

Metronomická léčba v onkologii jako nová léčebná metoda

Danica Bronišová¹, Peter Múdry¹, Jaroslav Štěrba¹, Viera Bajčiová¹, Dalibor Valík², Lenka Dubská², Pavel Mazánek¹, Petr Lokaj¹, Karel Zitterbart¹

¹Klinika dětské onkologie, PDM FN Brno

²Oddělení laboratorní medicíny, Masarykův onkologický ústav, Brno

Prognóza pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním, relapsem či jinak vysoce rizikovým tumorem zůstává i v dnešních dnech nepříznivá. Pro tyto pacienty se v posledních dvaceti letech stává metronomická léčba stále častěji vhodnou alternativou ke konvenční chemoterapii. Metronomická léčba je založená na dlouhodobém, chronickém podávání nízkých dávek cytostatik ve vyšší frekvenci, např. denně bez prolongovaných pauz, jako je tomu u standardní chemoterapie. Na rozdíl od chemoterapie založené na maximálních tolerovaných dávkách má minimální toxicitu a umožňuje převážně ambulantní léčbu. Mechanismus účinku je předmětem výzkumu, předpokládá se kombinace inhibice angiogeneze, stimulace imunitního systému a přímého cytotoxického efektu na nádorové buňky. Článek shrnuje výsledky preklinických i klinických studií se zaměřením se na využití metronomické léčby v pediatričké onkologii.

Klíčová slova: metronomická léčba, angiogeneze, dítě, relaps.

Metronomic therapy as new challenge in medical oncology

The outcome of patients with progressive cancer, relaps or high risk tumor remains very poor. For these patients metronomic chemotherapy begins to be suitable alternative to conventional chemotherapy. Metronomic therapy refers to long term, chronic administration of low doses of conventional cytotoxic agents. Unlike „dose dense“ chemotherapy, it is minimally toxic and can be taken on out-patient basis. Mechanism responsible for the antitumor effect of metronomic therapy is under investigation, it is thought to be combination of antiangiogenic effect, stimulation of the immune response and direct cytotoxic action on tumour cells. This review describes the results of preclinical and clinical studies with the intention of usage in pediatric oncology.

Key words: metronomic therapy, angiogenesis, relaps, child.

Onkologie 2009; 3(4): 227–229

Úvod

Za poslední půlstoletí byl v dětské onkologii zaznamenán obrovský úspěch kurativní chemoterapie. Dříve fatální onemocnění jsou dnes trvale vyléčitelná ve většině případů dětských malignit, celkově dosahuje dlouhodobého přežití bez nemoci 70–80 % pacientů. Náznorným příkladem jsou leukemie dětského věku, lymfomy, maligní germinální nádory, embryonální nádory CNS nebo lokalizované sarkomy. Na druhé straně naneštěstí dosud nedokážeme pomoci k vyléčení pacientům s metastatickými sarkomy, gliomy mozku nebo pacientům s relapsy leukemií po alogenní transplantaci kostní dřeně. Tato onemocnění jsou refrakterní ke konvenční chemoterapii. Novou lákovou metodou léčby nádorů se v posledních dvaceti letech stal koncept metronomické léčby.

Angiogeneze a neovaskularizace

Nádorová tkáň je schopna proliferovat do velikosti přibližně 1 mm³ bez nutnosti vlastního cévního zásobení. Výživa a metabolismus jsou

do této velikosti zajištěny prostou difúzí. Při dalším růstu dochází k ischemii, která vyvolá stimulaci „hypoxia inducible factors“ (HIF) kaskádu reakcí, na jejichž konci je novotvorba cév (8). Proces, při němž se tvoří cévní zásobení z již existujících cév v okolí mikroskopického ložiska nádoru, se nazývá angiogeneze (9). Novotvorba cév z endoteliálních progenitorů bez návaznosti na již existující cévní řečiště se nazývá neovaskularizace (9). S angiogenezí se za fyziologických okolností setkáváme při remodelaci cév během vývoje lidského plodu, u žen v děložce během menstruačního cyklu nebo při hojení ran a taky při některých patologických procesech – např. s věkem asociované makulární degenerace, psoriázy, revmatoidní artritidy a taky nádory. Na angiogenezi závisí nejenom přežití samotného nádoru, ale také jeho schopnost vytvořit metastázy (9, 13). Obecně lze říct, že patologická angiogeneze vzniká nepoměrem mezi proangiogenními a antiangiogenními stimuly. Tedy mezi stimulatory angiogeneze, jako jsou růstové faktory (např. VEGF, bFGF, angiopoetin-1, G-CSF) a inhi-

bitory angiogeneze (trombospondin-1, endostatin, angiostatin, interferon alfa) (9).

Metronomická léčba

Hypotézu o nezbytnosti angiogeneze pro nádorový růst formuloval v roce 1971 chirurg Judah Folkman (6). V roce 2000 Isaiah Fidler a Lee Ellis definovali tumor jako chronické onemocnění a popsali teorii, že je nutné jej tak i léčit (5). Ve stejném období Robert Kerbel z laboratoře dr. Folkmana publikoval preklinická data o inhibici angiogeneze opakovaným podáváním malých dávek běžně užívaných cytostatik (10). Zatímco konvenční chemoterapie je založena na podávání maximálně tolerovaných dávek (MTD) cytostatik v různých kombinacích a sekvencích, metronomická léčba je založena na dlouhodobém podávání nízkých dávek běžně užívaných cytostatik (metronomická chemoterapie) (6). Definice metronomické léčby není ustálená, v podstatě se jedná o dlouhodobé, chronické podávání nízkých dávek cytostatik ve vyšší frekvenci, např. denně, bez následných pauz, jako je tomu u konvenční chemoterapie.

Mechanismus účinku metronomické léčby a potenciální markery angiogeneze

Dosud bylo vyvinuto několik desítek přímých či nepřímých inhibitorů angiogeneze, jako např. bevacizumab, sorafenib a sunitib. Současně byl prokázán antiangiogenní efekt některých cytostatik – methotrexátu, paclitaxelu, cyklofosfamidů a dalších (18).

Snaha dokázat antiangiogenní působení metronomické léčby a snaha o monitoraci úspěšnosti léčby vedla k nutnosti detekovat spolehlivý marker angiogeneze. Vzhledem ke své časté přítomnosti v maligní tkáni byl jako jeden z prvních zkoušen polypeptid VEGF. Několik studií prokázalo snížení plazmatických hladin VEGF v průběhu metronomické léčby (18). Jiné práce ale neprokázaly přímý vztah mezi plazmatickou hladinou VEGF a klinickou odpovědí nádoru na léčbu (19). Jako další markery angiogeneze ze skupiny růstových faktorů jsou zkoumány trombospodin-1, bFGF, endostatin (18).

V současnosti se poměrně velká pozornost věnuje hladinám cirkulujících endoteliálních buněk (circulating endothelial cells, CEC). Ty jsou v krvi přítomny buď zralé (mCEC), nebo méně zralé progenitorové (CEPC). Zralé cirkulující endotelie pravděpodobně pocházejí z cévní stěny, do periferie se dostávají odloučením při poranění, zánětu či patologické angiogenezi (15). Jsou detekovatelné v periferní krvi zdravých jedinců, většinou ale v malém množství. Cirkulující progenitorové endotelie pak pocházejí z kostní dřeně a podílejí se na formaci nových cév zejména při patologických stavech (1, 3). Zvýšené hladiny obou typů buněk byly prokázány jak na preklinických modelech, tak u pacientů s maligním onemocněním. Výsledky výzkumů ukazují, že by se mohlo jednat o biomarker vhodný k monitoraci úspěšnosti cílené antiangiogenní léčby. Metronomická léčba by tak mohla vést k inhibici cirkulujících progenitorových endotelií a tím inhibici angiogeneze (18).

Dalším z možných účinků metronomické léčby by mohla být stimulace imunitního systému, resp. imunitní odpovědi organismu na přítomnost nádorové tkáně. Tato teorie se opírá o studii, ve které autoři prokázali snížení hladin regulačních T lymfocytů, které inhibují konvenční T lymfocyty a NK buňky; pacienti měli pokročilé nádorové onemocnění a byl jim metronomicky podáván cyklofosfamid (7, 17). Inhibici regulačních T lymfocytů dochází k proliferaci periferních T lymfocytů a NK buněk a tím zapojení imunitního systému do léčby.

Metronomická léčba tedy může působit více mechanismy: inhibici angiogeneze, stimulaci imunitního systému a přímým cytotoxickým efektem na nádorové buňky.

Preklinické studie metronomické léčby

V jedné z prvních prací autoři demonstrovali anti-angiogenní efekt cyklofosfamidů podávaného v nižší dávce, než je MTD a v kratších intervalech na dvou cyklofosfamid rezistentních tumorech. Ještě lepších výsledků dosáhli kombinací nízké dávky cyklofosfamidu se specifickou antiangiogenní látkou (18). Současně byl in vitro prokázán antiproliferativní efekt vinblastinu na endoteliální buňky lidské umbilikální žíly, ale ne na buněčné linie neuroblastu (18). In vivo byl laboratorním potkanům s xenografty neuroblastu podán buď nízké dávky vinblastinu, nebo monoklonální protilátka proti receptoru VEGF-2, nebo obojí. V prvních dvou případech došlo ke krátce trvající inhibici růstu nádoru. Naopak při kombinované léčbě následovala dlouhotrvající regrese nádoru, bez příznaků toxicity konvenční chemoterapie (18). Vacca a kol. prokázali jak in vitro, tak in vivo antiangiogenní aktivitu vinblastinu závislou na dávce (18). V dalších pracích byl pak prokázán antiangiogenní účinek běžně používaných cytostatik v závislosti na dávce a frekvenci podávání – irinotekanu, merkaptopurinu, cyklofosfamidu a doxorubicinu (6, 18).

Klinické studie metronomické léčby

První klinická studie o metronomické léčbě byla publikována v roce 2002. Pacientky s pokročilým nádorem prsu užívaly nízké dávky cyklofosfamidu a methotrexátu s poměrně vysokou úspěšností a minimální toxicitou (6). Dosud bylo publikováno několik studií fáze I a II o použití metronomické léčby u poměrně širokého spektra typů nádorových onemocnění s povzbuzujícími výsledky (6). Použita byla cytostatika cyklofosfamid, doxorubicin, etoposid, methotrexát, paclitaxel a další. Přehledná tabulka klinických studií od roku 2002 byla recentně publikována v práci autorů Scharovsky a kol. (18).

Metronomická léčba v dětské onkologii

Léčba progredujících nebo vysoce rizikových solidních nádorů dětského věku je v dětské onkologii velkou výzvou. Terapeutické postupy tzv. druhé volby, které jsou relativně účinné např. v léčbě leukemií nebo germinálních nádorů, se-

lhávají u řady jiných solidních tumorů dětského věku (16). Léčebné postupy založené na použití vysokodávkové chemoterapie následované transplantací kmenových buněk či radioterapie např. na kraniospinální osu mají zejména u malých dětí značné nežádoucí účinky, z nichž některé jsou chronické a tak provázejí pacienta celý život (20). Ve snaze jednak zlepšit prognózu malých pacientů, jimž nemůžeme nabídnout standardní léčebný postup, a také pokud možno minimalizovat toxicitu léčby pronikla metronomická léčba i do dětské onkologie.

V roce 2005 publikovali autoři Kieran a kol. výsledky léčby metronomicky podávaného celecoxibu s thalidomidem a alternativně ve třítydenních cyklech perorálního etoposidu a cyklofosfamidu celkově během 6 měsíců u dětí s relapsem nebo progresivním maligním onemocněním. Celkově bylo do studie zařazeno 20 dětí, z toho 12 léčbu nedokončilo (1 pro hlubokou žilní trombózu, 1 odmítlo další léčbu a 10 pro progresi onemocnění). Z 8 dětí, které léčbu dokončily, jich 5 dosáhlo dlouhodobého přežití bez progresu. Tolerance léčby byla výborná i přes značné předléčení pacientů (11).

Stempak a kol. publikovali v roce 2006 výsledky své pilotní farmakokinetické studie léčby celecoxibem a nízké dávky cyklofosfamidu nebo vinblastinem u dětí s rekurentními solidními tumory. Z 33 pacientů dosáhli 4 stabilizaci onemocnění. Léčba byla velmi dobře tolerovaná s minimální toxicitou. Dalším cílem studie bylo zhodnotit validitu hladin růstového faktoru VEGF a inhibitoru angiogeneze trombospodinu-1 jako markerů angiogeneze a úspěšnosti léčby. V této studii nebyl však prokázán signifikantní vztah mezi hladinou těchto markerů a léčebnou odpovědí (19).

Farmakokinetikou i bezpečností metronomicky podávaného temozolomidu se zabývala studie autorů Baruchel a kol. u dětských pacientů s rekurentními mozkovými nádory. Celkem 28 pacientům byl podáván temozolomid během 6 týdnů s následující pauzou 1 týden. Ze 20 zhodnocených pacientů 2 dosáhli kompletní remise (pacient s meduloblastomem a PNET) a 2 parciální remise (pacient s high grade gliomem). MTD temozolomidu byla stanovena na 85 mg/m² (2).

Z nedávno publikovaných studií byla pozoruhodnou práce německých autorů Klingebiel a kol. ze skupiny Cooperative Weichteilsarkoma Studie porovnávající vysokodávkovou myeloablativní léčbu s léčbou metronomickou u pediatrických pacientů s metastatickým sarkomem měkkých tkání. V této studii byli pacienti po iniciační standardní léčbě 7 cyklů konvenční

chemoterapie (ifosfamid/actinomycin D/vinkristin střídavě s karboplatina/epirubicin) léčeni ve dvou kohortách – buď dva bloky vysokodávkované chemoterapie s autologní transplantací kmenových buněk nebo k perorální udržovací léčbě. V kohortě udržovací léčby užívali pacienti alternativně trofosfamid s idarubicinem nebo s etoposidem celkově 24 týdnů. V rameni s vysokodávkovanou chemoterapií bylo 45 pacientů, do doby analýzy jich žilo 11, zatímco v kohortě 51 pacientů s metronomickou udržovací léčbou jich přežilo 26, rozdíl v celkovém přežití obou skupin na hladině významnosti $p = 0.03$ (12).

Zkušenosti z našeho pracoviště jsou podobné jako výše uvedené. V naší pilotní studii na léčbu COMBAT – „Combined oral metronomic biodifferentiating antiangiogenic therapy“ – dosáhlo odpovědi 8 pacientů. V soubor pacientů byly děti s progredujícími solidními non-CNS nádory po léčbě první volby, s nádory refrakterními na dosavadní léčbu nebo pacienti v remisi, kde prognóza udržení remise byla méně než 50% (ve srovnání s historickými kontrolami). Léčebné schéma je kombinací celecoxibu, fenofibrátu a nízcédávkovaných chemoterapeutik (cyklofosfamid, temozolomid) spolu s pro-diferenčními biologicky aktivními kyselinou cis-retinovou a ergokalciferolem podávanými denně; u sarkomů měkkých tkání s přidáním vinorelbinu 1x týdně. Dle preklinických studií COX-2 inhibitory indukují apoptózu nádorových buněk a inhibují angiogenezi, fenofibrát brání proliferaci a migraci buněk endotelu a tím novotvorbě cév, kyselina cis-retinová a biologicky aktivní forma vitamínu D indukují diferenciaci nádorových buněk s následnou indukcí apoptózy. Celkem bylo do souboru zařazeno 21 pacientů. Zastoupení jednotlivých typů nádorů bylo následující – neuroblastomy (5), kostní sarkomy (8), sarkomy měkkých tkání (5), hepatocelulární karcinom (1), metastatický obrovskobuněčný kostní nádor (1) a maligní karcinoid (1). Celkem 16 pacientů zahájilo tuto léčbu v progresi onemocnění a bylo u nich možné hodnotit odpověď. Z těchto 16 pacientů 2 dosáhli kompletní remise, 5 parciální remise, 1 smíšené odpovědi, 1 stabilní

onemocnění (SD), u 6 došlo záhy během léčby k progresi onemocnění, u 1 pacienta nebyla odpověď v době analýzy zhodnocena. Vzhledem k poměrně vysoké úspěšnosti léčby COMBAT přestavuje tato léčba vhodnou nabídku v porovnání se symptomatickou léčbou (16).

Závěr

Prognóza pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním, relapsem či jinak vysoce rizikovým tumorem zůstává i v dnešních dnech nepříznivá. V době vysokodávkované chemoterapie, transplantace kmenových buněk krvetvorby a dalších nových způsobů léčby s využitím monoklonálních protilátek či inhibitorů kináz je otázkou, zda-li je opravdu „více“ taky „lépe“. Několik publikovaných studií poukazuje na fakt, že možná nikoliv remise nádoru je hlavní hodnotící kritérium úspěšné protinádorové léčby; spíše dlouhodobé přežití pacienta s minimální toxicitou a vysokou kvalitou života může být u některých typů nádorů vhodným měřítkem úspěšnosti léčby. Kvalitní klinické studie s monitorací úspěšnosti léčby, s přesně stanovenými optimálními dávkami jednotlivých cytostatik a minimální toxicitou jsou výzvou v oboru metronomické léčby.

Literatura

1. Asahara T, Takahashi T, Masuda H, et al. VEGF contributes to postnatal neovascularization by mobilizing bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *EMBO J* 1999; 18: 3964–3972.
2. Baruchela S, Diezia M, Hargrave D, Stempak D, et al. Safety and pharmacokinetics of temozolomide using a dose-escalation, metronomic schedule in recurrent paediatric brain tumours. *European Journal of Cancer* 2006; 42: 2335–2342.
3. Bertolini F, Paul S, Mancuso P, et al. Maximum tolerated dose and low-dose metronomic chemotherapy have opposite effects on the mobilization and viability of circulating endothelial progenitor cells. *Cancer Res* 2003; 63: 4342–4346.
4. Fersis N, Smysczek-Gargya B, Armeanu S, et al. Changes in vascular endothelial growth factor (VEGF) after chemodendocrine therapy in breast cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004; 25: 45–50.
5. Fidler IJ, Ellis LM. Chemotherapeutic drugs: more really is not better. *Nature Medicine* 2000; 6: 500–502.
6. Gasparini G. Metronomic scheduling. The future of chemotherapy? *The Lancet Oncology* 2001; 2: 733–740.
7. Ghiringhelli F, Menard C, Puig PE, et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4+ CD25+

regulator T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patient. *Cancer Immunol Immunother* 2006; 56: 641–648.

8. Zhong H, De Marzo AM, Laughner E, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 α in common human cancers and their metastases. *Cancer Res* 1999; 59: 5830–5835.

9. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis* 2000; 21: 505–515.

10. Kerbel R, Kamen B. The Anti-Angiogenic Basis of Metronomic Chemotherapy. *Nature Reviews Cancer* 2004; 4: 6.

11. Kieran M, Turner Ch, Rubin J, et al. A Feasibility Trial of Antiangiogenic (Metronomic) Chemotherapy in Pediatric Patients With Recurrent or Progressive Cancer. *J of Pediatr Hematol/Oncol* 2005; 27: 573–581.

12. Klingebiel T, Boos J, Beske F, et al. Treatment of children with metastatic soft tissue sarcoma with oral maintenance compared to high dose chemotherapy: Report of the HD CWS-96 Trial. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50: 739–745.

13. Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumor-host interface. *Nature* 2001; 411: 375–379.

14. Mainetti LE, Rozados VR, Bonfil RD, Scharovsky OG. Metronomic therapy with cyclophosphamide or doxorubicin inhibits mouse adenocarcinoma growth and metastasis development. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2005; 46: 1337.

15. Mancuso P, Burlini A, Pruneri G, et al. Resting and activated endothelial cells are increased in the peripheral blood of cancer patients. *Blood* 2001; 97: 3658–3661.

16. Múdry P, Bronišová D, Bajčiová V, et al. Anti-angiogenic and biodiferenční terapie „COMBAT“ pilotní studie u dětí s refrakterními či recidivujícími non-CNS solidními nádory. *Edukační sborník XXXII. Brněnské onkologické dny. Brno 2008.* ISBN 978-9780-86793-11-5: 372–373.

17. Rozados VR, Mainetti LE, Rico MJ, et al. Antiangiogenic and immunomodulatory effect of the metronomic therapy with cyclophosphamide. *Biocell* 2007; 3: 119.

18. Scharovsky OG, Mainetti LE, Rozados VR. Metronomic chemotherapy: changing the paradigm that more is better. *Current Oncology* 2009; 16: 7–15.

19. Stempak D, Gammon J, Halton J, et al. A pilot pharmacokinetic and antiangiogenic biomarker study of celecoxib and low-dose metronomic vinblastine or cyclophosphamide in pediatric recurrent solid tumors. *J Pediatr Hematol Oncol* 2006; 28: 720–728.

20. Sterba J, Zitterbart K, Bronisova D, et al. Metronomic chemotherapy in pediatric oncology: Hype or hope? *Arch Pediatr* 2009; 16: 1158–1165.

MUDr. Danica Bronišová

Klinika dětské onkologie PDM FN Brno
Černopolní 9, 625 00 Brno
dbronisova@fnbrno.cz