

Nové možnosti v léčbě myelodysplastického syndromu

Eva Kadlčková¹, Peter Rohoň²

¹Hematologicko-transfuzní oddělení Krajské nemocnice T. Bati Zlín

²Hematoonkologická klinika FN a LF UP Olomouc

Myelodysplastický syndrom (MDS) je heterogenní skupina klonálních onemocnění krvetvorné kmenové buňky, která se vyznačuje dysplastickými změnami prekursorů v kostní dřeni, periferní (pan) cytopenií a zvýšeným rizikem progresu do akutní myeloidní leukemie (AML). V terapii MDS byly dlouhodobě využívány především dvě základní modalities: podpůrná péče nebo alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk (ASCT). V poslední době se však léčebné možnosti pro MDS nemocné významně rozšířily. Vedle konvenčně používané terapie se objevily nové léky a jejich kombinace, které mohou ovlivnit přirozený průběh choroby a prodloužit přežití. V klinické praxi nacházejí největší uplatnění hypometylační látky, imunomodulans lenalidomid (LEN) a moderní chelátory.

Klíčová slova: myelodysplastický syndrom, hypometylační látky, imunomodulace, chelatace železa.

New options in the treatment of myelodysplastic syndromes

Myelodysplastic syndromes (MDS) are heterogeneous group of clonal hematopoietic stem cell disorders characterized by dysplastic changes of bone marrow precursors, peripheral (pan) cytopenias and an increased risk of progression to acute myeloid leukemia (AML). Two basic therapeutic approaches were used in the treatment of MDS: supportive care or allogeneic stem cell transplantation (ASCT). Nowadays the treatment options for MDS patients has significantly expanded. In addition to conventional treatment there are new drugs and their combinations which may affect the natural history of the disease and prolong survival. In the clinical practice hypomethylating agents, immunomodulatory drug lenalidomide (LEN) and modern chelators are used.

Key words: myelodysplastic syndromes, hypomethylating agents, immune modulation, iron chelators.

Onkologie 2014; 8(1): 28–33

Seznam zkratk

5-AZA – 5-azacytidin
AL – akutní leukemie
AML – akutní myeloidní leukemie
ATG – antithymocytární globulin
CMML – chronická myelomonocytární leukemie
CMP, CDP, CTP – cytidin-mono-di- trifosfát
CR, PR – kompletní, parciální remise
Cs-A – cyclosporin A
DAC – 5-aza-2'-deoxycytidin, decitabin, Dacogen, Eisai
DNMTs – DNA metyltransferázy
dNTP – dinukleotidfosfát
ESP – erytropoézu stimulující proteiny
Fe – železo
G-CSF – granulocytes-colony stimulating factor, granulocytární kolonie stimulující faktor
GIT – gastrointestinální trakt
IL – interleukin
INF- γ – interferon gama
IPSS – International Prognostic Scoring System, Mezinárodní prognostický skórovací systém
IPSS-R – Revidovaný mezinárodní prognostický index
Iron overload – přetížení železem
LIC – liver iron concentration, množství železa v jaterní sušině
LIP – labile iron pool, labilní železo

MDS – myelodysplastický syndrom
MDS-U – myelodysplastický syndrom neklasifikovatelný
NTBI – non-transferin bound iron, netransferinové železo
OS – overall survival, celkové přežívání
RAEB – refrakterní anemie s nadbytkem blastů
RARS – refrakterní anemie s prsténčitými sideroblasty
RCUD – refrakterní cytopenie s unilinéární dysplazií
ROS – reactive oxygen species, kyslíkové radikály
RRM2 – M2podjednotka ribonukleotidové reduktázy
SCT – transplantace krvetvorných buněk
SPARC – secreted protein acid and rich in cysteine
SQUID – superconducting quantum interference device
TNF- λ – tumor necrosis faktor-alfa
T.U. – transfusion unit, transfúzní jednotka
VTE – venózní trombembolizmus
WPSS – WHO Prognostic Scoring System, WHO-prognostický skórovací systém
Zn – Zinek

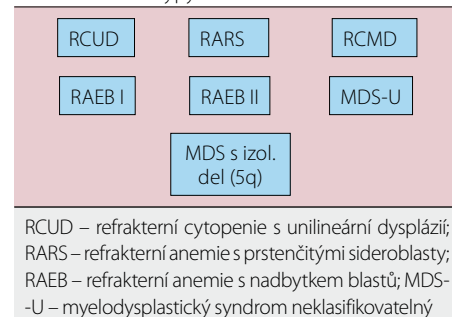
Úvod

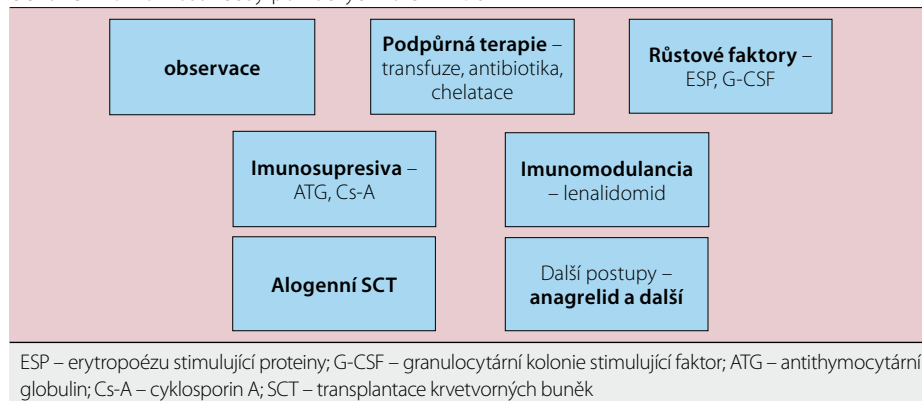
Myelodysplastický syndrom je heterogenní skupina onemocnění vznikajících jako klonální

porucha krvetvorby, jež je důsledkem časné mutace postihující hemopoetické progenitory. Společnými rysy těchto chorob jsou dysplastické změny prekursorů v kostní dřeni, periferní cytopenie a zvýšené riziko progresu do AML. MDS vzniká *de novo* nebo jako důsledek předchozí chemoterapie nebo radioterapie. Klinický průběh závisí na subtypu MDS a cytogenetických změnách. Přežití pacientů osciluje mezi několika měsíci až mnoha lety (1). MDS patří k onemocněním staršího věku a jde o nejčastější hematologickou malignitu u pacientů starších 70 let, v USA se incidence pohybuje kolem 20/10⁵ obyvatel/rok (2).

Pro léčbu pacienta s MDS je důležitá nejen přesná klasifikace subtypu choroby (obrázek 1), ale především zařazení pacienta do rizikové sku-

Obrázek 1. Subtypy MDS dle WHO klasifikace 2008



Obrázek 2. Možnosti léčby pokročilých forem MDS

piny dle mezinárodního prognostického skórovacího systému (International Prognostic Scoring System – **IPSS**). IPSS je v současnosti nejužívanějším mezinárodně uznávaným kritériem pro stanovení prognózy pacienta, která je podstatná pro rozhodování o konkrétní léčebné strategii (3). V roce 2012 byl publikován revidovaný mezinárodní prognostický index (**IPSS-R**), který uvádí 5 místo původních 3 cytogenetických prognostických podskupin a novou klasifikaci celé řady méně obvyklých cytogenetických podjednotek, zpřesňuje význam nízké hladiny dřevňových blastů a hloubky cytopenií. Tento prognostický model definuje 5 prognostických kategorií a měl by ještě dále zpřesnit predikci klinických výsledků dosud neléčených pacientů a pomoci při navrhování a analýze klinických studií (4). WHO prognostický skórovací index (WPSS) je modifikací IPSS a obsahuje další parametry jako např. transfuzní závislost nebo implementaci morfologických nálezů (multilineární dysplazii) (5).

Obecně lze říci, že pro nízce rizikové pacienty (low risk a intermediate-1 dle IPSS) volíme spíše konzervativní přístup (obrázek 2) a u rizikovějších, pokročilých (intermediate-2 a high risk dle IPSS) stadií dáváme přednost intenzivní léčbě (obrázek 3) (6). Ve výběru vhodné terapie hraje důležitou roli i věk pacienta a jeho komorbidita.

Epigenetická terapie

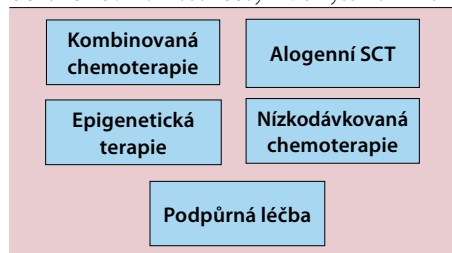
Využití konvenční terapie pokročilých forem MDS neprokázalo zlepšení přežití, transfuzní závislosti a oddálení doby transformace do AML (7). V minulých letech byly zaznamenány významné pokroky v léčbě pokročilých forem MDS pomocí epigenetických regulátorů. Tato léčba je definována jako modulace genové exprese bez zásahu do kódujících sekvencí DNA (8, 9). V dalším textu se budeme podrobně věnovat především klinicky nejvýznamnější molekule z této skupiny – **5-azacytidinu** (5-AZA, Vidaza®, Celgene), který se dostal do 1. linie léčby pro pokročilé formy MDS.

Hypermetylace genů zapojených do kontroly buněčného cyklu a apoptózy je častá v progenitorových buňkách pacientů s MDS. Jde především o regulační geny kódující inhibitory cyklin-dependentních kináz *p15* a *p16*. Kódující geny podléhají raritně mutacím, ale transkripce genu *p15* je tlumena abnormální metylací promotorové oblasti asi u 50% pacientů s pokročilou formou MDS (10). Metylace DNA je reverzibilní proces a lze ji změnit pomocí specifických molekul, inhibitorů DNA metyltransferáz (DNMTs), jako jsou např. 5-AZA, decitabin (DAC) a analogy S-adenosylhomocysteinu (11). DNMTs jsou odpovědné za metylaci cytosinu v oblasti CpG dinukleotidového motivu (CpG ostrůvky) promotorů, způsobují tím hypermetylací některých genů zapojených do progresu MDS a tzv. epigenetický „silencing“. Je ale nutné dodat, že příčina aberantní metylace není spolehlivě vysvětlena. Uvažuje se, že může být indukována somatickou mutací genů (např. *DNMT3A*, *IDH1/2*, *TET2*) nebo jsou spouštěčem progresu MDS epigenetické abnormality *per se* (12).

5-AZA je analogem cytidinu, ale místo pyrimidinového obsahuje triazinový skelet. Byl objeven roku 1964 českými vědci Pískalou a Šormem a v témže roce bylo na experimentální myši leukémii zjištěno, že má významnou antiproliferační aktivitu (13). 5-AZA prostupuje do buněk a ovlivňuje metabolismus DNA i RNA. V prvním kroku dochází v buňce k jeho fosforylaci pomocí uridin-cytidinkinázy, další fosforylace vede až ke vzniku trifosfátu (5-aza-CTP), který je inkorporován do RNA (14). Takto probíhá metabolisme 80 až 90% 5-AZA a v konečném důsledku narušuje syntézu mRNA, metabolismus proteinů a vede k navození apoptózy (15). Pouze malá část (10–20%) z difosfátového meziproductu je pomocí ribonukleotidové reduktázy převedena na deoxyformu a následně fosforylována za vzniku 5-azaC-dCTP (DAC-TP) (12). DAC-TP je inkorporován do DNA a kovalentně váže DNMTs. Dochází tak k inhibici ak-

tivity těchto enzymů. Účinek hypometylačních molekul na „DNA cestu“ je částečně vysvětlen, ovlivnění mRNA a proteosyntézy zůstává doposud nejasné. 5-AZA má pleiotropní účinek a nepůsobí pouze jako hypometylační agens, ale má i významné imunomodulační účinky – zvyšuje zastoupení FoxP3+ T-lymfocytů (T-regulačních buněk) a snižuje celkový počet TH17 buněk (16).

V současné době je 5-AZA schválen v ČR pro léčbu pokročilých stadií MDS bez možnosti ASCT, AML s 20–30% blastů a dysplazií ve více buněčných liniích a konečně pro chronickou myelomonocytární leukemii (CMML) s 10–29% blastů v kostní dřeni bez myeloproliferativního onemocnění. Nemocní s pokročilými formami MDS, u kterých není indikována transplantace krvetvorných buněk, měli v minulosti velmi špatnou prognózu s výrazným zkrácením celkového přežití (OS). Podání 5-AZA umožnilo u části pacientů dosažení kompletní (CR) či partiální remise (PR), ztrátu transfuzní závislosti a oddálilo přechod do AML. 5-AZA se podává formou subkutánní injekce do horní části paže, stehna nebo břicha v počáteční dávce 75mg/m² nejčastěji po dobu 7 dnů, po kterých následuje období 21 dnů bez podávání. Doporučuje se, aby pacienti byli léčeni minimálně 6 cykly. Léčba by měla trvat tak dlouho, dokud je přínosem pro pacienta, nebo do progresu onemocnění. Mezi nejčastější nežádoucí účinky patří trombocytopenie a neutropenie (obvykle 3.–4. stupně), které jsou pak důvodem redukce dávkování. K dalším nežádoucím účinkům patří lokální kožní reakce v místě vpichu injekce, nevolnost a zvracení (obvykle stupně 1–2). Randomizovaná studie AZA-001 srovnávající efekt 5-AZA s konvenční léčbou (zahrnující standardní chemoterapii, chemoterapii nízkými dávkami cytosinarabinosidu či podpůrnou léčbu) prokázala rozdíl v OS u pacientů léčených 5-AZA v porovnání s ostatními léčebnými režimy (25 vs. 15 měsíců) – a to i u pacientů, kteří dosáhli pouze stabilizace nemoci (17). Bylo pozorováno i oddálení přechodu choroby do AML (26 vs. 12 měsíců). 5-AZA signifikantně zlepšuje celkové přežití starších nemocných s pokročilými formami MDS (nad 75 let), tato analýza zahrnuje i nemocné s komorbiditami (18). Jedinou kurativní léčbou MDS je ASCT. 5-AZA získává postavení i při této indikaci jako tzv. přemostující léčba (bridging therapy), jejím cílem je stabilizace nemoci s nižším počtem nežádoucích účinků v porovnání s klasickou chemoterapií a současně bez negativního vlivu na potransplantační výsledek. Určité naděje jsou vkládány i do terapie potransplantačního relapsu (19, 20). Byly publikovány i povzbudivé výsledky studií

Obrázek 3. Možnosti léčby MDS vyššího rizika

s využitím 5-AZA v terapii AML a CMML (21, 22) a probíhají studie s perorální formou léku. DAC sice prokázal obdobný účinek na dosažení CR a PR jako při užití 5-AZA, ale nepodařilo se prokázat signifikantní efekt na OS (10 vs. 6 měsíců) v porovnání s podpůrnou léčbou (23).

Imunomodulační léčba

Jedním z léčebných přístupů používaných u pacientů s MDS nižšího rizika je podání imunomodulačních látek. První z nich testovanou molekulou pro léčbu MDS byl thalidomid. U tohoto léku byly zaznamenány výrazné a dlouhotrvající odpovědi omezené ale pouze na erytrocytární řadu. Thalidomid ale připravil cestu pro užití nového analogu – lenalidomidu, který je mnohonásobně účinnější a nemá typické nežádoucí účinky thalidomidu (6). LEN představuje první cílenou terapii (targeted therapy) u pacientů s MDS nižšího rizika s transfúzní závislostí a intersticiální delecí segmentu dlouhého raménka chromozomu 5 (del (5q)), kterou povolila FDA (Food and Drug Administration) v roce 2005. V Evropě (kromě Švýcarska) není léčba LEN schválena, protože nelze vyloučit spojitost mezi terapií a leukemickou transformací, i když se ukazuje, že toto riziko souvisí pravděpodobně s individuální predispozicí pacienta před zahájením aplikace a LEN per se není leukemogenní (24). Před léčbou je třeba všechny nemocné vyšetřit na možný výskyt mutace genu p53, protože její přítomnost je obecně nepříznivým prognostickým faktorem a při léčbě lenalidomidem je spojena s vysokým rizikem progresu choroby (25). Klíčovým krokem pro schválení lenalidomidu FDA byla multicentrická randomizovaná studie MDS-003, ve které bylo zařazeno 148 pacientů s del (5q), z nichž 67 % pacientů dosáhlo transfúzní nezávislosti a 45 % kompletní cytogenetické remise. Nejčastějším nežádoucím účinkem byla neutropenie a trombocytopenie. Rozvoj léčbou indukované cytopenie v prvních 8 týdnech léčby byl asociován s vysokou četností hematologické a cytogenetické odpovědi. Tato data naznačují, že časné cytopenie mohou být pomocným ukazatelem suprese del (5q) klonu (26). Dalšími nežádoucími účinky LEN jsou raš,

průjem, svalové křeče a svědění kůže. Incidence venózního trombembolizmu (VTE) u MDS pacientů léčených LEN v monoterapii je obecně nízká, VTE byla pozorována u 3 % pacientů u del (5q) pacientů v MDS-003 a u 1 % non-del (5q) pacientů v klinické studii MDS-002.

LEN má pleiotropní účinek: ovlivňuje imuno-kompetentní buňky (T-lymfocyty, NK buňky), produkci cytokinů (IL-2, IFN- γ , TNF- α), blokuje angiogenezi, především je ale jeho působení karyotypově specifické. To se vysvětluje haploinsuficiencí několika genů v oblasti 5q. Současně dochází k aktivaci normální reziduální erytropoézy – ztráta transfúzní závislosti předchází dosažení cytogenetické remise o 1–2 měsíce (27) (obrázek 4). V případě non del (5q) MDS dochází po podání LEN k zvýšené odpovědi erytrocytárních precursorů na ESP (28).

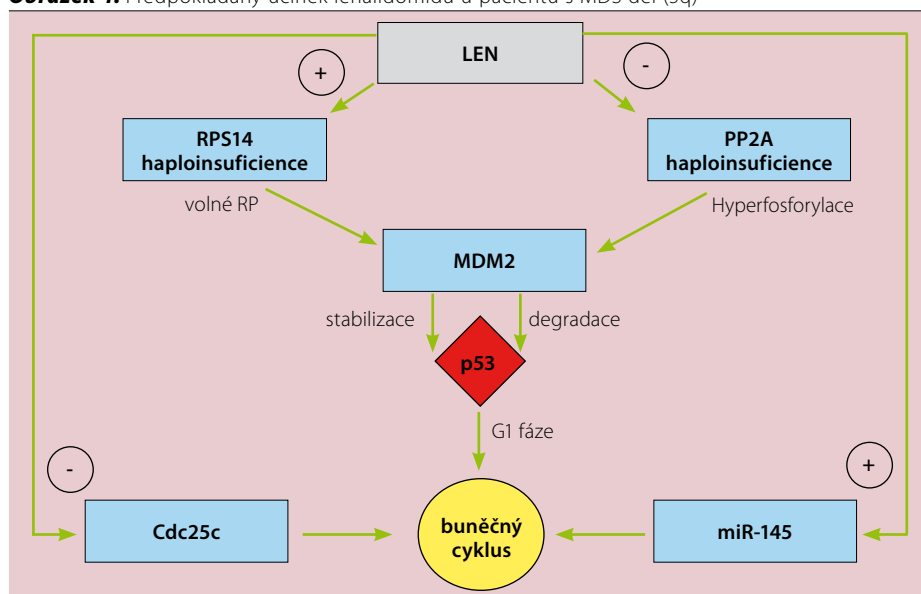
V současnosti je v USA LEN terapií volby pro pacienty s nízkým rizikovým MDS s del (5q), kteří jsou závislí na transfúzích a jsou refrakterní k ESP. U nízkých rizikových non del (5q) transfúzně dependentních MDS pacientů může být léčba zvažována po selhání ESP nebo hypometylační látky. Pacienti by měli mít adekvátní hladinu trombocytů, neutrofilů a klírens kreatininu nad 50 ml/min. Jako startovací je doporučena dávka 10 mg p.o. denně, při čemž musí probíhat týdenní kontrola krevního obrazu v prvních 8 týdnech, při poklesu hladiny trombocytů nebo neutrofilů je nutné snížit dávku nebo přerušit léčbu a případně podávat G-CSF. Není-li zaznamenána

žádná odpověď po 4 měsících, je doporučeno léčbu ukončit (29). Jsou dostupné i výsledky studie, která porovnává účinnost LEN u pacientů s del (5q) a dalšími cytogenetickými aberacemi. V případě, že je identifikována pouze izolovaná delecí 5q, je zaznamenána cytogenetická odpověď u 63 % pacientů, při jedné přidatné změně u 9 % a v případě identifikace komplexního karyotypu není cytogenetická odpověď dosažena (30). Nyní probíhá studie MDS-005, jež zařazuje vhodné transfúzně dependentní pacienty s nízkým rizikovým MDS non del (5q), kteří dostávají LEN nebo placebo. Součástí této studie je také sledování profilu markerů erytrocytární diferenciace, což by mohlo pomoci selektovat pravděpodobné respondenty (31).

V léčbě pokročilých forem MDS je zřejmá snaha využít kombinace 5-AZA a LEN. Jejich racionální podklad vychází z biologického potenciálu obou molekul (32). LEN inhibuje aktivitu fosfatáz, stabilizuje MDM2 a způsobuje degradaci p53 prostřednictvím zvýšené aktivity miRNA 145 (microRNA – posttranskripční modulator genové exprese) (33). Jde o nepřímý cytotoxický vliv a zásah do dřeňového mikroprostředí. 5-AZA inhibuje DNMTs a působí přímo cytotoxicky.

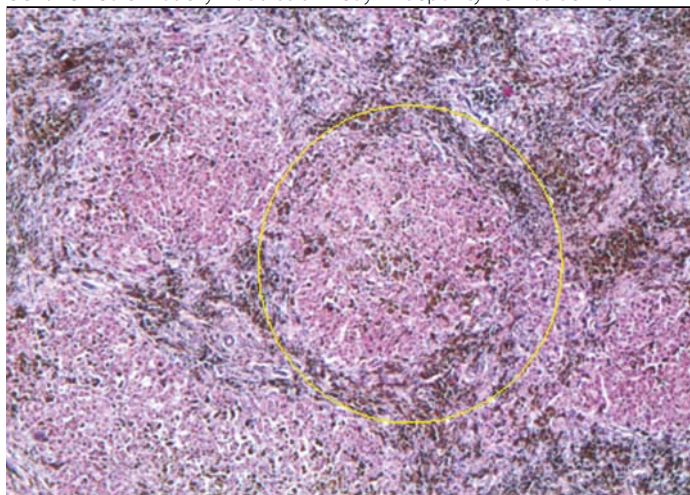
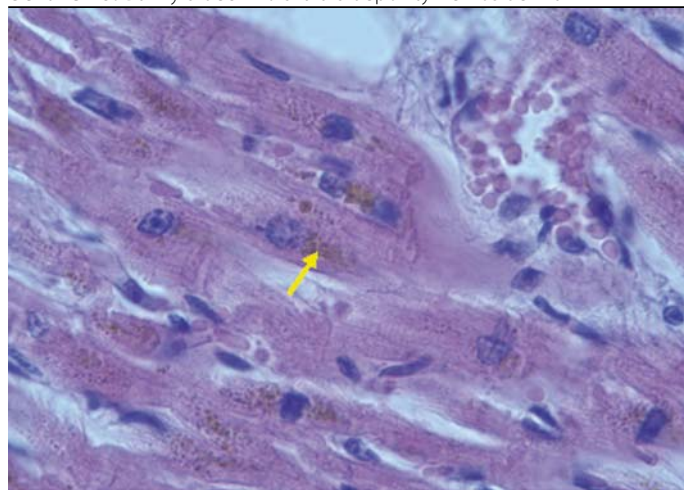
Přetížení železem a chelatační terapie

Železo (Fe) je nejen základní složkou hemoglobinu, myoglobinu, ale je také kofakto-

Obrázek 4. Předpokládaný účinek lenalidomidu u pacientů s MDS del (5q)

LEN způsobuje uvolnění ribosomálních proteinů (RP) z jádra buňky v důsledku jejich poškozené biogeneze. Dochází tak k degradaci proteinu MDM2 a porušení interakce MDM2-p53. To způsobí stabilizaci p53 a dochází ke zpuštění apoptosy del(5q) klonu. LEN inhibuje haploinsuficientní fosfatázu PPA2, je zvýšená fosforylace MDM2 (stabilizace) a postupně je iniciována degradace p53. Souhrnně lze konstatovat, že LEN inhibuje aktivitu fosfatáz (PPA2, Cdc25c), stabilizuje MDM2 a způsobuje degradaci p53.

upraveno podle: Komrokji RS, List A. Lenalidomide for treatment of myelodysplastic syndromes. Curr Pharm Des 2012. 18:3198-3203

Obrázek 5. Cirhotický nodulus s hnědými depozity hemosiderinu**Obrázek 6.** Buňky srdečního svalu s depozity hemosiderinu

rem důležitých enzymů, které se účastní mitochondriální respirace, syntézy nukleových kyselin a proteinů. Tento biogenní prvek hraje roli v buněčné proliferaci, diferenciaci a apoptóze, plní úlohu v procesech stárnutí tkání, neurodegenerace, maligního bujení, aterosklerózy a má vliv na funkci imunitního systému. Klíčovým proteinem ovlivňujícím metabolismus Fe je **hepcidin**. Expres této bílkoviny se zvyšuje při dostatku Fe v organismu a v rámci reakce akutní fáze. Hecpudin se pak váže na ferroporin v oblasti bazolaterální membrány enterocyty a cytoplazmatické membrány monocytů/makrofágů a snižuje tak transport Fe z enterocyty do krve a zadržuje železo v monocyto/makrofágovém systému. Expres hepcidinu je kontrolována několika dalšími proteiny (34). Deficit hepcidinu vede na jedné straně k nekontrolovanému uvolnění Fe do cirkulace a k jeho zvýšenému odsunu do jater a monocyto/makrofágového systému, na druhé straně se projeví v enterocytech, což vede k sekundární stimulaci resorpce Fe z trávicího traktu (34, 35). Protože je volné Fe pro organismus vysoce toxické, váže se hned po vstupu do krevního oběhu na transferin. Avšak po překročení vazebné kapacity transferinu stoupá v plazmě hladina **netransferinového železa** (NTBI – non-transferin bound iron). Nejtoxičtější frakcí NTBI je **labilní Fe** (LIP – labile iron pool), které působí přímo v buňkách. Zde toto volné Fe katalyzuje vznik kyslíkových radikálů (ROS-reactive oxygen species). Nejnebezpečnější frakcí ROS jsou hydroxylové radikály, které vedou k oxidaativnímu stresu buňky a narušení makromolekul proteinů, DNA a peroxidaci lipidů (Fentonova a Haber-Weissova reakce) (36). Následuje poškození buněčných organel, membrán, zánik buňky a poškození tkání a orgánů. Současně dochází ke zvýšené syntéze kolagenu v dů-

sledku indukce tvorby transformačního růstového faktoru $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) (35). Akumulace Fe tak představuje pro organismus mnohem závažnější ohrožení než jeho nedostatek, protože v lidském organismu neexistují pasivní ani aktivní mechanismy k jeho vyloučení. K poškození orgánů u chorob provázených přetížením Fe přispívá vedle přímého toxického působení na buňky i ukládání nadměrného množství nerozpustných komplexů Fe v tkáních a orgánech (36) (obrázek 5 a 6). Cílovými orgány při poškození jsou játra, ve kterých dochází ke vzniku hemosiderózy, fibrózy a cirhózy; srdce, s rozvíjející se kardiomyopatií; endokrinní orgány s možnou tvorbou bronzového diabetu; pohlavní orgány a klouby (35, 36).

Pro stanovení množství Fe v organismu jsou k dispozici přímé a nepřímé metody. Nejjednodušší, nejdostupnější a nejméně nákladné je měření hladiny sérového feritinu. Avšak jeho hladina jen volně koreluje se stupněm přetížení Fe (iron overload), protože je ovlivňována dalšími faktory jako jsou zánět, poškození jater, neoplazie. **Jaterní biopsie** je sice invazivní výkon spojený s rizikem závažných komplikací, ale umožňuje přesně a spolehlivě kvantifikovat stupeň přetížení železem (LIC – liver iron concentration) a určit typ postižení jaterního parenchymu, případně i doprovodnou fibrózu nebo cirhózu. Nejpresnější nepřímou metodou kvantifikace přetížení železem je **SQUID** (superconducting quantum interference device), která je založena na měření magnetické vnímavosti jaterní tkáně v konstantním magnetickém poli. Přístroj susceptometr vlastní jen několik málo pracovišť v Evropě a nedá se jím měřit obsah Fe v myokardu. Méně přesná, ale dostupnější je magnetická rezonance jater nebo myokardu metodou MRI T2* R2*, která dovoluje semikvantitativní určení obsahu Fe v myokardu, ale také stanoví funkci srdečních komor (36, 37).

Navzdory pokrokům ve farmakoterapii MDS, jakými jsou použití LEN nebo hypometylačních látek, zůstává základním pilířem léčby stále podpůrná terapie, včetně podávání transfuzních přípravků (38, 39). Opakované transfúze erytrocytů však s sebou přináší problém přetížení železem. Situaci pacientů s MDS ještě dále zhoršuje zvýšené uvolňování železa z buněk při inefektivní erytropoéze a zvýšená resorpce Fe z GIT, která je způsobena sníženou hladinou hepcidinu, jehož exprese je blokována dřeňovým faktorem GDF 15, uvolňujícím se ve zvýšeném množství v kostní dřeni při inefektivní erytropoéze (6, 35, 40). Akumulace nadbytečného železa vede pravděpodobně k dalšímu prohloubení inefektivní erytropoézy. Recentní japonská studie prokázala v *in vitro*, že nadbytečné Fe vede jak k blokádě tvorby a další diferenciaci erytroidních kolonií, tak také akcentuje apoptózu za účasti ROS. Přitom blokáda i apoptóza byly zrušeny po přidání chelátoru (41).

Korelace mezi hodnotami feritinu před transplantací a samotným výsledkem transplantace krvetvorných buněk byla dokladována v několika velkých studiích (42, 43). Na základě těchto a dalších studií se chelatační terapie Fe stala součástí všech doporučení léčby pacientů s MDS.

Chelatační léčba by měla být zahájena u MDS nemocných s hladinou feritinu v séru více než 1000 $\mu\text{g/l}$ (přibližně po podání 20–25 T.U. erytrocytárních transfuzních přípravků), u nichž je předpokládána déletrvající závislost na podávání transfuzí a kteří mají stabilní chorobu bez komorbidit limitujících přežití (44). V současnosti jsou pro klinickou praxi dostupné 3 chelatační látky. **Deferoxamin** (Desferal®, Novartis) je aplikován v kontinuální nebo alespoň 10–12 hodinové iv. nebo sc. infuzi v dávce 25 mg/kg/den v jedné denní dávce, dle efektu je možné dávku zvyšovat až na 60 mg/kg/den. **Deferasirox** (Exjade®,

Tabulka 1. Charakteristiky chelátorů užívaných v současnosti

Lék	deferioxamin	deferipron	deferasirox
Indikace	chronické přetížení Fe jakékoliv	thalassemie major od věku nad 10 let	thalassemie major, chronické
Poločas	20–30 minut	3–4 hodiny	12–16 hodin
Lipofilie	nízká	vysoká	vysoká
Vylučování	tolici i moči	moči	stolicí
Výhody	dlouhodobá zkušenost 20–30 let	ověřený účinek na odstranění Fe z myokardu	p.o. aplikace v jedné denní dávce
Nežádoucí účinky	lokální reakce v místě vpichu, poruchy zraku, sluchu, růstu	GIT příznaky, agranulocytóza, artralgie, otoky, elevace transamináz, deplece Zn	lehká porucha renálních fcí, vzácně elevace transamináz, GIT příznaky, vyrážky, poruchy sluchu, vzácně katarakta
Poznámka k aplikaci	v 8–12 hodinové sc. infuzi po 5–7 dní v týdnu, při těžkém přetížení kontinuálně i. v. po několik týdnů		podávat rozpuštěné ve 100–200 ml vody nebo džusu, nejlépe 30 minut před snídaní se zvýšeným obsahem tuku

Novartis) je indikován tam, kde je léčba deferioxaminem kontraindikována nebo není dostatečně účinná, dávka činí 20–30 mg/kg/den p.o. a může být upravena dle účinku a snášenlivosti pacienta. **Deferipron** (Ferriprox®, Apotex) není pro užití u nemocných s MDS registrován, je ho možné použít (za pravidelné kontroly krevního obrazu) individuálně v případě kontraindikace nebo nesnášenlivosti deferasiroxi v dávce 75–100 mg/kg/den rozdělené do 3 denních p.o. dávek po 8 hodinách v monoterapii nebo v kombinaci s deferioxaminem při přetížení železem těžkého stupně (44). Největší nevýhodou deferioxaminu je způsob aplikace, který zřejmě podstatně ovlivňuje compliance a adherence pacienta k léku, jak dokládá například observační multicentrická studie, která byla vedena v 81 španělských nemocnicích v roce 2007 ještě před udělením licence pro deferasirox. Tato studie zahrnuje 549 pacientů s MDS nízkého rizika, z nichž se u 86 % prokazatelně rozvinulo přetížení železem, ale jen 38 % dostávalo chelatační terapii, avšak pouhých 21 pacientů dostávalo skutečně účinné dávky chelátoru (45). V italské studii byl deferasirox popsán jako silný NF-κ B inhibitor *in vitro* a je tedy možné, že tento perorální chelátor působí také přímo na potlačení maligního klonu, který vykazuje vysokou bazální aktivitu tohoto transkripčního faktoru (46). Další charakteristiky všech tří chelátorů jsou k dispozici v tabulce 1.

Budoucnost léčby přetížení železem spočívá ve vývoji nových chelátorů Fe. Nadějným perorálním lékem se zdál být **deferitin**, ale jeho klinický vývoj byl zastaven pro nefrotoxicitu. U derivátů této látky se ale podařilo nefrotoxicitu odstranit, nyní probíhají klinické studie na zvířatech (47).

Jednou z potenciálních léčebných strategií by se mohlo stát ovlivnění exprese hepcidinu prostřednictvím jeho pozitivních a negativních regulátorů, kterými jsou BMP6 a matriptáza 2. Protein BMP6 a membránová serinová proteáza matriptáza 2 jsou součástí signální dráhy pro genovou expresi hepcidinu. Agonisté hep-

cidinu a BMP 6 nebo inhibitory matriptázy 2 mohou tak blokovat nadměrné uvolnění železa z GIT a makrofágů do oběhu a jeho následné ukládání do kritických orgánů zejména u MDS-RARS nebo 5q-syndromu, u nichž byly zjištěny nejvyšší hladiny hepcidinu (34, 40).

Dalším možným terapeutickým cílem v léčbě přetížení železem by se mohly stát intracelulární volné kyslíkové radikály (ROS) a ovlivnění exprese proteinu bcl 2. Bylo prokázáno, že přetížení železem zvyšovalo hladinu ROS a suprimovalo expresi bcl 2 v nezralých erytroblastech. Následné uvolnění mitochondriálního cytochromu c vedlo k aktivaci kaspasy 9 a vystupňované apoptóze a výslednému bloku diferenciace. Deferioxamin v této *in vitro* studii redukoval ROS a obnovil BCL 2 expresi a tím pravděpodobně inhiboval apoptózu (41).

Nové směry v léčbě MDS

Ve světě probíhá aktuálně kolem 300 klinických studií s více než 50 experimentálními sloučeninami ve snaze zlepšit kvalitu života pacientů s MDS a zvrátit přirozený průběh choroby.

K nejvýznamnějším z těchto látek patří **inhibitory histon deacetyláz** (HDACs inhibitory-entinstat, belinostat, romidepsin, panobinostat, kyselina valproová, fenylbutyrát sodný, MGCD0103, vorinostat a další), jež se řadí k látkám s epigenetickým účinkem. Acetylce histonů je kontrolována histon-acetylázou a histon-deacetylázou. Zatímco acetylce histonů udržuje chromatin v otevřeném, transkripčně aktivním stavu, který umožňuje vazbu transkripčních faktorů a expresi genu, naopak deacetylované histony se pevně váží k DNA a zabraňují přístupu transkripčních faktorů k určitým genům. Zdá se, že HDACs inhibitory mají omezenou účinnost v monoterapii u MDS. Kombinované režimy jsou v současnosti považovány za mnohem slibnější. Avšak některé HDACs inhibitory mohou způsobovat trombocytopenii, a proto je třeba přistupovat k jejich užití v kombinacích s jinými (cytopenii indukujícími)

látkami opatrně. Tato skutečnost může v konečném důsledku limitovat jejich využití (48, 49, 50).

Z dalších nových látek pro léčbu MDS stojí za zmínku ezatiostat, který zvyšuje apoptózu v leukemických buňkách a indukuje senzitivitu transformovaných buněk k diferenciačním látkám. Jeho potenciál je v chronické terapii MDS nízkého rizika.

Další zajímavou látkou je **laromustin**, alkylační cytostatikum, které je jedinečné v tom, že nejen alkyluje DNA guaninové báze, ale zároveň zabraňuje opravám této alkylované DNA v nádorových buňkách. I přes obavu z busulfan like plicní toxicity by mohl hodit pro pacienty s vysoce rizikovým MDS, kteří nejsou schopni podstoupit klasický indukční režim 7 + 3.

Tipifarnib je inhibitor farnesyltransferázy. Farnesyltransferáza je enzym, který je důležitý pro upevnění Ras onkogenu v membráně; konstitutivní Ras aktivace a zvýšená exprese Ras přispívá k buněčné proliferaci a přežívání u široké škály neoplázií, včetně některých pacientů s AML nebo MDS. Tipifarnib zřejmě inhibuje P-glykoproteinový genový produkt multirezistence na léky. Počítá se, že by mohl být vhodný pro refrakterní, vysoce rizikový MDS (50).

Závěr

Alogenní transplantace krvetvorných buněk stále zůstává jedinou známou kurativní metodou pro léčbu MDS pacientů. MDS je však typickým onemocněním staršího věku a ASCT nelze provádět rutinně (51). Proto moderní léky (např. hypometylační látky) představují novou naději pro léčbu těchto pacientů. Populace ve vyspělých zemích stárne; očekává se, že v příštích 40 letech se například v USA počet lidí starších 65 let zdvojnásobí, a tudíž se i počet nově diagnostikovaných MDS bude pravděpodobně zvyšovat (52). Proto je kladen důraz na vývoj a výzkum dalších nových látek, které by mohly dále pomoci zvrátit přirozený vývoj této choroby.

Práce byla podpořena grantem LF-2013–004

Literatura

1. List AF, Vardiman J, Issa JP, et al. Myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004; 297–317.
2. Rollinson DE, Howlader N, Smith MT, et al. Epidemiology of myelodysplastic syndromes and chronic myeloproliferative disorders in the United States, 2001–2004, using data from NAACCR and SEER programs. *Blood* 2008; 112: 45–52.
3. Greenberg PL, Cox C, Le Beau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89: 2079–2088.
4. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120: 2454–2465.
5. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3503–3510.
6. Neuwirtová R, Jonášová A, Voglová J, a kol. Myelodysplastický syndrom a jeho léčba. *Farmakoterapie*. 2010, roč. 6, speciální příloha – červen 2010: 16–22. ISSN 1801–1209.
7. Stone RM. How I treat patient with myelodysplastic syndromes. *Blood* 2009; 113: 6296–6303.
8. Jiang Y, Dunbar A, Gondek LP, et al. Aberrant DNA methylation is a dominant mechanism in MDS progression to AML. *Blood* 2009; 113: 1315–1325.
9. Weber M, Hellmann I, Stadler MB, et al. Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in the human genome. *Nat Genet* 2007; 39: 457–466.
10. Issa JP. Epigenetic changes in the myelodysplastic syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 317–330.
11. da Rocha ST, Ferguson-Smith AC. Genomic imprinting. *Curr Biol* 2004; 14: 646–649.
12. Esteller M. DNA methylation and cancer therapy: new developments and expectations. *Curr Opin Oncol* 2005; 17: 55–60.
13. Sorm F, Piskala A, Cihak A, et al. 5-Azacitidine, a new, highly effective cancerostatic. *Experientia* 1964; 20: 202–203.
14. Issa JP, Kantarjian HM. Targeting DNA methylation. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3938–3946.
15. Kuykendall JR. 5-azacitidine and decitabine monotherapies of myelodysplastic disorders. *Ann Pharmacother* 2005; 39: 1700–1709.
16. Bontkes HJ, Ruben JM, Alhan C, et al. Azacitidine differentially affects CD4pos T-cell polarization in vitro and in vivo in high risk myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2012; 36: 921–930.
17. Fenaux P, Mufti GJ, Hellström-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomized, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10: 223–232.
18. Seymour JF, Fenaux P, Silverman LR, et al. Effects of azacitidine compared with conventional care regimens in elderly (≥ 75 years) patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010; 76: 218–227.
19. Field T, Perkins J, Huang Y, et al. 5-Azacitidine for myelodysplasia before allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2010; 45: 255–260.
20. Gerds AT, Gooley TA, Estey EH, et al. Pretransplantation therapy with azacitidine vs. induction chemotherapy and posttransplantation outcome in patients with MDS. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18: 1211–1218.
21. Maurillo L, Venditti A, Spagnoli A, et al. Azacitidine for the treatment of patients with acute myeloid leukemia, *Cancer* 2012; 118: 1014–1022.
22. Costa R, Abdulhaq H, Haq B, et al. Activity of azacitidine in chronic myelomonocytic leukemia. *Cancer* 2010; 117: 2690–2696.
23. Kantarjian H, Oki Y, Garcia-Maneiro G, et al. Results of a randomized study of three schedules of low-dose decitabine in higher risk myelodysplastic syndrome and chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 2007; 109: 52–57.
24. Komrokji RS, List A. Lenalidomide for treatment of myelodysplastic syndromes. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 3198–3203.
25. Kuendgen A, Laussek M, List AM, et al. Lenalidomide treatment is not related to AML progression risk but is associated with survival benefit in RBC-dependent transfusion patients with IPSS Low- or Int 1-Risk MDS with del5q. *Blood* 2011; 118. Abstract 119.
26. List A, Dewald G, Bennett J, et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. *N Engl J Med* 2006; 355: 1456–1465.
27. Kotla V, Goel S, Nischal S, et al. Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies. *J Hematol Oncol* 2009; 2: 36–42.
28. Giagounidis AA. Lenalidomide for del (5q) and non-del (5q) myelodysplastic syndromes. *Semin Hematol* 2012; 49: 312–322.
29. Komrokji RS, List AF. Lenalidomide for Treatment of Myelodysplastic Syndromes: Current Status and Future Directions. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010; 24 (2). ISSN 0889–8588.
30. Ades L, Boehres S, Prebet T, et al. Efficacy and safety of lenalidomide in intermediate-2 or high risk myelodysplastic syndrome with 5q del: results of a phase 2 study. *Blood* 2009; 113: 3947–3952.
31. Ebert BL, Galili N, Tamayo P, et al. An erythroid differentiation signature predicts response to lenalidomide in myelodysplastic syndrome. *PLoS Med* 2008; 5 (2): e35.
32. Sekeres MA, List AF, Cuthbertson D, et al. Phase I combination trial of lenalidomide and azacitidine in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2253–2258.
33. Venner CP, Woltosz JW, Nevill TJ, et al. Correlation of clinical response and response duration with miR-145 induction by lenalidomide in CD34+ cells from patients with del (5q) myelodysplastic syndrome. *Haematologica* 2013; 98: 409–413.
34. Horváthová M, Pospíšilová D. Nové poznatky o homeostáze železa a jejich důsledky pro klinickou praxi. *Postgraduální medicína*. 2010; 12 (6): 676–681. ISSN 1212–4184.
35. Čermák J. Přetížení železem-novinky v patogenezi a léčbě. *Vnitřní lékařství: 90 let doc. MUDr. Dušana Mrkose, CSc., XXVIII. dny mladých internistů – sborník abstrakt*. 2009; 55 (1): 59–63. ISSN 0042–773X.
36. Pospíšilová D. Současný přístup k léčbě přetížení železem. *Farmakoterapie*. 2010; 6 (1): 84–90. ISSN 1801–1209.
37. Penka M, Buliková A. *Neonkologická hematologie: 2. doplněné a zcela přepracované vydání*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009: 25–38. ISBN 978–80–247–2299–3.
38. Kyselá J, Jonášová A. Chelatační léčba deferasiroxem u pacientů s myelodysplastickým syndromem s přetížením železem-výsledky observačních studií eXtend a eXjange: komentář ke studií. *Farmakoterapie*. 2012; 8 (3): 349–352. ISSN 1801–1209.
39. Rose C, Brechignac S, Vassilief D, et al. Does iron chelation therapy improve survival in regularly transfused lower risk MDS patients? A multicenter study by the GFM (Groupe Francophone des Myelodysplasies). *Leukemia Research*, Jul 2010; 34 (7): 864–70 www.elsevier.com/locate/leukres.
40. Jessica Langholtz: Hepcidin Levels Differ Markedly Among MDS Subtypes, *The MDS Beacon*.
41. Kazuki T, Keiki K, Fumihiko N, et al. The effect of iron overload and chelation on erythroid differentiation. *International Journal of Hematology*. 2012, roč. 95, č. 2, s. 149–159. ISSN 0925–5710. DOI: 10.1007/s12185–011–0988–3. Copyright: The Japanese Society of Hematology 2012.
42. Armand P, Kim HT, Cutler CS, et al. Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation. *Blood* 2007; 109: 4586–4588.
43. Pullarkat V, Blanchard S, Tegtmeier B, et al. Iron overload adversely affects outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42: 799–805.
44. Čermák J. Myelodysplastický syndrom: Chelatační terapie. *Transfúze a hematologie dnes: Doporučené postupy v hematologii supplementum* -2010; 16 (3): 40. ISSN 1213–5763.
45. Remacha AF, Arrizabalaga B, Del Canizo C, et al. Iron overload and chelation therapy in patients with low-risk myelodysplastic syndromes with transfusion requirements. *Annals of Hematology*, Feb 2010; 89 (2): 147–154.
46. Messa E, Carturan S, Maffei C, Pautasso Marisa, et al. Deferasirox is a powerful NF-κB inhibitor in myelodysplastic cells and in leukemia cell lines acting independently from cell iron deprivation by chelation and reactive oxygen species scavenging. *Hematologica*. 2010; 95 (8): 1308–1316. ISSN 0390–6078. DOI: 10.3324/haematol.2009.016824.
47. Bergeron RJ, Wiegand J, Bharti N, et al. Desferrioxamine analogue iron chelators: iron clearing, efficiency, tissue distribution, and renal toxicity. *Biomaterials*. 2011; 24 (2): 239–258. ISSN 0966–0844. DOI: 10.1007/s10534–010–9389-y.
48. Cang S, Ma Y, Liu D. New clinical developments in histone deacetylase inhibitors for epigenetic therapy of cancer. *J Hematol Oncol* 2009; 2: 22.
49. Stimson L, Wood V, Khan O, et al. HDAC inhibitor-based therapies and hematological malignancy. *Ann Oncol* 2009; 20: 1293.
50. Steensma DP. Novel Therapies for Myelodysplastic Syndromes. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010; 24 (2). ISSN 0889–8588.
51. Cutler C. Patient Selection for Transplantation in the Myelodysplastic Syndromes. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010; 24 (2). ISSN 0889–8588.
52. Cazzola M, Malcovati L. Prognostic Classification and Risk Assessment in myelodysplastic Syndromes. *Hematology/Oncology Clinics of North America: Myelodysplastic Syndromes*. Philadelphia: Saunders an imprint of Elsevier, Inc., 2010, roč. 24, č. 2. s. 464. ISSN 0889–8588.

Článek přijat redakcí: 23. 5. 2013

Článek přijat k publikaci: 17. 10. 2013

MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.

Hematoonkologická klinika FN a LF UP Olomouc
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
peter.rohon@centrum.cz