignancy patients with circulating blood tumor cells: association with increased infusion-related side effects and rapid blood tumor clearance. *J. Clin. Oncol.* 17, 1999, s. 791-795.
- Byrd J. C., Murphy T., Howard R. S., Lucas M. S., Goodrich A. et al.: Rituximab using a thrice weekly dosing schedule in B-cell chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma demonstrates clinical activity and acceptable toxicity. *J. Clin. Oncol.* 19, 2001, s. 2153-2164.
- Byrd J. C., Peterson B., Park K. et al.: Rituximab added to fludarabine improves response in previously untreated chronic lymphocytic leukemia: preliminary results from CAaLGB 9712. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 20, 2001, abstract No. 1116.
- Cartron G., Dacheux L., Salles G. et al.: Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor Fc γ IIIa gene. *Blood* 99, 2002, s. 754-758.
- Drapkin R.: Pentostatin and rituximab in the treatment of patients with B-cell malignancies. *Oncology* 14, 2000, Suppl. 2, s. 25-29.
- Foran J. M., Rohatiner A. Z. S., Cunningham D. et al.: European phase II study of rituximab (chimeric anti-CD20 monoclonal antibody) for patients with newly diagnosed mantle-cell lymphoma and previously treated mantle-cell lymphoma, immunocytome, and small B-cell lymphocytic lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 18, 2000, s. 317-324.
- Geryk E., Kolcová V.: Epidemiologie. In: Mayer J., Starý J.: *Leukemie*. Grada, Praha 2002, s. 22-30.
- Geisler C. H., Larsen J. K., Hansen N. E. et al.: Prognostic importance of flow cytometric immunophenotyping of 540 consecutive patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 78, 1991, s. 1795-1802.
- Ghazal H.: Successful treatment of pure red cell aplasia with rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 99, 2002, s. 1092-1094.
- Golay J., Lazzari M., Fachchinetti V. et al.: CD20 levels determine the in vitro susceptibility to rituximab and complement of B-cell chronic lymphocytic leukemia: further regulation by CD55 and CD59. *Blood* 98, 2001, s. 3383-3389.
- Grillo-López A. J.: Rituximab: An insider's historical perspective. *Semin. Oncol.* 27, 2000, No 6, Suppl. 12, s. 9-16.
- Grillo-López A. J., Hedric E., Rashford M., Benyunes M.: Rituximab: ongoing and future clinical development. *Semin. Oncol.* 29, 2002, Suppl. 2, s. 105-112.
- Gupta N. K., Kavuru S., Patel D. V. et al.: Long-term results from a monthly regimen of rituximab, cyclophosphamide, and dexamethasone in advanced chronic lymphocytic leukemia. *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.* 21, 2002, abstract No 1098.
- Hainsworth J. D., Burris H. A., Morrissey L. H. et al.: Rituximab monoclonal antibody as initial systemic therapy for patients with low-grade non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 95, 2000, s. 3052-3056.
- Huh Y. O., Keating M. J., Saffer H. L. et al.: Higher levels of surface CD20 expression on circulating lymphocytes compared with bone marrow and lymph nodes in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 116, 2001, s. 437-443.
- Huhn D., von Schilling C., Wilhelm M. et al.: Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 98, 2001, s. 1326-1331.
- Kalil N., Cheson B. D.: Management of chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs Aging* 16, 2000, s. 9-27.
- Keating M. J., O'Brien S., Albitar M.: Emerging information on the use of rituximab in chronic lymphocytic leukemia. *Semin. Oncol.* 19, 2002, Suppl. 2, s. 70-74.
- Kolk L. E., van der, Grillo-López A. J., Baars J. W. et al.: Complement activation plays a key role in the side-effects of rituximab treatment. *Brit. J. Haematol.* 115, 2001, s. 807-811.
- Maloney D. G., Liles T. M., Czerwinski D. K. et al.: Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 84, 1994, s. 2457-2466.
- Maloney D. G., Grillo-López A. J., White C. A. et al.: IDEC-C2B8 (rituximab) anti CD-20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 90, 1997, s. 2188-2195.
- Maloney D. G., Smith B., Rose A.: Rituximab: mechanism of action and resistance. *Semin. Oncol.* 29, 2002, No 1, Suppl. 2, s. 2-9.
- Mayer J., Navrátil M., Vášová I., Vorlíček J.: Necytostatická léčba malignit. Anti CD20 monoklonální protilátka (rituximab, Mabthera) v léčbě ne-Hodgkinových lymfomů. *Vnitřní lék.* 47, 2001, Suppl. 1, s. 57-61.
- McLaughlin P., Grillo-López A. J., Link B. K. et al.: Rituximab chimeric anti CD-20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J. Clin. Oncol.* 16, 1998, s. 2825-2833.
- Nabhan C., Tallman M. S., Riley M. B. et al.: Phase I study of rituximab and Campath 1-H in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 98, 2001, No 11, abstract No 1536.
- O'Brien S. M., Kantarjian H., Thomas D. A. et al.: Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 19, 2001, s. 2165-2170.
- Pickartz T., Ringel F., Wedde M. et al.: Selection of B-cell chronic lymphocytic leukemia cell variants by therapy with anti-CD20 monoclonal antibody rituximab. *Exp. Hematol.* 29, 2001, s. 1410-1416.
- Rai K. R., Gupta N. K., Janson D. et al.: Rituximab, cyclophosphamide and decadron combination is highly effective in auto-immune hemolytic anemia associated with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 96, 2000, No 11, abstract No 3264.
- Riley J.K., Sliwkowski M. X.: CD20: a gene for search of a function. *Semin. Oncol.* 2000, 27, No 6 Suppl. 12, s. 17-24.
- Seipelt G., Bohme A., Koschmieder S., Hoelzer D.: Effective treatment with rituximab in a patient with refractory prolymphocytoid transformed B-chronic lymphocytic leukemia and Evans syndrome. *Ann. Hematol.* 80, 2001, s. 170-173.
- Tefferi A., Bartholmai B.J., Witzig T.E. et al.: Heterogeneity and clinical relevance of the intensity of CD20 and immunoglobulin light-chain expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 106, 1996, s. 457-461.
- Winkler U., Jensen M., Manzke O. et al.: Cytokine-release syndrome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia and high lymphocyte counts after treatment with anti CD-20 monoclonal antibody (rituximab, IDEC-C2B8). *Blood* 94, 1999, s. 2217-2224.