

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

DISERTAČNÍ PRÁCE

Magdalena Halámka

2012

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Doktorský studijní program
Klinická onkologie a radioterapie

Kombinace radioterapie a inhibitorů cyklooxygenázy-2 v léčbě pokročilých nádorů hlavy a krku.
(studie fáze I)

Combined treatment of advanced head and neck cancer with radiotherapy and cyclooxygenase-2
inhibitors.

(phase I study)

MUDr. Magdalena Halámka

Školitel: prof. MUDr. Jiří Petera, Ph.D.

Hradec Králové, 2012

Obhajoba dne:

Prohlášení autora

Prohlašuji tímto, že jsem doktorskou disertační práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje. Zároveň dávám souhlas k tomu, aby tato práce byla uložena v Lékařské knihovně Lékařské fakulty UK v Hradci Králové a zde užívána ke studijním účelům za předpokladu, že každý, kdo tuto práci použije pro svou publikační nebo přednáškovou činnost, se zavazuje, že bude tento zdroj informací řádně citovat.

Souhlasím se zpřístupněním elektronické verze mé práce v informačním systému Univerzity Karlovy v Praze.

Hradec Králové, 6.8.2012

Dovoluji si touto cestou poděkovat všem spolupracovníkům na Klinice onkologické Fakultní nemocnice Ostrava za vydatnou pomoc při klinické práci na tomto zadání. Především děkuji přednostovi kliniky MUDr. Davidu Feltlovi, Ph.D., MBA za původní myšlenku pro vznik této práce a časté a trpělivé konzultace.

Dále děkuji všem dalším odborným spolupracovníkům za provedení paraklinických vyšetření a pomoc při statistickém zpracování dat.

V neposlední řadě díky patří Nadaci proti rakovině za finanční podporu tohoto projektu.

Magdalena Halámka

**Kombinace radioterapie a inhibitorů COX-2 v léčbě
pokročilých nádorů hlavy a krku.**

Obsah

Cíle práce	12
1 Teoretický úvod do problematiky	13
1.1 Nádory hlavy a krku	13
1.1.1 Patogeneza, etiologie	14
1.1.2 Histologie nádorů HaN	14
1.1.3 Incidence a mortalita nádorů hlavy a krku	16
1.1.4 Struktura pacientů s HaN	21
1.2 Modality léčby nádorů HaN	27
1.2.1 Strategie léčby	27
1.3 Cyklooxygenáza	32
1.3.1 Obecné poznámky	32
1.3.2 Inhibitory cyklooxygenázy-2 v onkologii	33
1.4 Studie fáze I	39
1.4.2 Hodnocení studie fáze I	42
1.4.3 Shrnutí	42
2 Metodika práce	44
2.1 Náběr pacientů, vstupní a vylučovací kritéria	44
2.1.1 Vstupní kritéria pro zařazení do studie:	44
2.1.2 Vylučovací kritéria	45
2.2 Radioterapie	45
2.2.1 Parametry dávek a frakcionace ozařování	45
2.2.2 Definice cílových objemů	45
2.2.3 Technika	46
2.3 Celebrex	47
2.4 Hodnocení toxicity, hodnocení léčebné odpovědi	47
2.4.1 Metodika hodnocení časně a pozdní toxicity	47
2.4.2 Definice DLT (toxicita limitující dávku)	48
2.4.3 Definice cílové dávky (phase II recommended dose)	48
2.4.4 Metodika hodnocení léčebné odpovědi	48
2.5 Histochemické zpracování vzorků tkání	49
2.6 Zpracování sérových vzorků k detekci VEGF	49
2.7 Statistické zpracování	50

3	Praktická část	51
3.1	Pacientský soubor.....	51
3.1.1	Demografie pacientů	51
3.1.2	Charakteristika pacientů	51
3.1.3	Anatomická distribuce nádorů	53
3.1.4	Stádium onemocnění	54
3.1.5	TNM	55
3.1.6	Histologie.....	55
3.2	Radioterapie	56
3.3	Celebrex.....	56
3.4	„Phase II dose“	58
3.5	Celkové zhodnocení toxicity radioterapie	58
3.5.1	Časná toxicita.....	58
3.5.2	Pozdní toxicita.....	60
3.6	Exprese cyklooxygenázy	61
3.7	Sérové hladiny VEGF.....	63
3.8	Korelace mezi COX2 a VEGF.....	65
3.9	Léčebná odpověď, follow-up	66
4	Diskuze	69
5	Závěr.....	72
6	Literatura.....	74
	Příloha č. 1: TNM klasifikace – 6. vydání, r. 2002	85
	Příloha č. 2: WHO / ECOG Performance Status.....	87
	Příloha č. 3: RTOG Acute Radiation Morbidity Scoring Criteria (přehled stupňů akutní toxicity radioterapie)	88
	Příloha č. 4: Informační leták pro pacienta.....	90

Seznam použitých zkratk

3D CRT	Three-dimensional conformal radiation therapy, trojrozměrná konformní radioterapie
Akt (AKT)	Serine/treonin specifická proteinová kináza
ALT	Alanin aminotransferáza
AST	Aspartát aminotransferáza
<i>Bcl-2</i>	Gen B-cell lymphoma – 2, apoptotický regulační protein
CB5w	Concomitant boost radiotherapy in 5 weeks, radioterapie v režimu konkomitantní boost 5- týdenní
CB6w	Concomitant boost radiotherapy in 6 weeks, radioterapie v režimu konkomitantní boost 6- týdenní
COX	Cyclooxygenase, cyklooxygenáza, enzym zodpovědná za tvorbu biologických mediátorů prostanoidů
COX 1	Cyclooxygenase 1, cyklooxygenáza 1, isoenzym COX
COX 2	Cyclooxygenase 2, cyklooxygenáza 2, isoenzym COX
CT	Computed tomography, počítačová tomografie
CTC AE	Common Terminology Criteria for Adverse Events, standardizovaná klasifikace hodnocení nežádoucích účinků při onkologické léčbě
CTV	Clinical target volume, klinický cílový objem
ČR	Česká republika
Dg.	Diagnóza
DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine, Digitální zobrazení a komunikace v medicíně – standardy ke zpracování obrazové dokumentace v medicíně
DLT	Dose limiting toxicity, toxicita limitující dávku léku
DNA	Deoxyribonucleic acid, kyselina deoxyribonukleová
DVH	Dose-volume histogram, dávkově objemový histogram, koncept shrnutí 3D distribuce dávky do 2D formátu
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group, východní kooperativní skupina pro onkologii, kooperativní skupina založena 1955 k provádění multicentrických

studií

EGF	Epidermal Growth Factor, epidermální růstový faktor
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor, receptor pro epidermální růstový faktor
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, imunologická metoda sloužící k detekci protilátek
FGF	Fibroblast growth factor, fibroblastový růstový faktor
FN	Fakultní nemocnice
g	Gram, gram, jednotka hmotnosti metrického systému (1/1000 základní SI jednotky kilogram)
GTV	Gross target volume, objem nádoru (překlad dle Šampa P., Petera J. a kolektiv, reference č. 10)
Gy	Gray, gray, odvozená jednotka absorbované dávky záření v soustavě SI odpovídající absorpci jednoho joule energie ve formě ionizujícího záření na jeden kilogram hmoty
HaN	Head and neck, nádory oblasti hlavy a krku
HARD ROCK	Head and neck cancer: assesment of risk factors, stage, distribution, radiotherapy optimalization, causes of relapse – keypoints, registr pacientů s nádory hlavy a krku ve FN Ostrava založený k hodnocení rizikových faktorů, stádií, optimalizace radioterapie a identifikace příčin relapsu.
HER2	Human epidermal growth factor receptor type 2, receptor pro epidermální růstový faktor ze skupiny EGFR, typ 2
HF	Hyperfractionation, hyperfrakcionace, ozařovací režim
HPV	Human Papiloma Virus, lidský papilomavirus, jeden z více než 100 různých typů papilomaviru, který napadá lidské buňky
ICRU	International Commission on Radiation Units, organizace založena r. 1925 vytvářející doporučení ohledně dávek, jednotek radiace a radioaktivity a použití v radioterapii a radiobiologii
IMRT	Intensity modulated radiotherapy, léčba zářením s modulovanou intenzitou
kg	Kilogram, kilogram, základní jednotka hmotnosti soustavy SI
KI	Karnofsky index, škála hodnocení celkového stavu pacienta vytvořená roku 1949 k posuzování kvality života
l (L)	Litr, metrická jednotka objemu odpovídající 0,001 metru krychlového

LOH	Loss of heterozygosity, molekulární mechanismus genetické mutace, kdy dochází ke ztrátě funkce jedné normální alely genu, když ta druhá již dříve byla neaktivní
LQ	Linear quadratic model, lineárně kvadratický model, radiobiologický model buněčného přežití po ozáření
MAD	Maximum administered dose, maximální podaná dávka ve studii fáze I
mg	Miligram, odvozená jednotka hmotnosti soustavy SI
ml	Mililitr, odvozená metrická jednotka objemu
mRNA	Messenger ribonucleic acid, messenger ribonukleová kyselina
MTD	Maximum tolerated dose, maximální tolerovaná dávka ve studii fáze I
µg	Mikrogram, odvozená jednotka hmotnosti soustavy SI
µkat	Mikrokatal, odvozená jednotka soustavy SI vyjadřující aktivitu enzymu
µm	Mikrometr, odvozená jednotka vzdálenosti soustavy SI
µmol	Mikromol, odvozená jednotka soustavy SI pro látkové množství
NCI	National Cancer Institute, Národní onkologický institut, vládní organizace vlády Spojených států amerických zajišťující koordinaci onkologických programů
NF	Normofractionation, normofrakcionace, ozařovací režim
Ng	Nanogram, odvozená jednotka hmotnosti soustavy SI
ORL	Oto-rhino-laryngologie, obor: nosní-krční-ušní
PGH2	Prostaglandin H2, hormonům podobná látka odvozená z kyseliny arachidonové
PS	Performance Status, škála vytvořená ECOG užívána lékaři a vědci k hodnocení progresu onemocnění pacienta a stupně ovlivnění denních aktivit pacienta nemocí
PTV	Planned target volume, plánovací cílový objem
RECIST	Response Evaluation Criteria In Solid Tumors, kritéria pro hodnocení léčebné odpovědi
RT	Radiotherapy, léčba zářením
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group, pracovní kooperativní skupina pro léčbu

	zářením založena National Cancer Institute r. 1968
s	Sekunda, jednotka času soustavy SI
SI	Le Système International d'Unités, mezinárodně domluvená soustava jednotek fyzikálních veličin
TNF α	Tumor necrosis factor alpha, faktor nádorové nekrozy alfa
TNM	Tumor, Lymph Node, Metastasis – klasifikace onemocnění dle pokročilosti nádoru, rozsahu postižení lymfatických uzlin a metastatického postižení
VEGF	Vascular endothelial growth factor, vaskulární endoteliální růstový faktor
vs.	Versus, oproti
<i>v-src</i>	Viral sarcoma gene, onkogen
WHO	World Health Organization, Světová zdravotnická organizace, mezinárodní kordinační organizace Organizace spojených národů
Wnt	Nitrobuněčná signalizační dráha

Cíle práce

Zhoubné nádory hlavy a krku (HaN) je termín popisující malignity otorhinolaryngologické a stomatologické oblasti. Onkologická léčba těchto nádorů i přesto, že je multimodální, často selhává, je tedy nutností neustále hledat metody, jak tyto nádory léčit s větší úspěšností. Mnohé metody zahrnují alteraci radioterapeutických režimů, kombinace léčebných modalit či implementaci nových prvků. Kombinace radioterapie s látkami zvyšujícími její účinnost a nezvyšující zátěž nežádoucích účinků na pacienta je jednou z cest jak postupovat ve zkoumání nových postupů v radioterapii nádorů HaN.

U mnohých nádorů byla prokázána vysoká exprese cyklooxygenázy 2, molekuly funkčně zapojené do mnoha nitrobuněčných pochodů. Právě tato molekula díky její mnoholicné funkci a také díky dostupnému inhibitoru funkce, se nabízí jako cíl protinádorové léčby.

Cílem práce prezentované níže je stanovení doporučené dávky pro provedení studie fáze II (phase II recommended dose) u pokročilých inoperabilních nádorů HaN ozařovaných s kurativním záměrem metodou provedení klinického hodnocení fáze I a zhodnocení toxicity této kombinované terapie.

Sekundárním cílem práce je stanovení klinické odpovědi na tuto kombinovanou terapii. Dále tato práce si stanovila za cíl vyšetření plasmatických hladin vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) jakožto možného korelátu vaskulogeneze v tumoru a zhodnocení relace mezi expresí COX2 v nádorové tkáni a vývojem hladin sérové VEGF.

1 Teoretický úvod do problematiky

1.1 Nádory hlavy a krku

Zhoubné nádory otorhinolaryngologické a stomatologické oblasti zahrnují malignity dutiny nosní, nasopharyngu, rtů, dutiny ústní, slinných žláz, nádory hltanu a hrtanu. V radioterapeutické terminologii se označují jako tzv. HaN nádory („nádory hlavy a krku“).

Tato práce řeší problematiku nádorů dutiny ústní, baze ústní, oropharyngu, laryngu. Jedná se o nádory v mezinárodní klasifikaci označené kódy C01, C02, C03, C04, C05, C06, C09, C10, C13, C32 [104].

- C01 zhoubný novotvar kořene jazyka
- C02 zhoubný novotvar jiných a neurčených částí jazyka
- C03 zhoubný novotvar dásně – gingivy
- C04 zhoubný novotvar ústní spodiny
- C05 zhoubný novotvar patra
- C06 zhoubný novotvar jiných a neurčených částí úst
- C09 zhoubný novotvar mandle – tonzily
- C10 zhoubný novotvar ústní části hltanu
- C13 zhoubný novotvar hypofaryngu
- C32 zhoubný novotvar hrtanu

Do této práce nebyly zahrnuty nádory nosu, nosohltanu, paranazálních dutin a nádory slinných žláz, které zde sice patří anatomicky, jedná se však o nádory s jinou histopatologií (viz níže, odstavec 1.1.2) a odlišným klinickým chováním a prognózou. Vzhledem k cílům této studie byla snaha o vytvoření o nejvíce jednotného souborů, především proto, že předpokládaný počet pacientů byl nízký. Vytváření podskupin pacientů s tumory s odlišnou histologií než dlaždicobuněčný karcinom a jejichž incidence je nízká, by sice neovlivnil primární cíl této studie (zjištění maximální tolerovatelné dávky kombinované terapie), ale mohl by značně ovlivnit statistické zpracování sekundárních plánů této studie (exprese COX2, korelace COX2 a VEGF). Tato testování vyžadují co možno nejvíce sjednocený soubor vzorků.

1.1.1 Patogeneza, etiologie

Vznik dlaždicobuněčných nádorů HaN je tzv. multifaktoriální. V Evropě a Severní Americe je často nacházena souvislost s chronickým drážděním sliznic při abúzu alkoholu a kouřením tabákových výrobků. Patogeneticky se jedná o chemickou kancerogenezi a chronické dráždění. [1, 10].

(Nota bene: Asi u 25-50% tumorů HaN (nejčastěji těch, které zahrnují postižení tonzil, oropharyngu a dutiny ústní), se při vyšetření biotických vzorků nachází onkogenní varianty HPV (human papiloma virus), které se integrují do buněčného genetického materiálu a spouští mutace v buněčném genomu. Jedná se o papilomaviry HPV 2, HPV 11, a nejvýznamněji HPV 16 [10, 96, 97]. Výskyt dlaždicobuněčných karcinomů v souvislosti s infekcí HPV je častější u mladších skupin pacientů – v průměru o 3-4 roky oproti pacientům bez positivity HPV, dále u bělošské populace, u této skupiny pacientů jsou pozorovány pokročilejší lokoregionální nálezy [5].)

1.1.2 Histologie nádorů HaN

Léze v dutině ústní ne vždy jsou primárně maligní a invazivní. Část zhoubných nádorů vychází z neinvazivních patologií postupným vývojem [1].

Premaligní léze – potenciálně zhoubné léze, neinvazivní. Vyskytují se kdekoli v dutině ústní, nejčastěji na bukalních sliznicích, spodině ústní, patře a dásních. Tyto nemaligní léze se objevují u dospělých v jakémkoliv věku, nejčastěji však mezi 40-70 rokem života, častěji u mužů než u žen, a to v poměru 2:1 [1].

Patří sem leukoplakie, definovaná WHO (World Health Organization, Světová zdravotnická organizace) jako bílá plaka, která nemůže být setřena a která nemůže být histopatologicky definovaná jako jiné onemocnění [1].

Další prekancerózou je erytropakie, sametově rudá léze, nacházející se často v erozi pod úrovní zdravých sliznic [1].

Existuje i přechodná léze mezi těmito dvěma, výše zmíněnými, tzv. leukoerytropakie [1].

Maligní léze – zhoubné, invazivní patologie. Nejčastěji se jedná o dlaždicobuněčné/spinocelulární karcinomy (95% vyšetřených histologií) vycházející z dlaždicobuněčného epitelu sliznic dutiny ústní a horních dýchacích či polykacích cest. Chování dlaždicobuněčných karcinomů v ORL oblasti (oto-rhino-laryngologické oblasti) je klinicky i prognosticky velmi podobné, proto se k jejich terapii přistupuje jako k homogenní skupině diagnóz [1, 2, 10].

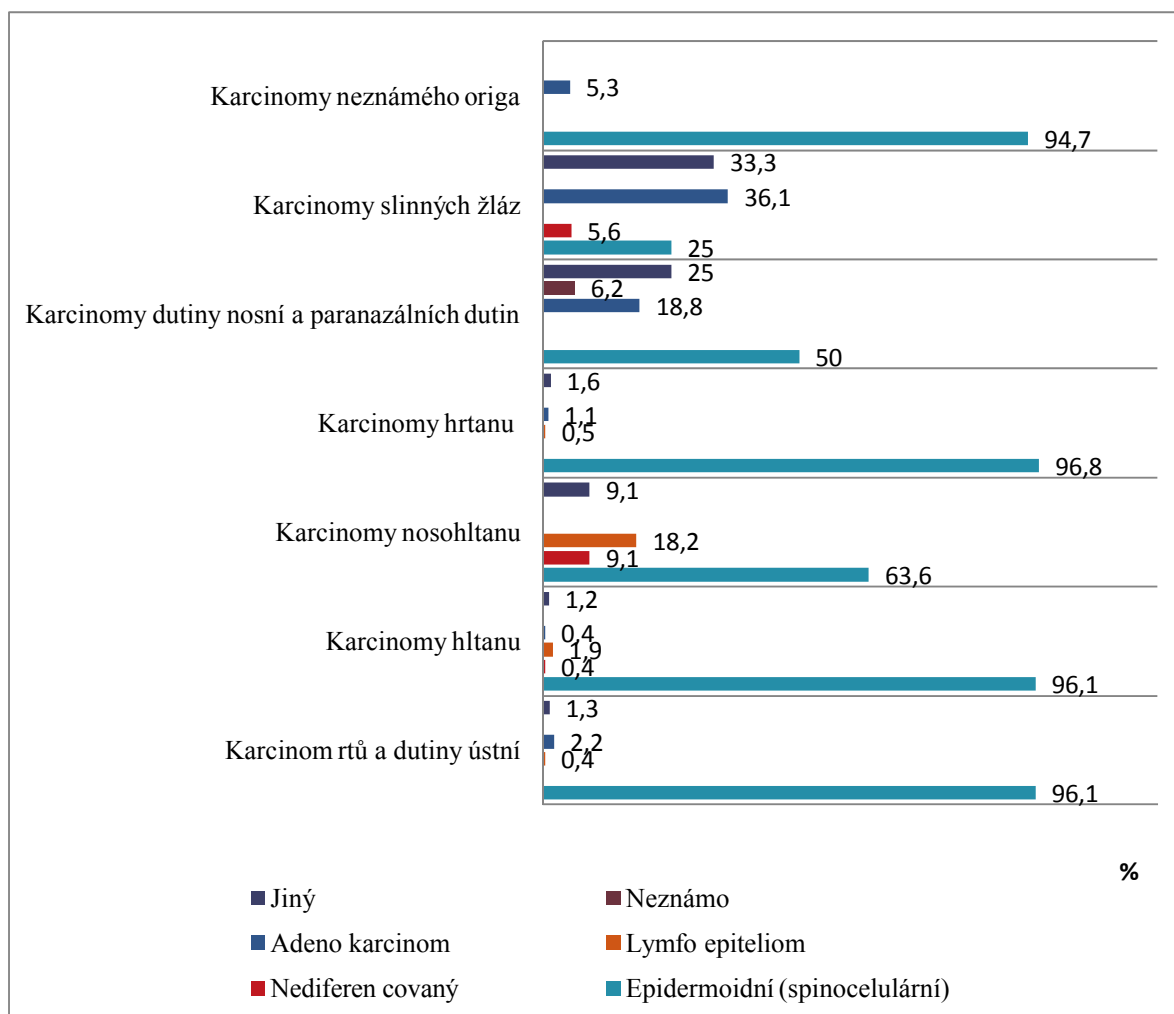
(Nota bene: Sekvence rozvoje malignity makroskopicky od hyperplazie po karcinom je nejlépe klinicky popsána u nádorů laryngu: hyperplazie, atypická hyperplazie, dysplazie, invazivní karcinom. Rozvoj trvá 5-10 let [87].

Častým časným klinickým znakem postižení hlasivek je chrapot. Právě proto u pacientů je onemocnění hlasivek detekováno již na úrovni hyperplazií, pacienti jsou podrobně sledováni (nikoliv nutně léčeni, protože ne všechny prekancerozy dospějí do invazivních forem nádorů) a opakované biopsie dovolují popis stádií rozvoje onemocnění a načasování vhodného terapeutického zásahu.)

Mezi dalších 5% malignit HaN jsou melanomy, adenokarcinomy vycházející ze slinných žláz, lymfoepiteliomy nasopharyngu a další raritní tumory [10].

Většina nádorů hlavy a krku (72%) je histologicky dobře nebo středně diferencovaných (grade 1, grade 2), špatně nebo nediferencované nádory (grade 3, grade 4) tvoří 18% vyšetřených nádorů [8].

Graf č. 1: Procentuální výskyt histologického typu nádorů



1.1.3 Incidence a mortalita nádorů hlavy a krku

Data, popisující výskyt nádorů v České republice, jsou velmi dobře dokumentována díky Národnímu onkologickému registru. Systematický sběr dat dovolu je přehled v incidenci a mortalitě nádorů. Celonárodní data prezentována v přehledech níže byla čerpána z publikací Ústavu zdravotnických informací a statistiky [8].

1.1.3.1 Incidence a mortalita novotvarů (obecně) v České republice

Incidence (výskyt) všech novotvarů v České republice me ziročně mírně stoupá, naopak mortalita (úmrtnost) me ziročně klesá. Výskyt v celkovém počtu všech nádorů (nejen HaN) je více méně vyrovnaný mezi ženami a muži, samozřejmě se u různých pohlaví vyskytují jiné dominantní skupiny nádorů, u žen karcinomy prsů, gynekologické nádory, u mužů karcinomy prostaty či karcinomy plic.

Příčiny stoupající incidence v ČR nejsou zcela objasněny. Jedná se o souhrn různých faktorů. Jednou z příčin je genetická zátěž populace a neoptimální životní styl zahrnující nevhodné dietní, pohybové či jiné návyky, dále profesionální expozice rizikům. Dalším faktorem, který sice nezvyšuje incidenci nádorů *sensu stricto*, nicméně projevuje se takto statisticky, je výrazně zlepšená diagnostika, která detekuje větší množství nádorových onemocnění, která by v minulosti vůbec diagnostikována nebyla.

Klesající mortalita je dána několika faktory. Jedním z hlavních faktorů je časná detekce nepokročilých stádií onemocnění (tzv. časných) především díky screeningovým programům. Právě díky zlepšujícímu se odhalování nádorů je možné nasazení účinné onkologické terapie již při léčbě časných stádií onemocnění. Dalším faktorem příznivě ovlivňujícím mortalitu je výrazně se zlepšující onkologická terapie díky výraznému rozvoji všech modalit onkologické terapie a zlepšující se podpůrné léčbě.

Tabulka č. 1: Celková incidence novotvarů v České republice (ČR)

Incidence novotvarů v ČR (v absolutních číslech)	Celá populace	Muži	Ženy
2005	71 449	36 823	34 626
2006	71 913	36 682	35 231
2007	76 176	38 502	37 674

Tabulka č. 2: Celková mortalita novotvarů v ČR

Mortalita novotvarů v ČR (v absolutních číslech)	Celá populace	Muži	Ženy
2005	28 033	15 567	12 466
2006	27 895	15 354	12 541
2007	27 359	15 179	12 180

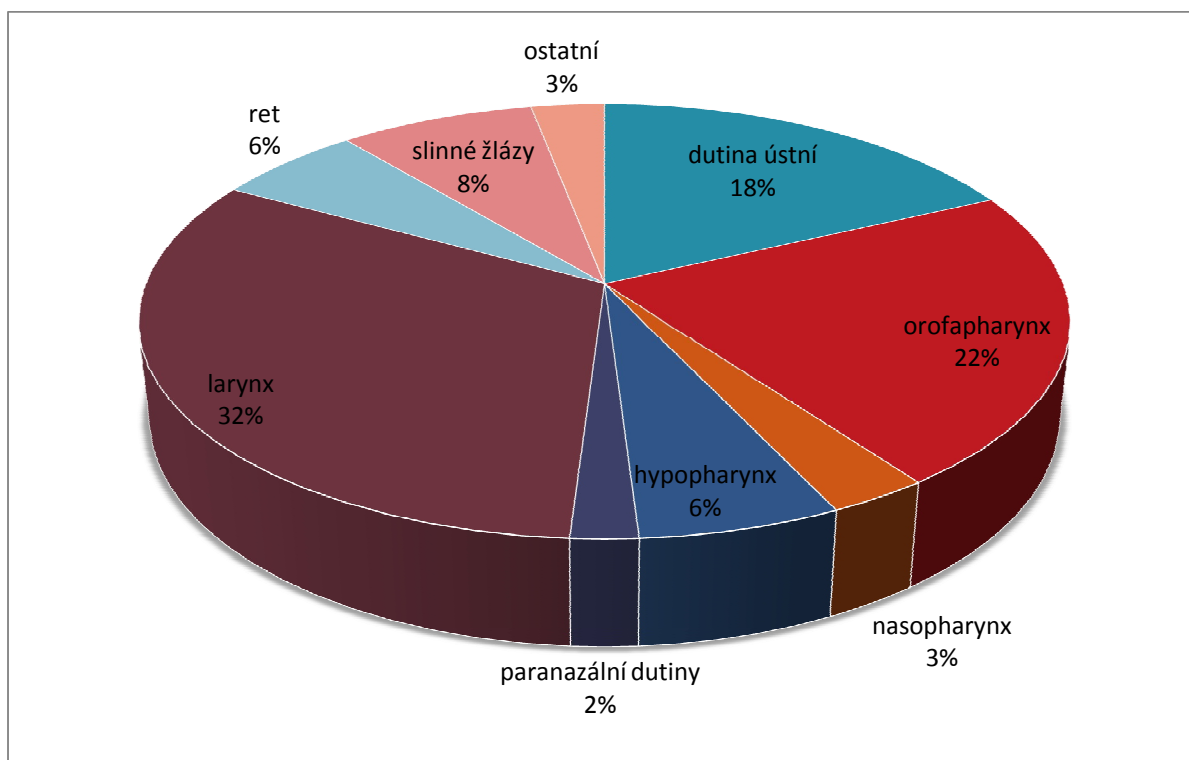
1.1.3.2 Incidence novotvarů jednotlivých oblastí ORL

Spinocelulární (dlaždicobuněčné) karcinomy HaN jsou celosvětově v pořadí incidence 6. nejčastější malignitou. Roční výskyt celosvětově je více než 650 000 diagnostikovaných případů [2, 3].

V České republice nádory HaN představují 2-3% diagnostikovaných zhoubných nádorů [8, 10]. Incidence nádorů HaN v celkovém měřítku všech nádorů není vysoká (je nižší než celosvětová), nicméně jedná se o onemocnění s velmi závažnou prognózou.

Většina nádorů HaN se vyskytuje v oblasti laryngu, orofaryngu a dutiny ústní [10].

Graf č. 2: Distribuce incidence HaN karcinomů dle anatomických oblastí (%)



I přes pokroky v léčbě těchto tumorů se dlouhodobé přežití (5-leté sledování) v posledních 50 letech pohybuje u časných stádií na úrovni 80%, u pozdních stádií 20% [3].

Tyto nádory se vyskytují častěji u mužů, jak naznačují níže uvedené incidenční tabulky. Data jsou převzata z publikovaných dat Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR [8]. V tabulkách incidence jsou počty (absolutní nebo vztažené na 100 000 obyvatel) nově hlášených zhoubných novotvarů v daném roce. Světové statistiky jsou taktéž převzaty z dat Ústavu zdravotnických informací a statistiky a zde prezentovány ke srovnání s daty v ČR.

Tabulka č. 3: Incidence novotvarů HaN v České republice

Incidence novotvarů jazyka v ČR	Muži (absolutní počet)	Muži/100 000 obyvatel	Ženy (absolutní počet)	Ženy/100 000 obyvatel
2005	191	3,8	67	1,3
2006	184	3,7	53	1
2007	207	4,1	70	1,3

Incidence novotvarů dutiny ústní v ČR	Muži (absolutní počet)	Muži/100 000 obyvatel	Ženy (absolutní počet)	Ženy/100 000 obyvatel
2005	199	4	51	0,9
2006	220	4,4	72	1,4
2007	186	3,7	80	1,5

Incidence novotvarů hltanu v ČR	Muži (absolutní počet)	Muži/100 000 obyvatel	Ženy (absolutní počet)	Ženy/100 000 obyvatel
2005	442	8,9	102	2
2006	415	8,3	104	2
2007	459	9,1	110	2,1

Incidence novotvarů hrtanu v ČR	Muži (absolutní počet)	Muži/100 000 obyvatel	Ženy (absolutní počet)	Ženy/100 000 obyvatel
2005	454	9,1	50	1
2006	486	9,7	47	0,9
2007	464	9,2	43	0,8
2007 - Moravskoslezský kraj	64	10,5	3	0,5

Tyto údaje zde prezentuji proto, že přestože v celkovém počtu zhoubných onemocnění v ČR nádory HaN tvoří pouze malé procento, jedná se však o stovky osob ročně. V Moravskoslezském kraji, kde byla studie prováděna, je pak těchto osob relativně nejvíce z ČR.

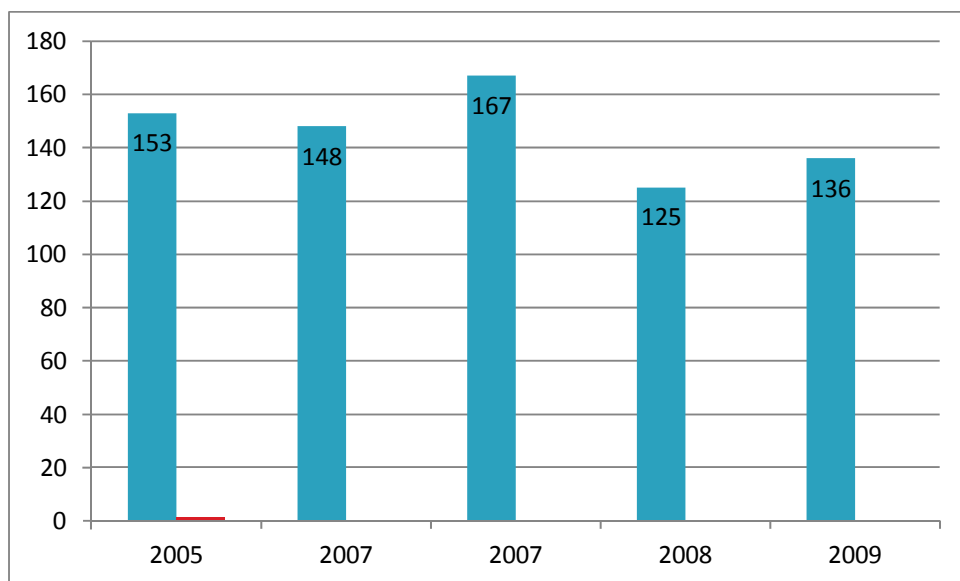
1.1.3.3 Soubor pacientů s nádory HaN na Klinice onkologické Fakultní nemocnice Ostrava (FN Ostrava)

Studie fáze I, která je prezentována níže, byla prováděna na Klinice onkologické FN Ostrava. Ráda bych tedy přiblížila situaci stran demografie pacientů, léčebných postupů, léčebných výsledků a nežádoucích účinků onkologické léčby právě na této klinice.

Na Klinice onkologické FN Ostrava byl pro účely sledování a srovnávání léčebných úspěchů založen registr pacientů s nádory hlavy a krku pod názvem HARDROCK (Head and neck cancer: assesment of risk factors, stage, distribution, radiotherapy optimalization, causes of relapse – keypoints). Projekt byl koncipován jako retrospektivní sběr klinických dat. Cílovými parametry, sledovanými v registru, jsou krátkodobé i dlouhodobé výsledky léčby pacientů s nádory hlavy a krku. Jedná se o pacienty, kteří prošli Klinikou onkologickou buď ambulantně, nebo formou hospitalizace [59].

Ročně je diagnostikováno a vloženo do registru HARDROCK 148 až 167 pacientů, v závislosti na roce. V roce 2006 došlo ke změně organizace pracoviště, změně léčebných postupů a vedení dokumentace pacientů. Hodnocení a statistické zpracování dat je proto provedeno do roku 2006 jako jedna skupina, a následně jako druhá od roku 2007.

Graf č. 3: Počet ošetřených pacientů s nádorem HaN v jednotlivých letech na Klinice onkologické FN Ostrava



Vzhledem k tomu, že celá klinická práce na níže prezentované studii, jež je obsahem této disertační práce, probíhala výlučně na Klinice onkologické FN Ostrava, prezentuji zde (vždy v závěru jednotlivých podkapitol) i specifickou charakteristiku pacientů tohoto pracoviště.

1.1.4 Struktura pacientů s HaN

Obecně je incidence u mužů čtyřikrát vyšší než u žen, u karcinomu laryngu mnohonásobně vyšší. Výjimku u nádorů HaN tvoří nádory slinných žláz, kde je incidence u žen a mužů podobná, naopak lehce vyšší u žen [8, 10].

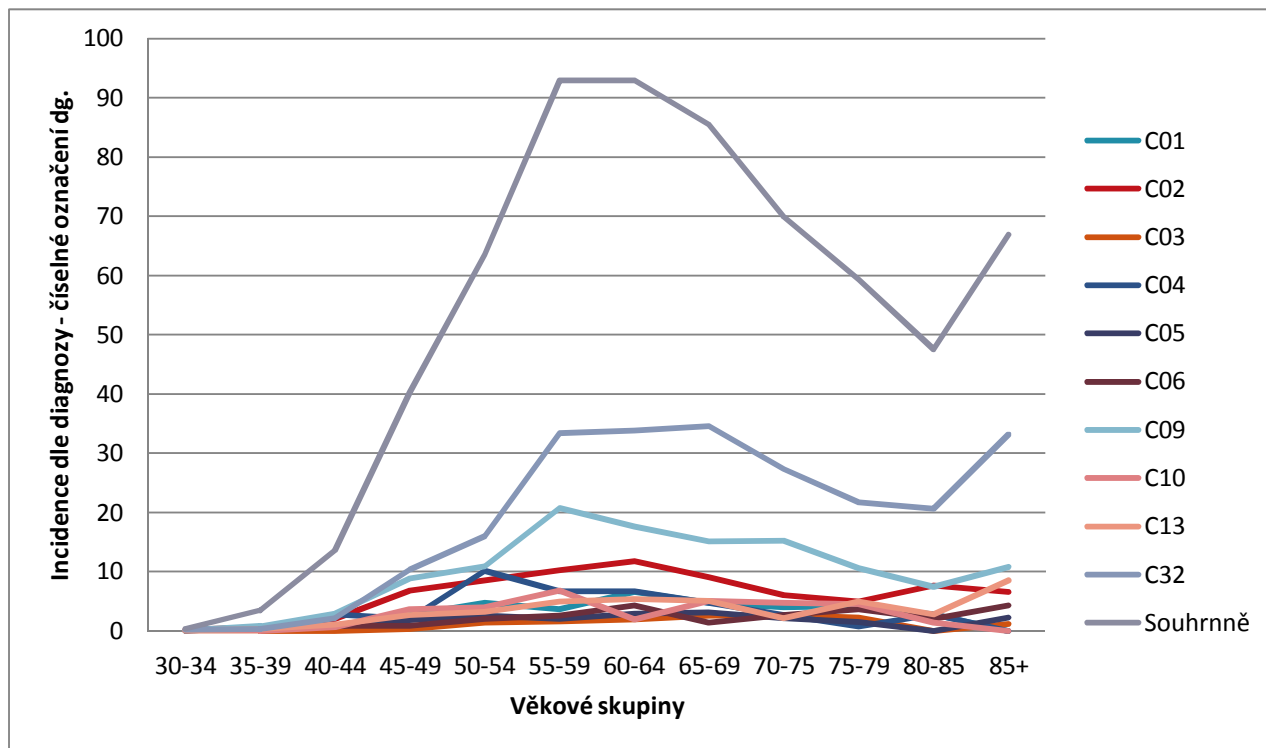
Maximální incidence nádorů HaN, jak znázorňují tabulka a graf níže, je mezi 50 – 75 rokem života. Tato skutečnost potvrzuje domněnku, že se jedná o onemocnění, kde dochází ke kumulaci rizikových faktorů v čase (v průběhu života), zatímco incidence v nižších věkových skupinách, kde by hrála roli genetická predispozice, je velmi nízká.

Tato data jsou získána z publikovaných dat Ústavu zdravotnických informací a statistiky [8].

Tabulka č. 4: Incidence nádorů HaN ve věkových skupinách v ČR v roce 2007

Nádor / Věková skupina	30-34	35-39	40-44	45-49	50-54	55-59	60-64	65-69	70-75	75-79	80-85	85+
C01	0	0,3	0,3	2,7	4,7	3,7	6,6	4,7	4	4,2	2,8	0
C02	0,2	0,6	2	6,8	8,5	10,3	11,8	9,1	6,1	5	7,7	6,6
C03	0	0	0	0,3	1,4	1,6	1,9	2,6	2,7	2,3	0	1,2
C04	0	0,3	2,8	2,1	10,1	6,7	6,7	4,7	2,7	0,8	2,8	0
C05	0	0,6	0,8	1,8	2,6	2,1	2,9	3,1	2,2	1,5	0	2,3
C06	0	0,3	0,9	0,9	2,1	2,6	4,3	1,4	2,7	3,7	2	4,3
C09	0	0,8	2,9	8,9	10,9	20,8	17,6	15,1	15,2	10,6	7,5	10,8
C10	0	0	0,6	3,7	4	6,8	1,9	5,1	4,8	4,5	1,4	0
C13	0	0,3	1,1	2,7	3,2	5	5,4	5,1	2,2	5	2,8	8,5
C32	0,2	0,3	2,2	10,4	16	33,4	33,8	34,6	27,3	21,7	20,6	33,2
Souhrnně	0,4	3,5	13,6	40,3	63,5	93	92,9	85,5	69,9	59,3	47,6	66,9

Graf č. 4: Incidence nádorů HaN ve věkových skupinách v ČR



1.1.4.1 Profil pacientů na Klinice onkologické Fakultní nemocnice Ostrava (2004-2010) - registr HARDROCK [59]

I mezi pacienty ošetřenými ve FN Ostrava je také výrazně vyšší zastoupení mužů (80,6%) než žen (19,4%). Střední věk mužů při diagnóze je 58 let, žen 62 let a tento rozdíl je statisticky významný.

1.1.4.1.1 Celkový tělesný stav pacientů

Vzhledem k tomu, že jedním z kritérií indikace kurativní vs. paliativní terapie je celková tělesná zdatnost pacienta, byl tento parametr zaznamenáván u všech pacientů léčených na Klinice onkologické FN Ostrava. Tento parametr je využíván nejen k volbě léčebných prostředků, ale slouží i jako v jistém smyslu prediktor tolerance léčby [90] (dobrá tělesná kondice dovoluje lepší kompenzaci nežádoucích účinků onkologické léčby).

V klinickém použití v onkologii a radioterapii je zvykem využívat tzv. Karnofsky index, Karnofsky Performance Scale Index (KI). Tato hodnotící škála vznikla již v roce 1949 a je v onkologii používána dodnes, viz tabulka níže, [88]. Pro účely klinického výzkumu a mezinárodní prezentace výsledků bývá tradičně využívána i jiná škála, WHO/ECOG Performance Status (PS), příloha č. 2, [89].

Tabulka č. 5: Karnofsky index

Condition* (tělesný stav pacienta*)	Percentage (%)	Comments (vysvětlující poznámka)
A: Able to carry on normal activity and to work. No special care is needed. (Schopen běžných denních aktivit a práce. Nevyžaduje zvláštní péči.)	100	Normal, no complaints, no evidence of disease. (Normální stav, bez obtíží, bez známek onemocnění.)
	90	Able to carry on normal activity, minor signs or symptoms of disease. (Schopen normální aktivity, mírné známky či symptomy onemocnění.)
	80	Normal activity with effort, some signs or symptoms of disease. (Schopen normální aktivity s mírnou námahou, přítomny některé známky či symptomy onemocnění.)
B: Unable to work. Able to live at home, care for most personal needs. A varying degree of assistance is needed. (Neschopen práce. Schopen pobývat doma a zajistit si sebepéči ohledně většiny svých potřeb. Nutný různý rozsah pomoci.)	70	Care for self. Unable to carry on normal activity or to do active work. (Soběstačný, neschopen normálních aktivit či práce.)
	60	Requires occasional assistance, but is able to care for most of his (one's) needs. (Vyžadující příležitostnou pomoc, ale schopen si zajistit většinu vlastních potřeb.)
	50	Disease may be progressing rapidly. Requires considerable assistance and frequent medical care. (Rychle progredující onemocnění. Potřebuje významnou pomoc s častou lékařskou péčí.)
C: Unable to care for self. Requires equivalent of institutional or hospital care. (Neschopen sebepéče. Vyžaduje vhodnou ústavní péči nebo péči hospicovou.)	40	Disabled, requires special care and assistance. (Invalidita, vyžaduje speciální péči a pomoc.)
	30	Severely disabled, hospitalization is indicated although death not imminent. (Těžká invalidita, indikace k přijetí do nemocnice i přes to, že nehrozí úmrtí.)
	20	Hospitalization necessary, very sick, active supportive treatment necessary. (Nutná hospitalizace, závažný stav, nutný aktivní podpůrný léčebný přístup.)
	10	Moribund, fatal processes progressing rapidly. (Moribundní, rychle progredující fatální onemocnění.)
	0	Dead. (Smrt.)

*Anglický text: původní publikace [88], český překlad: vlastní

Ukazuje se, že 35 % pacientů s nádorem hlavy a krku vložených do registru HARDROCK, mělo před zahájením léčby Karnofsky index 90 a více %, bylo tedy ve velmi dobré fyzické kondici. Ve stavu vyžadujícím cizí pomoc (KI 60 – 50 %) bylo 8 % pacientů. Ostatní pacienti se pohybovali v rozmezí KI 70-80%, byli soběstační, nicméně měli mírné limitující obtíže.

Komorbidita

Nejčastějším dalším onemocněním u pacientů s nádory hlavy a krku v registru HARDROCK [59] byly nemoci oběhové soustavy (záznam u 50% pacientů), dále nemoci dýchací soustavy (16%), nemoci trávicí soustavy (15%) a nemoci endokrinní, výživy či přeměny látek (7%).

1.1.4.1.2 Rizikové faktory

Vzhledem k tomu, že kouření a konzumace alkoholu jsou obecně považovány za hlavní rizikové faktory v průběhu vzniku karcinomu v oblasti HaN (viz. kapitola 1.1.1), byla tato rizika hodnocena i u pacientů na naší klinice [59].

Kouření

Většina pacientů (85%) s nádorem hlavy a krku byla v době zjištění malignity aktivními nebo bývalými kuřáky. Zastoupení aktivních nebo bývalých kuřáků se nelišilo mezi kalendářními obdobími stanovení diagnózy, nicméně podíl aktivních kuřáků v období 2006-2010 byl nižší (64%) oproti předchozím létům – před rokem 2006 (67%). U žen bylo oproti mužům výrazně nižší zastoupení aktivních nebo bývalých kuřáků, 66% vs. 89%.

U hlavních diagnostických skupin nádorů hlavy a krku (nádory hltanu, hrtanu, dutiny ústní) bylo zastoupení aktivních a bývalých kuřáků 85-89%. U méně četných diagnóz (nádory nosohltanu, nosních a paranazálních dutin a slinných žláz) byl podíl kuřáků výrazně nižší, 33-56%.

Konzumace alkoholu

37% pacientů zaznamenaných v registru HARDROCK přiznávalo v době detekce tumoru či nedávné minulosti pravidelnou konzumaci alkoholu. 53% pacientů přiznávalo příležitostnou konzumaci alkoholu. U 6% pacientů tento údaj nebylo možné dohledat. Pouze 4% pacientů popírala jakoukoliv konzumaci alkoholu.

Zastoupení pravidelných nebo závislých konzumentů bylo významně vyšší u pacientů diagnostikovaných v letech 2004-2005 (54%) ve srovnání s pacienty z let 2006-2010 (33%).

U mužů bylo zastoupení pravidelných nebo závislých konzumentů stejně jako v případě kouření významně vyšší než u žen, 42% vs. 15%.

Ostatní rizika

Mezi pacienty s nádorem hlavy a krku byla u 28% z nich zjištěna pozitivní rodinná anamnéza zhoubných nádorů. U žen s nádorem hlavy a krku bylo zastoupení pozitivních rodinných anamnéz významně vyšší než u mužů, 41% vs. 25 %.

Z uvedených dat, získaných z registru HARDROCK, vedeném na Klinice onkologické FN Ostrava [79, 59], je zřejmé, že kouření a konzumace alkoholu je u pacientů se spinocelulárními karcinomy dutiny ústní, hltanu a hrtanu časté. Na základě historických a preklinických zkušeností lze předpokládat, že se na vzniku těchto nádorů významně podílejí. Genetický vliv nelze z těchto dat posoudit, protože podrobná analýza typů nádorů nebyla provedena a obecně genetická zátěž u nádorů HaN je těžce prokazatelná.

1.2 Modality léčby nádorů HaN

Léčba nádorů hlavy a krku se odvíjí od stádia pokročilosti onemocnění v době stanovení diagnózy. Právě stádium onemocnění, resekalita či neresekalita tumoru, uzlinové postižení a celkový stav pacienta předurčují léčebnou strategii.

1.2.1 Strategie léčby

Strategii léčby nelze v jednom či dvou odstavcích shrnout a přístupy k terapii se mění rok od roku a pracoviště od pracoviště. Často se jedná o multimodální terapii, s individuálním načasováním jednotlivých léčebných modalit. Každého pacienta je nutno posuzovat individuálně v rámci mezioborové spolupráce a doporučit individuální postup, který vychází nejen z určení stádia onemocnění dle TNM (Tumour, Node, Metastasis) klasifikace [9], příloha č. 1, z celkového stavu pacienta (KI, WHO PS), z národních či mezinárodních doporučených postupů, ale i v neposlední řadě z preference pacienta.

(Nota bene: v době přípravy a provádění tohoto klinického hodnocení byla platná TNM klasifikace verze 6. V roce 2011, kdy je kompletována tato disertační práce, je již v platnosti novější verze TNM klasifikace. Nicméně vzhledem k tomu, že indikace k léčbě pacientů byly prováděny dle TNM klasifikace verze 6, v této práci uvádím právě tuto verzi TNM.)

Onemocnění ve stádiu I a II jsou lokalizovaná a ohraničená na daný orgán či anatomickou oblast (tzv. časná stádia). Terapií 1. volby v těchto případech bývá léčba chirurgická, která u těchto stádií onemocnění je řešením radikálním. V některých případech operace zajišťující dostatečnou radikalitu může působit zbytečnou mutilaci či ztrátu funkce orgánu/funkční oblasti. Často lze volit i radioterapii jakožto léčbu 1. volby a v těchto stádiích onemocnění mohou obě tyto modality terapie zajistit rovnocenné výsledky léčby [10, 102].

U pokročilých stádií onemocnění, stádia III nebo IV, je situace složitější. Zde chirurgové operatéri (stomatochirurgové a otorhinolaryngologové) musí rozhodnout, zda a za jakých okolností je u daného pacienta možná resekce tumoru, spádových lymfatických uzlin a bezpečnostních lemů okolních tkání. Kritéria resekalability nejsou arbitrárně stanovena a jsou závislá nejen na rozsahu onemocnění u daného pacienta, perioperativních zdravotních rizicích pacienta, ale také na zkušenostech daného centra, schopnostech operatérů a technickém zázemí pracoviště [102]. Koncept z 50. let minulého století, kdy u resekalitních onemocnění byla vždy prováděna chirurgická resekce s následným pooperačním ozářením, je postupně opouštěn. Stále častěji je i u pokročilých stádií onemocnění zařazována předoperační radioterapie či primárně kurativní radioterapie s ponecháním operace jako záchranného

výkonu při selhání léčby (tzv. salvage). V různých anatomických lokalizacích je zkoumán přínos toho či onoho přístupu a jsou identifikovány rizikové a prognostické faktory, které by mohly posloužit jako vodítko při rozhodování o strategii léčby [10].

Tam, kde onemocnění je primárně hodnoceno jako neresekabilní, je základem léčby radioterapie. Ke zlepšení výsledků terapie je při kurativním záměru léčby zařazována potenciační chemoterapie, recentně na základě studia nitrobuněčných drah také tzv. biologická terapie [98, 99] nebo alternativní (optimalizovaná) schémata radioterapie – akcelerace, hyperfrakcionace [83, 84].

1.2.1.1 Radiobiologické předpoklady použití hyperfrakcionační terapie

Vzhledem tomu, že v praktické části této práce bylo využito ozařovací schéma v režimu 6-týdenního konkomitantního boostu, dovoluji si zde tuto otázku více rozvést.

Využití hyperfrakcionované radioterapie při ozařování nádorů HaN je založeno na radiobiologických propočtech dle lineárně kvadratického modelu (LQ). Hyperfrakcionace dovoluje ozáření cílového objemu vysokou dávkou záření bez navýšení pozdní toxicity okolních zdravých tkání.

6 – týdenní režim konkomitantní radioterapie využívá jak faktoru navýšení dávky na den (2 frakce denně 1,8 Gray a 1,5 Gray v posledních 12 ozařovacích dnech) a časového faktoru akcelerace (celková dávka 72 Gray v 6 týdnech).

Parametry výpočtu:

- celková dávka 72 Gray v 6 týdnech,
- jednotlivé frakce 30 x 1,8 Gy a současně 12 x 1,5 Gy v posledních 2,5 týdnech radioterapie, tj. 54 Gy dopolední dávky, 18 Gy odpolední dávky,
- α/β poměr pro nádory hlavy a krku = 10,
- α/β poměr pro pozdní následky na podkoží = 2,
- faktor zkrácení radioterapie o 1 den ozařování = 0,8 Gy.

Po výpočtu dle LQ modelu je oproti normofrakcionaci navýšení dávky na ozařovaný tumor o 4,53 Gy, zatímco co se týče pozdních následků radioterapie na zdravé tkáně, je vypočítán pokles dávky o 2 Gy. Podrobné výpočty i tabulky parametrů k výpočtu jsou prezentovány v příručce radiobiologie [82].

(Nota bene: Retrospektivní klinická srovnání prokázala, že hyperfrakcionovaná akceleroaná radioterapie poskytuje zlepšení lokoregionální kontroly ve srovnání s normofrakcionací [83]. Obdobné výsledky přinesla i metaanalýza zaměřená na celkové přežití zahrnující různá hyperfrakcionační a akcelerační schémata [84].)

1.2.1.2 Modality terapie nádorů HaN na Klinice onkologické FN Ostrava –

Tato data zde prezentuji, jelikož patientský soubor v práci samotné se vyvozuje z populace pacientů léčených na Klinice onkologické.

Celkem 86% pacientů s nádory hlavy a krku vedených v registru HARDROCK [59] bylo léčeno s kurativním záměrem. 3% pacientů podstoupilo pouze operaci, 25% bylo operováno s následnou adjuvantní radioterapií a 5% bylo operováno s další radioterapií a chemoterapií. Samotnou radioterapii prodělalo 41% pacientů, 11% pacientů bylo léčeno radioterapií a chemoterapií.

Ze 774 pacientů v registru HARDROCK bylo 32,3% primárně operováno. Z této skupiny pacientů u méně než 10% pacientů byla operace definitivním řešením, více než 90% pacientů podstoupilo dále adjuvantní radioterapii či radioterapii a chemoterapii.

54,1% pacientů prodělalo onkologickou léčbu s kurativním záměrem. U 76,6% z této skupiny pacientů se jednalo o samostatnou radioterapii, u 21% pacientů o kombinaci radioterapie a chemoterapie.

13,6% pacientů bylo léčeno paliativně či symptomaticky.

Celkem je radioterapií léčeno 96% pacientů, ať už kurativně či paliativně.

(Nota bene: Operativní léčba je uplatňována především u nádorů rtu a dutiny ústní a u nádorů slinných žláz. U nádorů hltanu, hrtanu a nosních a paranazálních dutin je operováno 23-50% pacientů, u nádorů nosohltanu pouze 5%.)

1.2.1.3 Vývoj využití radioterapie v léčbě nádorů HaN na Klinice onkologické FN Ostrava

V období 2004-2005 byly v případě indikace léčby zářením používány pouze strategie normofrakcionace a hyperfrakcionace. Strategie konkomitantního boostu (5-týdenního či 6-týdenního) začaly být používány až v letech 2006-2010. V období 2004-2005 byla používána pouze 3D (trojrozměrná) technika plánování radioterapie. IMRT technika (intensity modulated radiotherapy, léčba zářením s modulovanou intenzitou) začala být používána až v letech 2006-2010.

Tabulka č. 6: Strategie radioterapie v letech 2006 – 2010

	Kurativní léčba		Paliativní léčba	
	3D	IMRT	3D	IMRT
CB5w	9,80%	9,00%		
CB6w	8,10%	5,90%		
HF	1,70%			
NF	40,30%	12,60%	12,40%	0,20%

CB5w – režim 5-týdenního konkomitantního boostu (67,5 Gray/40 frakcí - fáze 1: 45 Gray/25 frakcí/5týdnů a fáze 2: 22,5 Gray/15 frakcí/3 týdny)

CB6w – režim 6-týdenního konkomitantního boostu (72 Gray/42 frakcí - fáze 1: 54 Gray/30 frakcí/6týdnů a fáze 2: 18 Gray/12 frakcí/2,5 týdne)

HF – hyperfrakcionační režimy (různé režimy s více než 1 frakcí denně každý den, redukce dávky na každou frakci)

NF – normofrakcionace (10 Gray/5frakcí/1 týden)

3D – technika plánování radioterapie s využitím trojrozměrného plánování

IMRT - léčba zářením s modulovanou intenzitou záření

U většiny kurativně léčených pacientů (62%) byla aplikována celková střední dávka radioterapie 66 – 75 Gray. Pacienti s nízkou dávkou (do 65 Gray) představují 25% z kurativně léčených radioterapií a pacienti s vysokou dávkou (76-81 Gray) 13%.

1.2.1.4 Toxicita radioterapie na Klinice onkologické FN Ostrava -

Praktická část této disertační práce se zabývá provedením a zhodnocením klinické studie fáze I. Stěžejním cílem této práce je tedy hodnocení toxicity terapie. Studie fáze I, která je obsahem této disertační práce, nezahrnuje kontrolní soubor k posuzování toxicity radioterapie. Uvádím proto zde v teoretickém úvodu do problematiky přehled toxicity radioterapie, tak jak je dlouhodobě hodnocena na pracovišti, kde proběhlo klinické hodnocení, jež je obsahem této disertační práce.

Toxicita byla a nadále je na Klinice onkologické FN Ostrava hodnocena dle RTOG kritérií – Radiation Therapy Oncology Group [60]. Níže uvedená data byla zpracována z lokálního registru Kliniky onkologické FN Ostrava HARDROCK [59], kapitola 1.1.3.3.

Akutní toxicitou při léčbě nádorů hlavy a krku radioterapií je nejčastěji postižena kůže, sliznice, slinné žlázy, hltan a jícen, příloha č. 3.

Akutní toxicita léčby radioterapií je srovnatelná v obou sledovaných obdobích 2004-2005 a 2006-2010.

Tabulka č. 7: Nejčastěji se vyskytující případy akutní toxicity v %

Grade dle RTOG kritérií	G0	G1	G2	G3	G4
Kůže	0	51	44	5	0
Sliznice	0	24	40	53	0
Slinné žlázy	1	57	42	0	0
Hltan, jícen	4	58	29	8	0

G – grade, stupeň závažnosti postižení dle definice RTOG [60]

1.3 Cyklooxygenáza

1.3.1 Obecné poznámky

Cyklooxygenázy (COX) jsou enzymy působící konverzi kyseliny arachidonové na prostaglandiny. Tyto metabolity hrají klíčovou roli ve fyziologických a patofyziologických procesech organismu [109].

Byly prokázány 2 izoformy tohoto enzymu – COX1 (cyklooxygenáza 1) a COX2 (cyklooxygenáza 2). Aktivitou COX1 je udržování homeostatických funkcí. COX1 je považován za konstitutivní enzym (exprimován buňkami trvale), jenž se vyskytuje ve sliznici žaludku, střev, v ledvinách či trombocytech, ovlivňuje tonus cév a reguluje krevní průtok či hraje úlohu v imunitní odpovědi [91, 109].

COX2 je naopak indukovaný enzym, tvořený v buňkách pouze za specifických okolností. Za normálních okolností jsou koncentrace tohoto enzymu v tkáních minimální, přítomnost ve vyšších koncentracích je prokázána v patologicky změněných tkáních (zánět, nádor) [27]. Toto dogma sice neplatí bezvýhradně (existují totiž i tkáně s fyziologickou produkcí COX2 jak bylo prokázáno na zvířecích modelech – v ledvinách, v mozku [110, 111]), nicméně, co se týče klinického významu, „patologické vlastnosti“ COX2 v zánětlivých procesech či neoplaziích převažují a jsou nejvýznamnější. Podrobnější výzkum ukázal, že vysoká exprese cyklooxygenázy 2 se nachází v novotvořených neoplastických epitelech, v imunitních buňkách v rámci nádorů, ve stromálních fibroblastech a endotelech novotvořených cév [93].

Syntéza COX2 je stimulována růstovými faktory EGF (endothelial growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), FGF (fibroblast growth factor), cytokiny, TNF alfa (tumor necrosis growth factor alpha), interleukiny a tumor promotory. Některé genové mutace jako např. u genů pro proteiny HER-2/neu, v-src, wnt signální dráhy také způsobují up-regulaci syntézy COX2 [11, 12, 105].

Nadprodukce enzymu COX2 či overexprese mRNA (messenger ribonukleová kyselina) pro COX2 byla prokázána u nádorů tlustého střeva, jícnu, plic, prsu, prostaty či ORL oblasti [12, 29, 30, 31]. Zvýšené hodnoty byly zjištěny však i u adenomů a prekanceróz, ale stejně tak i u nádorových metastáz. Zdá se, že metabolity kyseliny arachidonové ovlivňují hyperproliferaci, transformaci, nádorový růst, invazi a metastázování [34, 105].

1.3.2 Inhibitory cyklooxygenázy-2 v onkologii

Po mnoho let inhibitory cyklooxygenáz měly pověst léků na léčbu bolesti, horeček a zánětů. Od 90. let 20. století byly však zjištěny další účinky těchto léků, včetně jejich protinádorového efektu. Bylo prokázáno, že v nádorových lézích je exprese vysoká a užívání inhibitorů cyklooxygenázy snižuje produkci prostaglandinů a působí v dané populaci snížení incidence některých nádorů [14, 15]

Inhibice cyklooxygenázy neselektivně, tj. působící na isoenzym COX1 i COX2, ovlivňuje nejen patologické procesy, ale bohužel i přirozenou homeostázu tkání. Klinická praxe se proto zaměřuje na selektivní inhibici pouze izoenzymu COX2, která by neovlivňovala funkce sliznic či renální průtok [15, 91].

1.3.2.1 Epidemiologický důkaz

Jeden z prvních důkazů o ovlivňování nádorové patogenezy inhibitory cyklooxygenázy přinesly retrospektivní epidemiologické studie u pacientů s kolorektálním karcinomem a familiární adenomatózní polypózou. Tato retrospektivní hodnocení prokázala, že pacienti užívající nesteroidní antiflogistika z neonkologické indikace (např. léčba revmatoidní artritidy) měli mírnější průběh onkologického onemocnění a u familiární adenomatózní polypózy pozdější výskyt invazivního karcinomu [16, 17, 37].

I další studie u jiných tumorů (karcinomy prsů, plic, žaludku, jícnu) prokázaly podobný efekt – shrnuto v review publikované Koki a kolektivem [18].

Tato zjištění se stala základem k dalšímu zkoumání významu cyklooxygenázy 2 u nádorových onemocnění a jejich léčbě.

1.3.2.2 Overexprese v tumorech

Expres „patologické“ cyklooxygenázy 2 v premaligních i maligních lézích bývá zvýšena oproti hladinám v původní fyziologické tkáni, ze které léze vychází, jak již bylo zmíněno výše. Lze obecně říci, že exprese COX2 je zvýšená v průběhu celé tumorigeneze, od hyperproliferace tkáně až po metastatické onemocnění. Nadměrnou expresi COX2 (až 100 násobně vyšší) lze prokázat u 40-80% nádorů, např. u kolorektálního karcinomu, karcinomu prsu, pankreatu, plic, prostaty...[19, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33].

Nadprodukce COX2 v tkáních koreluje se zvýšenou invazivitou onemocnění, s velikostí a diferenciací tumoru, s rozsahem lymfatického postižení, s rozsahem novotvorby cév a se sníženým celkovým přežitím [34, 35, 36].

Praktická část této práce taktéž se touto otázkou zabývá. Je zkoumána exprese COX2 v nádorové tkáni z odebraných vzorků HaN nádorů.

1.3.2.3 Mechanismus tumorigeneze v souvislosti s COX2

Syntéza prostaglandinů katalyzována COX2 je zásadní pro řízení nitrobuněčných drah. COX2 je zapojena v nádorové angiogenezi, v inhibici apoptózy a také v indukci proangiogenních faktorů jako např. VEGF [34].

1.3.2.4 COX2 a nádorová novotvorba cév

Vaskulogeneza a angiogeneza jsou základními znaky nádorového bujení („hallmarks of cancer“). Tvorba cévního řečiště dovoluje růst tumoru od *carcinoma in situ* až po invazivní tumor [100]. Mikrocirkulace v tumoru je nutná k zásobování nádoru kyslíkem, výživou či faktory urychlujícími růst. Naopak nádorová cirkulace dovoluje uniknout nádorovým buňkám do systémového oběhu. Proangiogenní růstové faktory, receptory a nitrobuněčné dráhy se proto nabízejí jako potenciální klinické terapeutické cíle, které po vhodném zásahu mohou ovlivnit nádorový růst. Klinické využití antiangiogenní terapie již v praxi prokázalo svou účinnost například v léčbě hemangiomů či angioblastomů, kolorektálních karcinomů či karcinomů prsu [112].

Stejně tak i enzym cyklooxygenáza 2 se zdá být vhodným terapeutickým cílem. Inhibitory COX2 jako celecoxib či rofecoxib *in vitro* a *in vivo* na zvířecích modelech potlačují nádorový růst a novotvorbu cév. U pacientů s familiární adenomatózní polypózou bylo prokázáno, že při pravidelném užívání celecoxibu došlo k redukci velikosti i počtu polypů v tlustém střevě, čili prekanceróz závislých na angiogenezi [20, 21].

Mnoho faktorů stimuluje produkci COX2, ať už je to EGF, TNF alfa či hypoxie [22, 23]. Zvýšená produkce COX2 naopak působí nadprodukcí a uvolňování VEGF [34, 35, 38]. Ve fibroblastech myši s vyřazeným genem pro produkci COX2 (knock-out) i po vhodné stimulaci poklesla produkce VEGF o 94% ve srovnání s normálními geneticky neupravenými buňkami [24]. Ukázalo se také, že při expozici normálních fibroblastů vysoké koncentraci COX2 inhibitoru, poklesla produkce VEGF o 92% [25]. Toto propojení COX2 a VEGF bylo studováno i u lidských tkáňových vzorků. U nemalobuněčných plicních karcinomů byla zjištěna korelace mezi expresí COX2 a expresí VEGF a tyto dále inverzně korelovaly s dobou dogrese a celkovým přežitím [26].

Inhibice COX2 a následný pokles VEGF v tumorech působí snížení počtu a délky novotvořených kapilár v tumorech [34, 39, 40, 41, 42, 43]. Na základě studií na buněčných liniích a zvířecích modelech bylo navrženo několik hypotéz ohledně nitrobuněčných drah regulace cévní novotvorby a COX2. Blokace COX2 inhibitorem brání aktivaci mitogen-aktivované proteinové kinázy (MAP) spouštěné VEGF receptorem, což následně ovlivňuje vaskulární permeabilitu a proliferaci endotheliálních buněk. [34, 44, 45, 46, 47, 49]. Dále COX2 ovlivňuje funkci integrinů, zajišťujících komunikaci mezi endotheliálními buňkami. Klíčovým integrinem zde je molekula $\alpha V\beta 3$. Blokace COX2 inhibitorem snížila *in vitro* migraci endotheliálních buněk [107, 108]. Tato data byla shrnuta v publikaci Dormonda and Rüegga z r. 2001 [48].

1.3.2.5 Selektivní inhibice COX2

Skupina léků působících přes inhibici aktivity COX2 se v dnešní době využívá v léčbě bolesti. Jedná se o přípravky celecoxib, rofecoxib a valdecoxib.

In vitro, na agarových půdách byly zkoumány různé koncentrace COX2 inhibitorů. Formace buněčných kolonií a jejich proliferace byla inverzní ke stoupající koncentraci inhibitoru COX2 v kultivačním médiu [71]. Účinky celecoxibu *in vivo*, byly zkoumány v preklinických a klinických studiích na různých tumorech. Zde byl prokázán protinádorový účinek ve smyslu oddálení nádorového růstu, prodloužení doby do relapsu. Tyto účinky byly stejně tak jako *in vitro* inverzně závislé na koncentraci/dávce inhibitoru [50].

1.3.2.5.1 Celebrex

Jedná se o tvrdé tobolky o obsahu 200mg celecoxibu.

1.3.2.5.1.1 Terapeutické indikace

Celecoxib je určen k symptomatické terapii osteoartrózy, revmatoidní artritidy a ankylozující spondylitidy.

1.3.2.5.1.2 Kontraindikace

Přecitlivělost na léčivou látku nebo kteroukoliv pomocnou látku přípravku v anamnéze.

Známá přecitlivělost na sulfonamidy.

Pacienti s aktivním peptickým vředem nebo krvácením ze zažívacího traktu (GI).

Pacienti, u nichž se po užití kyseliny acetylsalicylové nebo NSAID, včetně inhibitorů COX-2 (cyklooxygenázy-2), objevil bronchospasmus, akutní zánět nosní sliznice, nosní polypy, angioneurotický edém, kopřivka nebo jiné reakce z přecitlivělosti.

Užití během těhotenství a u žen, které mohou otěhotnět, pokud neužívají účinnou antikoncepci

Užití během kojení.

Pacienti se závažnou dysfunkcí jater (hladina albuminu v séru <25 g/l nebo Child-Pughovo skóre ≥ 10).

Pacienti se stanovenou hodnotou clearance kreatininu <30 ml/min.

Pacienti se zánětlivým střevním onemocněním.

Pacienti s městnavým srdečním selháním (NYHA II-IV).

Pacienti s prokázanou ischemickou chorobou srdeční, onemocněním periferních arterií a/nebo cerebrovaskulárním onemocněním.

1.3.2.5.1.3 Farmakokinetické údaje

Celecoxib –dostupný inhibitor cyklooxygenázy 2 pod názvem Celebrex, je po perorálním podání rychle absorbován a dosahuje maximálních plazmatických koncentrací během 2-3 hodin. Podání s jídlem (s vysokým obsahem tuku) zpomaluje absorpci zhruba o 1 hodinu. Rovnovážné plazmatické koncentrace je dosaženo po pěti dnech léčby.

Celecoxib ve velké míře podléhá metabolismu, méně než 1% podané látky se vylučuje v nezměněné formě močí. Vazba na bílkoviny činí při terapeutické plazmatické koncentraci zhruba 97%, eliminační poločas je 8-12 hodin. Je metabolizován v játrech hydroxylací, oxidací a tvorbou glukuronidů. Hlavní metabolity nalezené v oběhu nemají detekovatelnou COX1 ani COX2 inhibiční aktivitu. Protože hlavní cestou eliminace celecoxibu je jaterní metabolismus, lze u nemocných s jaterní nedostatečností očekávat kumulaci účinné látky.

(NB: Farmakodynamické interakce - antikoagulační aktivita by měla být sledována zejména během prvních několika dnů po zahájení léčby nebo po změně dávkování celecoxibu u pacientů užívajících warfarin nebo jiná antikoagulantia, jelikož u těchto pacientů je zvýšené riziko krvácení. Z tohoto důvodu by měl být u pacientů užívajících perorální antikoagulantia pečlivě sledován INR pro protrombinový čas, zejména během prvních několika dnů po zahájení léčby celecoxibem nebo po změně jeho dávkování. Byly hlášeny případy krvácení ve spojení s prodloužením protrombinového času, převážně u starších pacientů, u pacientů užívajících celecoxib současně s warfarinem, přičemž některé z těchto příhod byly fatální.

NSAID mohou zeslabovat účinek diuretik a antihypertenziv. Obdobně jako u NSAID se může zvýšit riziko akutní renální nedostatečnosti (obvykle reversibilní) u některých pacientů s ohroženou funkcí ledvin (např. dehydratovaní nebo starší pacienti), jsou-li ACE inhibitory nebo antagonisté receptorů pro angiotensin II kombinovány s NSAID, včetně celecoxibu. Proto je nutné tuto kombinaci podávat s opatrností, zvláště u starších pacientů. Pacienti musí být dostatečně hydratováni a renální funkce je třeba monitorovat po zahájení souběžné terapie a dále v pravidelných intervalech.

Současné podávání NSAID a cyklosporinu nebo takrolimu by mohlo zvyšovat nefrotoxický účinek cyklosporinu a takrolimu. Pokud je celekoxib užíván v kombinaci s těmito látkami, je nutné monitorovat renální funkce.

Celekoxib může být užít s nízkými dávkami kyseliny acetylsalicylové, ale není náhradou kyseliny acetylsalicylové v kardiovaskulární profylaxi. Předložené studie ukázaly, že, stejně jako u ostatních NSAID, je, riziko ulcerací v zažívacím ústrojí či jiných komplikací v zažívacím ústrojí zvýšené při současném užívání nízkých dávek kyseliny acetylsalicylové v porovnání s užíváním samotného celekoxibu (viz bod 5.1).

1.3.2.5.1.4 Zvláštní upozornění a opatření pro použití

U pacientů léčených celekoxibem se vyskytly komplikace v horní části gastrointestinálního traktu (perforace, vředy nebo krvácení), z nichž některé byly fatální. Opatrnost se doporučuje při léčbě pacientů s významným rizikem rozvoje gastrointestinálních komplikací při podávání NSAID- u starších osob, u pacientů užívajících současně jiná nesteroidní antirevmatika nebo kyselinu acetylsalicylovou, případně u pacientů s anamnézou onemocnění gastrointestinálního traktu, jako jsou ulcerace nebo gastrointestinální krvácení.

Kardiovaskulární riziko léčby celekoxibem se může zvyšovat s dávkou a délkou léčby, proto je nutné užívat nejnižší účinnou denní dávku po nejkratší možné léčebné období. Potřebu symptomatické léčby a odpověď pacienta na léčbu je třeba pravidelně vyhodnocovat, zvláště u pacientů s osteoartrózou.

Vzhledem k absenci účinku na funkci destiček nepředstavují selektivní inhibitory COX-2 náhradu kyseliny acetylsalicylové při profylaxi kardiovaskulární tromboembolické choroby. Proto nesmí být antiagregační léčba přerušena.

Stejně jako v případě jiných přípravků, které inhibují syntézu prostaglandinů, bylo u pacientů užívajících celekoxib pozorováno zadržování tekutiny a otoky. Z tohoto důvodu by měl být celekoxib podáván s opatrností u pacientů s anamnézou srdečního selhání, dysfunkce levé komory srdeční nebo hypertenze, a dále u pacientů s již přítomným otokem z jakéhokoliv jiného důvodu, jelikož inhibice prostaglandinů může vést ke zhoršení funkce ledvin a k zadržování tekutiny. Rovněž je nutno postupovat opatrně u pacientů léčených diuretiky nebo s jiným rizikem hypovolemie.

Zhoršení funkce ledvin a jater a zejména dysfunkce srdce jsou pravděpodobnější u starších pacientů, kteří by tudíž měli být pod řádným lékařským dohledem. Data z klinických studií ukazují, že celekoxib má podobný vliv na renální funkce jako NSAID.

Celekoxib inhibuje CYP2D6. I když se nejedná o silný inhibitor tohoto enzymu, u individuálně dávkovaných přípravků, které se metabolizují prostřednictvím CYP2D6, může být nutné snížit dávku.

Tobolky přípravku Celebrex laktózu. Tento přípravek by neměli užívat pacienti se vzácně se vyskytujícími dědičnými obtížemi jako je nesnášenlivost galaktózy, Lappova deficiencie laktázy a porucha vstřebávání glukózy - galaktózy.)

1.3.2.5.1.5 Nežádoucí účinky

V kontrolovaných klinických studiích bylo léčeno celecoxibem kolem 7400 nemocných, z nichž zhruba 2300 užívalo celecoxib po dobu 1 roku a déle. Byly pozorovány následující nežádoucí účinky, které se projevíly u nemocných léčených celecoxibem v rámci 12 kontrolovaných studií s placebem a/nebo jinou léčivou látkou - sinusitida, infekce horních cest dýchacích, anémie, leukopenie, trombocytopenie, alergické reakce, anafylaktický šok, hyperkalemie, nespavost, úzkost, deprese, únava, závratě, neostře vidění, hypertonie, parestézie, ataxie, změny chuti, tinitus [72].

1.3.2.6 Inhibitory cyklooxygenázy 2 a radioterapie

Vzhledem k protinádorovým účinkům celecoxibu, zjištěným v klinických studiích, byl zkoumán jejich případný potenciační účinek při radioterapii. Zde několik kolektivů autorů zjistilo zlepšení léčebné odpovědi kombinované léčby a prodloužení doby do relapsu [46, 47, 51, 52]. Potenciační efekt radioterapie, tzv. radio-enhancement, byl studován za různých preklinických a klinických okolností na slizničních modelech tumorů a lidských xenograftech. Tento potenciační efekt, jak je publikováno v literatuře, má koeficient až 1,7 až 3,6 násobku efektu radioterapie [32, 33, 46, 47, 52, 61, 63, 64, 65, 66, 67]. Kombinovaná terapie nádorů čípku děložního radioterapií s indomethacinem prokázala prodloužení délky přežití [65].

Inhibice produkce COX2 a VEGF, které jsou indukovány radioterapií (tzv. stress response), právě inhibitory COX2, by mohla být mechanismem, jak obejít radiorezistenci tumorů HaN [67, 70].

V preklinické oblasti je nejvýznamnější prací publikace z r. 2005 autorů Raju a kol. [71]. Tato práce prokázala zvýšenou radiosensitivitu závislou na koncentraci celecoxibu. V závislosti na stoupající koncentraci Celebrexu v kultivačním médiu buněčných tkání se snižovala frakce buněk schopných dalšího buněčného dělení po ozáření. Na molekulární úrovni tato práce prokázala, že celecoxib snižoval syntézu DNA, a to několika mechanismy: bylo prokázáno snížení exprese klíčových regulačních proteinů v buněčném jádře, inhibice funkce kináz nutných k syntéze DNA a dále snížení vazebné kapacity jejich společného komplexu k vazbě na DNA. Na základě těchto poznatků byla vyřčena hypotéza, že celecoxib blokuje reparační schopnost subletálních poškození DNA působených iradiací, čímž zvyšuje účinnost radioterapie [71].

1.4 Studie fáze I

Vytváření nových a využití stávajících postupů v nových indikacích v onkologii nutností ke zlepšení léčebných výsledků. Jednou z cest, jak nové terapeutické postupy začleňovat do klinické praxe, je provést testování daného postupu na všech stupních klinických zkoušek. Tím prvním krokem je testování na úrovni studie fáze I [53, 54, 94]. Jedná se o testování nejčastěji nových léků či ozkoušených léčiv nebo postupů v nových indikacích, léčebných kombinacích či schématech. Hlavním cílem je stanovení tolerance nové léčby, detekce nejzávažnějších nežádoucích účinků a stanovení maximální tolerovatelné dávky, která by měla být následně využívána k dalšímu podrobnějšímu zkoumání (studie fáze II, III) [55, 94]. Předmětem této práce je právě provedení studie fáze I.

Příkladem takových přístupů v onkologii je využití léčiva, ať již cytostatika či jiného, v kombinaci se stávajícím standardem, např. přidání cytostatika k radioterapii či biologické terapie ke standardním chemoterapeutickým režimům. Vzhledem k tomu, že studie fáze I negarantuje léčebný přínos pro pacienta, zřídka kdy se toto prvotní klinické hodnocení provádí u standardní terapie s kurativním záměrem, např. adjuvantní terapie, ale naopak se provádí v paliativních přístupech či tam, kde nelze předpokládat snížení účinnosti standardního postupu.

Studie fáze I vždy vycházejí z teoretických předpokladů a preklinických výsledků. Preklinické poznatky o účinnosti, dávkování, farmakokinetice a farmakodynamice, indukci nebo supresi metabolismu ostatních léků, toxicitě, ale také informace o formě léku, dávce v tabletě/infuzi, způsobu skladování či podání slouží jako základ k designu studie.

Základními faktory ovlivňujícími rychlost a průběh studie jsou: volba základní dávky, velikost eskalačního kroku a definice kritérií možné zátěže pacientů (toxicity terapie) [56, 57].

1.4.1.1 Definice toxicity limitující dávku zkoumaného léku/postupu (DLT)

Definice DLT (Dose limiting toxicity, toxicity limitující dávku) vychází z předpokladů či toxicit zjištěných z předchozích studií a, u kombinací léčebných postupů, prohloubení již známých toxicit. Tato kritéria nadměrné (nepřípustné) toxicity léčby musí být stanovena předem a v průběhu studie nesmí být měněna.

Vzhledem k tomu, že každý léčebný postup přináší nové a někdy i nečekané nežádoucí účinky, které nelze předem předpokládat, je nutné stanovit obecná kritéria DLT [55, 61]. Patří sem kritéria jako hematologická toxicita III. a IV. stupně, nehematologická toxicita III. a IV.

st., nutnost nečekané hospitalizace, prodloužení plánované hospitalizace o více než 3 dny, smrt či přerušení terapie na více než např. 5 dnů.

Toxicita testované léčby musí být zaznamenávána podle platných kritérií stanovených odbornými společnostmi jako NCI (National Cancer Institute) nebo RTOG [60, 58].

1.4.1.2 Volba startovací dávky pro studii fáze I

Způsobů, jak stanovit nejnížší startovací dávku přípravku, kterou se bude studie zahajovat, je několik.

U vůbec prvního podání léku u člověka je nutno vycházet ze studií na zvířatech, které splňují podmínky Good Laboratory Practice [101]. Jako vstupní hodnotu dávky se používá 1/10 tzv. STD_{10} - Severe Toxic Dose nebo 1/6-1/3 tzv. HNSTD - Highest Non-Severely Toxic Dose. Využívá se ta hodnota, která z těchto dvou je nižší. STD_{10} (někdy také nazývaná LD10 – Lethal Dose), popisuje 10% mortalitu testovaného vzorku zvířat, nejčastěji krys, během trvání studie. HNSTD neboli popisuje dávku agens, která nepůsobí závažnou toxicitu či úmrtí zvířat (nejčastěji krys či psů) během studie [94, 95].

Pokud je testován nový postup s přípravkem, který je již využíván v jiných indikacích, obecně se doporučuje konzultovat ohledně vstupní dávky výrobce přípravku. Stanovení vstupní dávky vychází z bezpečnostních studií, které byly provedeny před registrací přípravku.

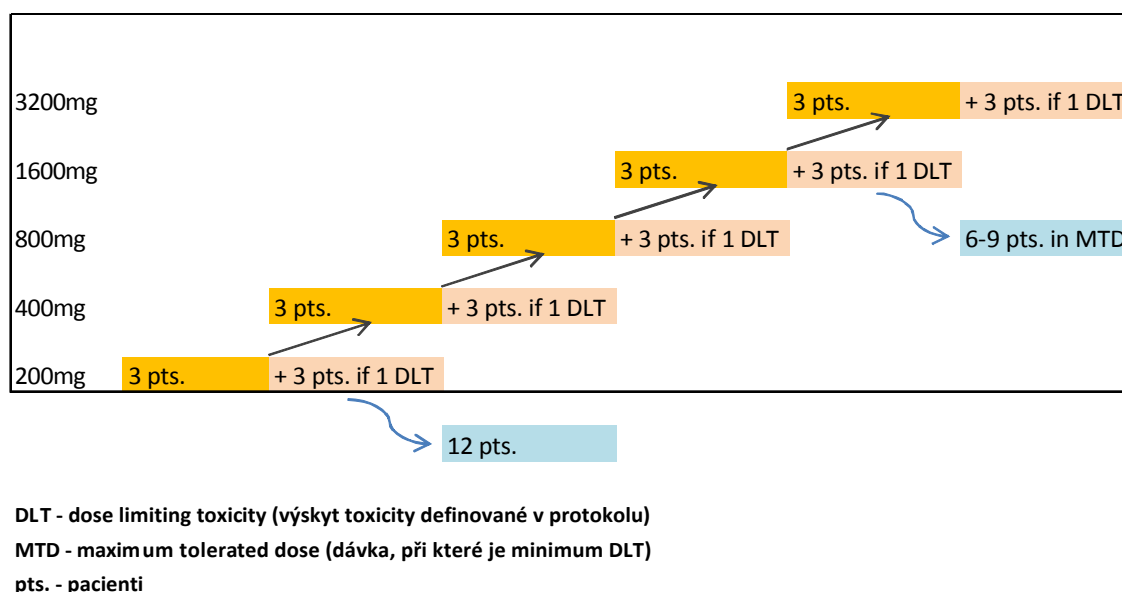
1.4.1.3 Eskalační schémata

Základním paradigmatem klinických studií fáze I je premisa, že vyšší dávka se rovná lepší účinnosti. Samozřejmě toto není v onkologii ani v jiném oboru obecně platné, ale je třeba si uvědomit, že studie fáze I zkoumají v první řadě toxicitu, která stoupá s dávkou podaného léku, nikoliv samotnou účinností léčby.

V minulosti bylo mnoho schémat, jak provádět eskalaci dávky testovaného léku [57]. Obecně používané designy jsou jednoduché, dovolují rychlé zjištění dávky vhodné pro testování ve studii fáze II a chrání před akceptací dávky s nadměrnou toxicitou. Nízký počet pacientů nedovoluje zjištění plného profilu možných toxicit a naopak náhodný výskyt raritní toxicity DLT může způsobit předčasné ukončení eskalace dávky a ve studii fáze 2 pak léčbu pacientů v subterapeutických dávkách.

V dnešní době se nejčastěji využívá tzv. „3+3“ design studie. Každá kohorta pacientů pro příslušnou hladinu dávky testovaného agens zahrnuje 3 pacienty. Pokud se u jednoho z pacientů vyskytne limitující toxicita (DLT – viz výše), do kohorty při stejné dávce se přibírá další 3 pacienty. Pokud žádný pacient či pouze 1 z šesti je postižen toxicitou definovanou jako DLT, je možné eskalovat dávku a otevřít další kohorty pacientů. Pokud naopak 2 ze 3 pacientů v kohortě, či 2 z 6 pacientů v rozšířené kohortě (3+3) prodělají toxicitu terapie definovanou jako DLT, je tato dávka považována za konečnou ve studii, tzv. dávka MAD (maximum administered dose). Dávka nižší o jeden stupeň, tj. dávka podávána v předchozí kohortě, je považována za MTD (maximum tolerated dose) a je také dávkou doporučenou k dalšímu testování ve studii fáze II (phase II recommended dose). Z důvodu bezpečnosti je nutno v konečné kohortě s dávkou považovanou za MTD provést náběr dalších pacientů do celkového počtu 6-12.

Graf č. 5: Příklad eskalace 3+3 design, eskalační krok „doubling“, startovací dávka 200mg:



Tento design studie byl využit i při studii prezentované níže ve vlastní práci této disertace.

1.4.1.4 Velikost eskalačního kroku

Výše rozdílů dávky mezi kohortami musí být rovněž stanovena předem a nemůže být dodatečně upravována. Nejčastěji se využívá eskalace dle Modifikovaného Fibonacciho schématu. Dle tohoto italského matematika 13. století byla vytvořena sekvence čísel, které odpovídaly různým přirozeným biologickým jevům. Tato číselná sekvence se tvoří přičítáním předchozích 2 čísel v numerické řadě, 1, 1, 2, 3, 5, 8, 13, 21, 34, 55, 89, 144, 233 ...

Pro účely eskalace dávky ve studiích fáze 1 byla tato číselná sekvence upravena a eskalace mezi kohortami se provádí násobky dle určeného schemata, např. násobky n :

$n, 2n, 3.3n, 5n, 7n, 9.3n \dots$

Další způsoby stanovení eskalačních kroků mohou být dány absolutním číslem, nejčastěji dvojnásobkem předchozího stupně, tzv. doubling, či např. velikostí/sílou komerčně vyráběných tablet (eg. 250mg, 500mg). Tento způsob eskalace byl využit v této práci.

1.4.1.5 Volba studijní populace pacientů

Studijní populace pacientů samozřejmě vychází z primárního záměru studie. Obecně lze z etického hlediska u studie fáze I provádět testování u pacientů s pokročilým onemocněním a u pacientů, u kterých stávající možnosti terapie nepřinášejí dostatečný terapeutický efekt. Dále platí obecná pravidla vedení klinických studií jako zařazování pacientů v dobré fyzické kondici ECOG PS 0,1 (Eastern Cooperative Oncology Group Performance Scale), s dobrou funkcí jater, ledvin či adekvátní hematopoetickou rezervou [53, 61, 95].

1.4.2 Hodnocení studie fáze I

Základním parametrem hodnocení studie I je stanovení maximální tolerovatelné dávky přípravku ve zkoumaném terapeutickém postupu na základě hodnocení akutní toxicity.

Další cíle je nutno hodnotit tak, jak byly stanoveny v designu studie. Toto zahrnuje plné referování akutní toxicity všech stupňů, případně, pokud studie běží dostatečně dlouho, i popis pozdní toxicity. Často je vyžadováno i zhodnocení terapeutického efektu ve smyslu počtů parciálních remisí, kompletních remisí, progresí, dále doby do progresu a popřípadě celkového přežití. Tyto výsledky bývají pouze popisné a nedosahují statistické významnosti a to vzhledem k tomu, že velikost patientského souboru se řídí dosažením DLT a nikoliv statistické významnosti klinické odezvy léčby.

1.4.3 Shrnutí

Studie fáze I nepřinášejí odpovědi na otázky, zda zvolená zkoumaná terapie funguje či je jakkoliv lepší/horší než známý standard léčby. Studie fáze I identifikují toxicitu nové terapie (DLT) a stanovují maximální tolerovatelnou dávku (MTD), která je v omezené populaci pacientů bezpečná. Tyto studie vycházejí z preklinických zkušeností, farmakologie a teoretických předpokladů. Studijní populace nebývají velké, pohybují se od 15-50 pacientů, probíhají rychle, náběr pacientů v závislosti na diagnóze trvá přibližně 1-2 roky, a je možno je

provádět v jednom či jen několika málo klinických centrech. Vzhledem k tomu, že hodnocení klinické odpovědi není primárním cílem těchto studií, je možno do studijní populace zahrnout mírně nehomogenní populaci pacientů se stejnou základní diagnózou.

2 Metodika práce

Jak bylo zmíněno výše, léčba pokročilých nádorů hlavy a krku je náročná. Radioterapie je jednou z hlavních léčebných modalit u těchto pokročilých nádorů, často i jedinou možnou. Předpokládaná synergie radioterapie a potenciačního efektu inhibice COX2, která byla zjištěna v preklinickém výzkumu, by mohla pomoci klinicky zlepšit výsledky léčby pokročilých nádorů HaN.

Tato práce si stavěla za cíl zjistit toleranci radioterapie při maximální eskalaci dávky Celebrexu – inhibitoru COX2, dále zjistit korelaci mezi tkáňovou expresí COX2 v nádoru a sérovými hladinami VEGF jakožto “markerem” vaskulogenezy. Klinická odpověď ve smyslu dosažení remise onemocnění byla druhotným cílem této práce.

2.1 Náběr pacientů, vstupní a vylučovací kritéria

Náběr pacientů do studie dle vstupních a vylučovacích kritérií byl zahájen od ledna 2007 a ukončen v prosinci 2008. Zařazení pacienti pocházeli z Kliniky onkologické Fakultní nemocnice Ostrava, kam byli odesláni mezioborovým onkologicko - otorhinolaryngologickým konziliem. Pacienti byli o účasti ve studii informováni ústně i formou informačního letáku, viz. příloha č. 4.

2.1.1 Vstupní kritéria pro zařazení do studie:

- 1) přítomnost histologicky verifikovaného spinocelulárního karcinomu HaN s výjimkou karcinomu nasopharyngu
- 2) lokálně pokročilý inoperabilní nález, nemetastatický
- 3) věk minimálně 18 let
- 4) ECOG performance status 0 nebo 1
- 5) schopnost polknout studijní medikaci (kapsle) bez rozkousávání
- 6) dostatečná hematopoetická kapacita (definována vstupními hodnotami periferní krve: hladina hemoglobin > 100 g/l, absolutní počet neutrofilů $> 1,5 \times 10^9$ /l, počet krevních destiček $> 100 \times 10^9$ /l)
- 7) dobré renální parametry (definovány sérovými hodnotami kreatininu < 100 μ mol/l)
- 8) dostatečné jaterní funkce (definovány sérovými hodnotami alanin transaminázy - ALT a aspartat transaminázy – AST do 2,5 násobku horní hranice normy)
- 9) udělený písemný informovaný souhlas

2.1.2 Vylučovací kritéria:

- 1) anamnéza maligního nádorového onemocnění s výjimkou nemelanomových kožních nádorů a *in situ* nádoru čípku děložního
- 2) aktivní vředová choroba gastroduodena
- 3) závažné onemocnění jater či ledvin
- 4) cerebrovaskulární onemocnění
- 5) chronické srdeční selhávání
- 6) těhotenství, kojení
- 7) známá alergie na celecoxib nebo sulfonamidy

2.2 Radioterapie

Pacienti byli léčeni plnohodnotnou kurativní radioterapií v režimu 6- týdenního konkomitantního boostu.

2.2.1 Parametry dávek a frakcionace ozařování

- celková dávka záření 72 Gy
- celková dávka na PTV1 54 Gy, 30 frakcí a 1,8 Gy
- dosycovací dávka na PTV2 18 Gy, 12 frakcí a 1,5 Gy

2.2.2 Definice cílových objemů

Cílové objemy zahrnovaly primární tumor definovaný klinickým vyšetřením, zobrazovacími technikami (kontrastní CT – počítačová tomografie) a fibroskopií, potřebné lemy tkání s předpokládaným mikroskopickým šířením, lemy nastavení a nepřesností (set-up margin) a lymfatickou drenáž dle doporučených postupů RTOG [60].

- GTV – objem nádoru (gross target volume). Objem GTV byl definován dle makroskopického nádorového postižení detekovaného kontrastním CT a endoskopií provedenou lékařem ORL.
- CTV – klinický cílový objem (clinical target volume). Objem CTV zahrnoval předpokládanou oblast mikroskopického šíření. Tato oblast byla definována jako GTV s lemem 5mm a klinicky nepostižené uzlinové oblast dle doporučení RTOG.
- PTV1 – plánovací cílový objem (planning target volume). PTV1 kompenzuje variabilitu v nastavení mezi jednotlivými dny (tzv. set-up margin). Tento objem byl definován jako CTV s lemem 10mm.

- PTV2 – plánovací objem pro boost (dosycení). Tento objem obsahoval GTV s 5mm lemem.
- ICRU (International Commission on Radiation Units) bod byl umístěn do středu PTV.

2.2.3 Technika

Hlava a krk pacienta byly znehybněny individuálně připravovanou termoplastickou maskou.

Plánovací CT simulace byla prováděna na oblast hlavy a krku od baze lební až k infraklavikulárním prostorám. CT bylo prováděno bez kontrastní látky, CT řezy byly 3 mm tlusté. Snímky byly posílány do konturovací stanice ve formátu DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine).

Plánování ozařovacích objemů bylo prováděno na plánovacích systémech vhodných pro 3D (3-dimensional, trojrozměrnou) konformní radioterapii a IMRT (Precise Plan, Electa).

Distribuce dávky v PTV a v okolních tkáních byla získávána trojrozměrně a byla vyjádřena formou dávkově objemových histogramů (DVH – dose volume histogram, dávkově objemový histogram). Homogenita dávky v PTV respektovala doporučení ICRU, minimum předepsané dávky bylo 95%, maximum překročení předepsané dávky 107%.

Ozařovací pole byla nastavena a upravena použitím techniky “beam’s eye view”.

Byla využívána technika „step-and-shoot“.

Digitální portálové zobrazení bylo získáváno 1x týdně a srovnáváno s rekonstruovanými snímky s plánovacího CT. Rozdílnosti v nastavení nad 5mm byly korigovány.

Technika IMRT byla využívána u iradiace tumorů v blízkosti míchy jakožto kritického orgánu v případech, kdy hrozilo riziko překročení maximálních tolerančních dávek.

2.2.3.1 Kritické orgány

V této lokalitě byla za kritický orgán považována mícha, maximální dávky na míchu nepřekročily 45 Gy.

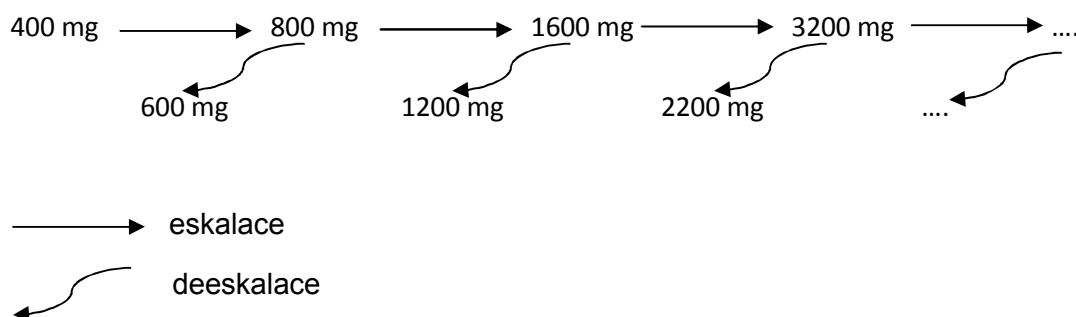
2.3 Celebrex

Pacientům byl v tomto studijním protokolu podáván inhibitor cyclooxygenázy-2 celecoxib (komerční název Celebrex) po celou dobu ozařování včetně sobot, nedělí či dnů pracovního klidu, počínaje 1. dnem ozařování, konče posledním dnem ozařování.

Byla prováděna eskalace dávky dle předem stanoveného schématu – zdvojování dávky až do dosažení toxicity limitující dávku (DLT – dose limiting toxicity) a následná deeskalace dávky o 1/3 (se zohledněním velikosti, resp. síly tablet Celebrexu - 200mg).

Startovací dávka vycházela ze zkušeností ze studií prováděných v minulosti [42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49] a byla stanovena na 400mg /den (ve 2 podáních à 200mg).

Nákres naplánované eskalace / deeskalace dávky



Kohorty pacientů byly tříčlenné, další náběh pacientů do kohort byl prováděn při dosažení toxicity kombinované terapie předem stanovené jako toxicita limitující dávku.

Nebyla dovolena redukce dávky studijního léku u jednotlivého pacienta (tzv. “intra-patient”). V případě nežádoucích účinků či jiných komplikací bylo indikováno ukončení podání Celebrexu.

2.4 Hodnocení toxicity, hodnocení léčebné odpovědi

2.4.1 Metodika hodnocení časně a pozdní toxicity

Časná toxicita terapie byla hodnocena dle RTOG kritérií, které v té době byly standardem na Klinice onkologické FN Ostrava, kde studie probíhala [60], příloha č. 3. Byla hodnocena po samotném ukončení radioterapie a při kontrole 6 týdnů po ukončení radioterapie. Pozdní toxicita byla hodnocena dle CTC AE (Common Toxicity Criteria for Adverse Events), verze 3, která v té době byla nejaktuálnější [58]. Tato byla hodnocena pro účely této studie při návštěvách ve 3. a 6. měsíci po ukončení ozařování a samozřejmě i při následných kontrolách v rámci nestudijních kontrol pacientů.

(Nota bene: V době sepisování této disertační práce je k dispozici od května 2009 již CTC AE verze 4.0 a dokonce od června 2010 i verze 4.03. Vzhledem k tomu, že se jedná o rozsáhlé dokumenty o více než 70 stranách u verze 3 a více než 190 stranách u verzí 4, tak jejich znění v této práci neuvádím. Jedná se o všeobecně dostupné dokumenty přístupné na všech onkologických a radioterapeutických pracovištích a přístupné na veřejných webových stránkách americké vládní společnosti National Cancer Institute (NCI), která je součástí United States Department of Health and Human Services a je zodpovědná za koordinaci národních onkologických programů, provádění výzkumu, vzdělávání, šíření zdravotnické osvěty a dále zajišťování aktivit týkajících se příčin, prevence, diagnostiky a léčby nádorů.

CTC AE verze 3: http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/docs/ctcae3.pdf

CTC AE verze 4.03: http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf)

2.4.2 Definice DLT (toxická limitující dávka):

V rámci přípravy základního designu tohoto klinického hodnocení byla stanovena kritéria nepřipustné toxicity léčby.

Tyto zahrnovala:

- jakoukoliv hematologickou či nehematologickou toxicitu III. nebo vyššího stupně
- mukozitidu III. st. v ozařované oblasti
- dermatitidu III. st. v ozařované oblasti
- polykací obtíže znemožňující perorální příjem studijní medikace
- akutní toxicitu terapie, která způsobí ukončení léčby nebo přerušení na více než 5 dnů (počítaje včetně dnů pracovního klidu)

2.4.3 Definice cílové dávky (phase II recommended dose)

Bylo stanoveno, že dávka o 1 stupeň nižší než dávka působící DLT bude považována za cílovou dávku, doporučenou k testování na úrovni klinického hodnocení fáze II.

2.4.4 Metodika hodnocení léčebné odpovědi

Hodnocení léčebné odpovědi bylo druhotným cílem studie. Léčebná odpověď byla hodnocena v 6 týdnech po ukončení radioterapie, dále ve 3 měsících, v 6 měsících, ve 12 měsících, v 18 měsících a ve 24 měsících po ukončení léčby.

Hodnocení bylo vyjádřeno ve smyslu hodnocení dosažení remise na:

- kompletní remise
- parciální remise
- relaps/progrese

Toto hodnocení bylo prováděno dle kritérií RECIST, verze 1.0, která v době iniciace této studie byla aktuální [106].

(Nota bene: vzhledem k rozsáhlosti dokumentu a jeho všeobecné dostupnosti tento dokument zde necituji. Je dostupný na: <http://www.eortc.be/recist/> a <http://www.recist.com/index.html>.)

2.5 Histochemické zpracování vzorků tkání

Byla provedena analýza původních vzorků tkání získaných biopsií pro účely diagnostiky. Analýza vzorků zahrnovala ověření diagnózy a dále hodnocení tkáňové exprese COX2 pro účely určení korelace vstupních hodnot exprese COX2 v nádorových buňkách s hladinami VEGF v séru při léčbě. Z etických důvodů nebyly odebírány nové biopsie tumorů.

Po předchozí fixaci tkáně formalinem byly z parafrinových bločků získány řezy 3-4 μ m tlusté. Byly vždy připraveny čerstvé řezy, které byly barveny hematoxylinem a eosinem. Na těchto řezech byla ověřena původní histopatologická diagnóza.

Dále byly připraveny další čerstvé řezy, které byly dle doporučení výrobce manuálně zpracovávány monoklonální myší protilátkou proti lidské COX2 (výrobce Dako, clone CX-294, izotop IgG₁, kappa) [69]. Toto bylo prováděno zkušeným personálem Patologického ústavu FN Ostrava. Buněčný barvicí vzor pro anti-COX2 byl cytoplasmatický. Jako chromagen byl využit diaminobenzidine (výrobce Dako, Liquid Dab). Barvení vzorků jatrní tkáně, jakožto pozitivní kontroly, bylo prováděno u každého jednotlivého barvení.

Expres COX2 byla vyjádřena v procentech pozitivně zbarvených buněk k celkovému počtu buněk. Odečet byl prováděn zkušeným patologem ve FN Ostrava.

2.6 Zpracování sérových vzorků k detekci VEGF

Pro účely hodnocení případného korelátu léčebné odpovědi vyjádřené poklesem vaskulogeneze byly prováděny odběry krve v průběhu radioterapie a v poléčebném sledování.

Odběr a zpracování sérových vzorků VEGF bylo prováděno v první den ozařování (značeno jako I), v polovině ozařovacího cyklu – 15. den ozařování (značeno jako II), v poslední den ozařování (značeno jako III) a při první kontrole v poléčebném sledování 6 týdnů po ukončení radioterapie (značeno jako IV).

Vzorek krve po odebrání byl ihned centrifugován při 3000 otáčkách/s po dobu 5 minut a pipetou bylo odebráno serum. Toto bylo rozděleno do 2 zkumavek ke zmrazení. Jedna zkumavka byla určena k laboratornímu zpracování, druhá jako záloha pro případ ztráty

vzorku či poškozený materiál při transportu nebo při zpracování. Vzorky byly konzervovány při teplotě -30° Celsia až do transportu do laboratoře, transport byl prováděn v suchém ledu.

Hladina sérové VEGF byla hodnocena metodou ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) za použití komerčně dostupné monoklonální protilátky proti VEGF (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN). Zpracování bylo prováděno dle doporučení výrobce zkušenou imunologickou laboratoří (Nemocnice Sv. Alžběty, Imunologická laboratoř, MUDr. Eva Zavadová, Ph.D., adresa: Na Slupi 6, Praha 2).

Hladina sérové VEGF byla vyjádřena v absolutních číslech v ng/ml (nanogram / mililitr).

2.7 Statistické zpracování

Ke zpracování primárních normálních parametrických dat byly použity robustní statistické metody – průměr, rozptyl, frekvenční tabulky. Do zpracování byla zahrnuta všechna získaná data.

K dalšímu zpracování dat byly využity speciální statistické metody dle doporučení statistika: McNemarův test srovnání dichotomních kategorických dat, Shapiro-Wilk test k analýze kontinuálních dat o neparametrickém rozložení, Mann-Whitney U test ke srovnání dat mezi skupinami a Wilcoxon test ke srovnání párových dat. Ke zjištění korelace (míry vztahu) mezi expresí COX2 a hladinami VEGF byl využit Spearmanův korelační koeficient [68].

Všechny testy byly provedeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Analýza byla prováděna v Graph Pad Prism version 4.00 for Windows (Graph Pad Software, San Diego, CA) a SPSS 17.02 (SPSS for Windows, Rel. 12.0.1. 2003. Chicago: SPSS Inc.).

3 Praktická část

Primárním cílem této práce byl náběr pacientů do kohort, eskalace dávky Celebrexu postupně v kohortách a stanovení akutní toxicity kombinované léčby radioterapií s Celebrexem.

3.1 Pacientský soubor

V období od ledna 2007 do června 2008 byl proveden náběr pacientů s lokálně pokročilým, negeneralizovaným spinocelulárním karcinomem oblasti HaN. Generalizace byla vyloučena sonografií dutiny břišní a skiagramem nebo CT vyšetřením hrudníku. Parametry onemocnění a celkového stavu pacientů splňovala vstupní kritéria, viz metodika práce str. 43, 44, kapitola 2.1.1, 2.1.2.

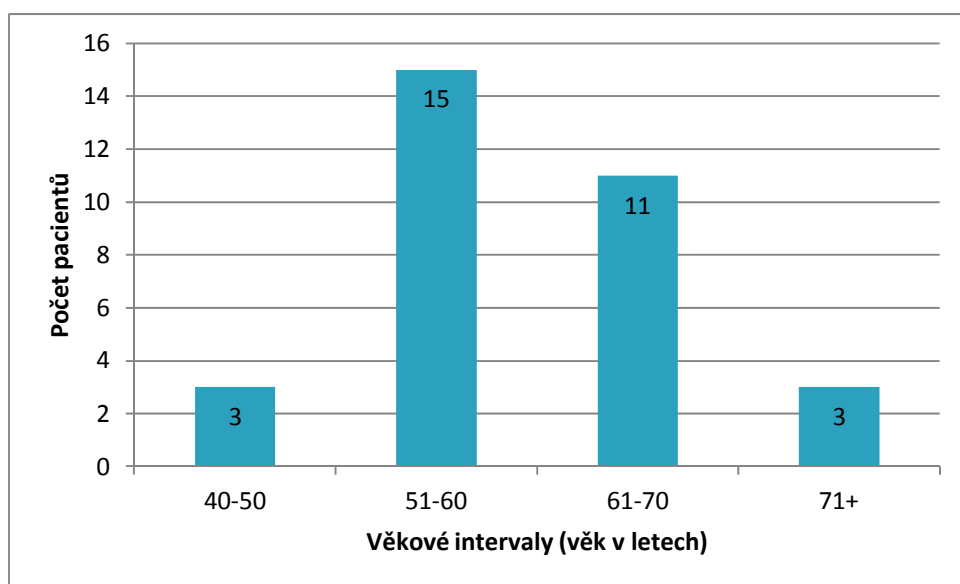
3.1.1 Demografie pacientů

Do studie bylo zahrnuto 32 pacientů.

29 pacientů byli muži, 3 ženy, poměr mužů k ženám byl 9 : 1.

Průmerný věk pacientů byl 59 let, rozptyl 44-78 let.

Graf č. 6: Věková distribuce pacientů



Toto pohlavní i věkové rozložení patientské populace odpovídá obecnému rozložení publikovanému v odborné literatuře i v souborech pacientů léčených na Klinice onkologické FN Ostrava, jak bylo prezentováno výše v teoretickém úvodu do problematiky, kapitola 1.1.4.

3.1.2 Charakteristika pacientů

Vzhledem ke vstupním kritériím do studie byli zařazeni pacienti v dobrém celkovém fyzickém stavu ECOG PS 0 a 1 a s dobrými orgánovými funkcemi. Již z definice vstupních

kritérií byli vyloučeni pacienti ve špatném celkovém stavu, s těžkou limitující komorbiditou, těžkou hepatotí či pokročilou renální insuficiencí.

3.1.2.1 Laboratorní nálezy

Průměrná vstupní hladina hemoglobinu celého souboru pacientů při vstupu do studie byla 140,8 g/l, minimální hodnota byla 110 g/l, maximální 163 g/l.

Průměrná sérová hladina kreatininu byla 87,1 $\mu\text{g/l}$, minimální hodnota byla 55 $\mu\text{g/l}$, maximální 117 $\mu\text{g/l}$.

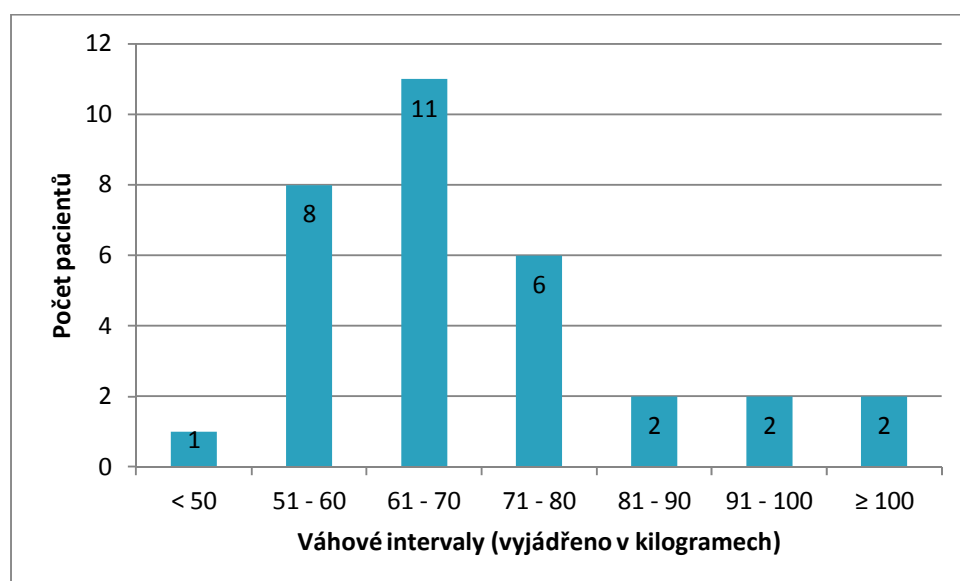
Průměrná sérová hladina alanin transferázy (ALT) byla 0,44 $\mu\text{kat/l}$, minimální hodnota byla 0,08 $\mu\text{kat/l}$, maximální 1,81 $\mu\text{kat/l}$.

3.1.2.2 Váha

Průměrná váha pacientů ve studijním souboru byla 72kg, minimální hodnota 50kg, maximální 168kg. Většina pacientů se pohybovala v rozmezí 51,80kg, váha třetiny pacientů se pohybovala v intervalu 61-70kg.

Vzhledem k tomu, že tento parametr je velmi důležitý pro předpokládanou toleranci léčby (polykací potíže během terapie a následně po ní, zhoršení regenerační kapacity tkání a celého organismu při katabolismu), a zároveň rozptyl hodnot v souboru byl veliký, dovoluji si tato data prezentovat ještě formou intervalového histogramu.

Graf č. 7: Rozložení pacientů dle vstupní váhy před zahájením léčby



3.1.2.3 Komorbidity

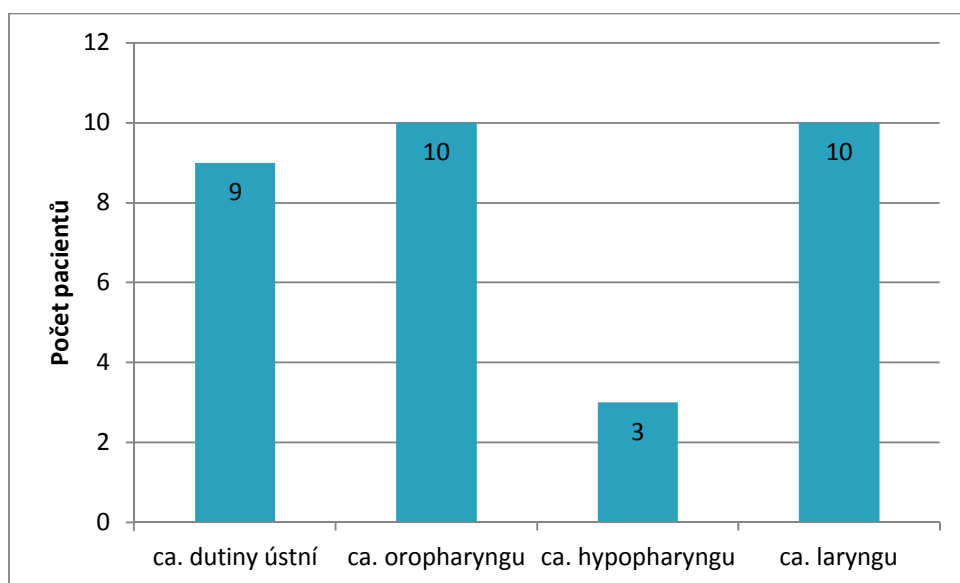
Nejčastějšími komorbiditami pacientů byly hypertenze (15 pacientů), chronická bronchitis (9 pacientů), chronická obstrukční plicní nemoc (4 pacienti), hepatopatie (3 pacienti), etylismus (2 pacienti) a dále diabetes mellitus, ischemická choroba dolních končetin, benigní hyperplazie prostaty, artróza nosných kloubů, epilepsie, obezita.

3.1.3 Anatomická distribuce nádorů

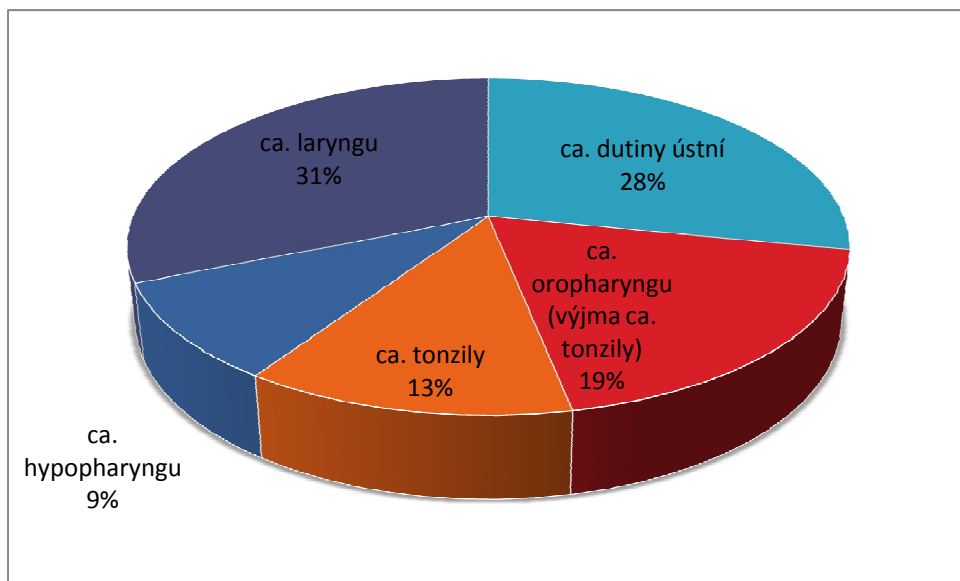
Jak již bylo zmíněno dříve, tato práce se zabývá nádory stomatologické a ORL oblasti výjma nádorů nasopharyngu či nádorů slinných žláz.

V souboru 32 pacientů se u 28,1% se jednalo o karcinomy baze úst, u 31,3% o karcinomy orofaryngu (z toho ve 40% o karcinom tonzily), u 9,4% o karcinomy hypofaryngu a u 31,3% o karcinomy laryngu. Toto rozložení anatomické distribuce tumorů je obdobné jako ve velkých souborech pacientů, kapitola 1.1.3.2.

Graf č. 8: Histogram znázorňující četnost nádorů v jednotlivých anatomických lokalizacích (vyjádřeno v absolutních počtech pacientů)



Graf č. 9: Koláčový graf znázorňující četnost nádorů dle jednotlivých anatomických lokalizací (vyjádřeno procentuálně)



3.1.4 Stádium onemocnění

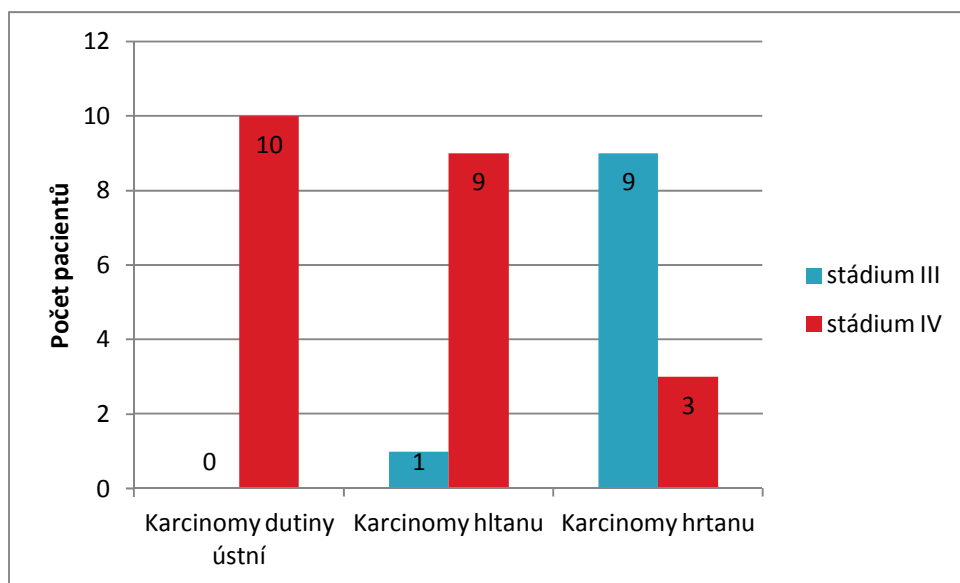
Ve skupině 32 pacientů mělo 22 v době zahájení terapie onemocnění ve stádiu IV, 10 pacientů onemocnění ve stádiu III. V případech tumorů ve stádiu III se jednalo o onemocnění buď inoperabilní vzhledem k perioperačním rizikům nebo o pacienty neoperované z důvodu osobního rozhodnutí pacienta. Podíl pokročilosti onemocnění dle stádií vyjadřují tabulka a graf níže.

Tabulka č. 8: Distribuce patientského souboru dle stádia onemocnění v jednotlivých anatomických lokalizacích

Lokalita nádoru ↓ / Stádium onemocnění →	III	IV
Karcinomy dutiny ústní	0	10
Karcinomy hltanu	1	9
Karcinomy hrtanu	9	3
Souhrnně všichni pacienti	10	22

Je patrné, že stádia III se týkala téměř výhradně karcinomů laryngu.

Graf č. 10: Histogram znázorňující rozdělení stádia III a IV onemocnění (vyjádřeno absolutním počtem pacientů)



3.1.5 TNM

Na pokročilosti onemocnění a zařazení onemocnění do pokročilého stádia III či IV u jednotlivých pacientů, tak jak byla definována dle TNM klasifikace verze 6 z r. 2002 (příloha č. 1), se u 31 pacientů podílela velikost tumoru a u 22 pacientů postižení uzlin. U 11 nebyly nalezeny postižené lymfatické uzliny ani při klinickém ORL vyšetření ani při vstupním kontrastním CT vyšetření. Rozsáhlé postižení uzlin, N2 nebo N3, bylo zjištěno u 14 pacientů.

Počty výskytu jednotlivých stádií tumoru (T) / lymfatických uzlin (N).

T1	T2	T3	T4
0	1	15	16

N0	N1	N2	N3
11	7	13	1

3.1.6 Histologie

Všechny histologické nálezy získané z původních diagnostických biopsií na různých pracovištích v regionu byly ověřeny 2. čtením. Shoda mezi 1. a 2. čtením histologie byla 100%.

U všech pacientů se jednalo o dlaždicobuněčné karcinomy.

Diferenciace (vyzrávání tkáně) byla vyjádřena stupněm (označeným jako G1, G2, G3), její rozložení je znázorněno níže.

G1	G2	G3
11	16	5

G1 – dobře diferencovaná tkáň

G2 – středně diferencovaná tkáň

G3 – špatně diferencovaná tkáň

3.2 Radioterapie

U všech pacientů byl dodržen předepsaný ozařovací režim a celý cyklus radioterapie a bylo dosaženo ozařovací dávky 72 Gy. U všech pacientů byly dodrženy předepsané objemy, tak jak byly definovány výše (metodika práce, kapitola 2.2). Dodržení celkové ozařovací dávky a objemů bylo primárním cílem, aby pacient nebyl terapeuticky znevýhodněn oproti pacientům nezařazeným ve studii.

V prezentovaném souboru byla celková doba radioterapie průměrně 43,9 dnů, nejkratší doba ozařování byla 40 dnů, u 6 pacientů radioterapie trvala více než 45 dnů, z toho u 4 pacientů více než 50 dnů.

Tabulka č. 9: Frekvenční tabulka vyjadřující počet dnů radioterapie a počet pacientů ozařovaných daný počet dnů (včetně dnů víkendů)

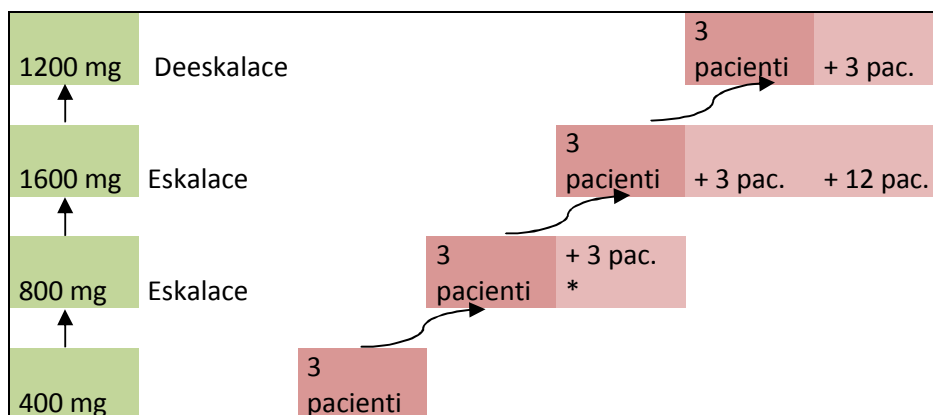
Počet ozařovacích dnů	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
Počet pacientů	4	1	6	7	5	3	0	1	1	0	3	0	1

K prodloužení délky radioterapie docházelo z důvodu výskytu dnů pracovního klidu mimo soboty a neděle (státní svátky, vánoce ...) a v několika případech z důvodu technických odstávek ozařoven (závady, servisní prohlídky ...). Tato neplánovaná prodloužení terapie nebyla korigována např. přidáním další frakce RT.

3.3 Celebrex

Všichni pacienti zařazení do klinického hodnocení užívali Celebrex (studijní medikaci) od prvního do posledního dne iradiace včetně sobot, nedělí či jiných dnů pracovního klidu, tak jak bylo stanoveno v protokolu. Dávka byla rozdělena do dvou podání – ranní a večerní medikace dle řádu lůžkové části Kliniky onkologické FN Ostrava.

Pacienti byli rozděleni do kohort dle dávek Celebrexu. Schéma fakticky provedené eskalace je znázorněno níže.



*** 1 pacient vyřazen – nespolupráce**

První kohorta 3 pacientů obdržela dávku 400mg Celebrexu na den, což je dávka hodnocena jako bezpečná, doporučována výrobcem a běžně dlouhodobě užívána v léčbě chronických revmatoidních onemocnění. V této skupině žádný z pacientů neměl v den ukončení iradiace toxicitu 3. stupně dle RTOG (příloha č. 3, str. 84).

Po dokončení hodnocení všech pacientů 1. kohorty, byla otevřena 2. kohorta pacientů s vyšší dávkovou hladinou Celebrexu. V druhé kohortě jsme eskalovali dávku na dvojnásobek, na 800mg/den. U jednoho pacienta došlo v posledním týdnu kombinované terapie k rozvoji mukozitidy III. stupně. Kohorta byla proto rozšířena a byl proveden náběr dalších 3 pacientů. Jeden pacient nedokončil užívání Celebrexu, nikoliv z důvodu toxicity ale z důvodu nespolupráce. Nebylo dosaženo 30% toxicity v rámci kohorty (jak bylo definováno v designu studie), proto jsme dávku eskalovali dále.

Ve třetí kohortě jsme navýšili dávku Celebrexu opět dvojnásobně, tj. na 1600mg/den. Tuto dávku jsme již dále neeskalovali, ale naopak rozšířili patientský soubor, vzhledem k tomu, že předpokladem bylo, že se bude jednat o soubor konečný. Celkem do této kohorty pacientů bylo zařazeno 18 pacientů. V této kohortě pacientů došlo k rozvoji 3 případů dermatitidy III st., jeden z těchto tří pacientů měl i mukozitidu III. st.. U jednoho pacienta došlo ve 3 týdnu radioterapie k rozvoji generalizovaného exantému, jehož etiologie nebyla zjištěna, a proto byl Celebrex profylakticky vysazen a tato reakce byla hodnocena jako toxicita spojená s užíváním Celebrexu. Jak již bylo zmíněno výše, tuto dávku jsme již dále neeskalovali, jednak proto, že se jednalo až o 4- násobek běžné doporučené dávky (riziko

nepředvídatelných lékových interakcí), a také proto, že již se jednalo o 8 kapslí denně rozdělených do 2 dávek, což při zachování původní chronické medikace pacientů již bylo náročné na spolupráci (velké množství léků).

Vzhledem k výskytu 4 případů akutní toxicity ve 3. kohortě pacientů bylo naopak přistoupeno k deeskalaci dávky. V této kohortě pacienti užívali dávku Celebrexu 1200mg/den. Zde bylo zařazeno celkem 6 pacientů. V této kohortě pacientů nedošlo k rozvoji akutní reakce III. či IV. stupně, proto byl náběh pacientů do studie na této úrovni ukončen.

U žádného pacienta z žádné kohorty nedošlo k rozvoji akutní reakce IV. stupně.

Tabulka č. 10: Distribuce výskytu akutní toxicity léčby III. st. v rámci kohort

Akutní toxicita III. stupně	dermatitida	mukozitida	jiná	souhrn toxicit III. stupně
400 mg / den	0	0	0	0
800 mg / den	0	1	0	1
1600 mg / den	3*	1*	1	4
1200 mg / den	0	0	0	0

*2 DLT u jednoho pacienta

3.4 „Phase II dose“

Vzhledem k výše prezentovaným výsledkům toxicity a eskalaci dávky, lze zhodnotit, že bezpečnou dávkou pro další klinické hodnocení (studie fáze II) za podobných vstupních kritérií je dávka 1200mg / den rozdělena do 2 podání na den.

3.5 Celkové zhodnocení toxicity radioterapie

3.5.1 Časná toxicita

Samozřejmě se během radioterapie vyskytla i méně závažná toxicita nižších stupňů, která nespĺňovala kritéria DLT (dose limiting toxicity), tak jak byla stanovena v designu studie.

Celý rozsah časných toxicit, nezávisle na stupni dle RTOG, je znázorněn v následující tabulce.

Tabulka č. 11: Počty akutní toxicity léčby (všechny stupně) v kohortách pacientů

Dávka Celebrexu Akutní toxicita jakéhokoliv stupně	400mg / den	800mg / den	1600mg / den	1200mg / den	Výskyt toxicity nezávisle na dávce Celebrexu
Mukozitida	3	5	18	6	32
Dermatitida	3	5	18	6	32
Dysfagie se snížením perorálního příjmu	1	2	9	2	14
Pocit suchosti v ústech	1		1		2
Anémie	1	1	6	1	9
Leukopenie			1		1
Lymfopenie			1		1
Hepatopatie		3	1	1	5
Zhoršení renálních funkcí		1	1		2
Slabost, únava	2		3		5
Váhový úbytek		1	7	1	9
Kandidová stomatitida	1	2	8	4	15
Nevolnost	1	1	1		2
Bolest s nutností užití opioidů	1	1	4	1	7
Hemoptoe			1		1
Pyróza			1		1
Otok hrtanu				1	1

3.5.2 Pozdní toxicita

I když hodnocení pozdní toxicity není přísně vzato parametrem k posouzení tolerance léčby při eskalaci dávky v rámci studie fáze I, samozřejmě byla i tato toxicita zaznamenávána, tak jak je to prováděno u všech pacientů ozařovaných na Klinice onkologické FN Ostrava.

Bylo hodnoceno postižení:

kůže – atrofie, hyperpigmentace,

podkoží – indurace, fibróza,

sliznice v ozařovaném poli – petechie, atrofie,

hrtanu – otok,

a pocit suchosti v ústech a související poruchy příjmu potravy.

Hodnocení bylo prováděno při kontrole 6 měsíců po ukončení terapie. U žádného pacienta nebyla zaznamenána pozdní toxicita III. či vyššího stupně ani systémová toxicita mimo oblast radiace. Výskyt toxicity I a II. stupně v kohortách a celkově vyjadřuje tabulka níže.

Tabulka č. 12: Výskyt pozdní toxicity léčby v jednotlivých kohortách pacientů

Oblasti hodnocení toxicity	kůže		podkoží		sliznice		slinné žlázy		hrtan		nehodnoceno
Stupeň toxicity	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
Kohorta I	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Kohorta II	2	0	3	2	2	0	3	1	3	0	0
Kohorta III	3	1	11	2	2	1	3	6	6	2	5
Kohorta IV	2	0	5	0	2	0	2	1	0	2	1
Souhrnně	7	2	19	4	6	1	8	8	9	4	8

Nějcastějším nežádoucím pozdním následkem léčby byla fibróza podkoží, dále xerostomie a asymptomatický otok hrtanu či otok hrtanu bez respirační insuficience. Postižení I. stupně se vyskytlo častěji než postižení II. stupně.

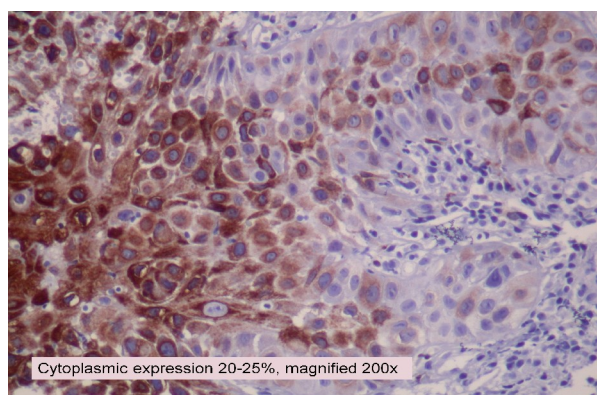
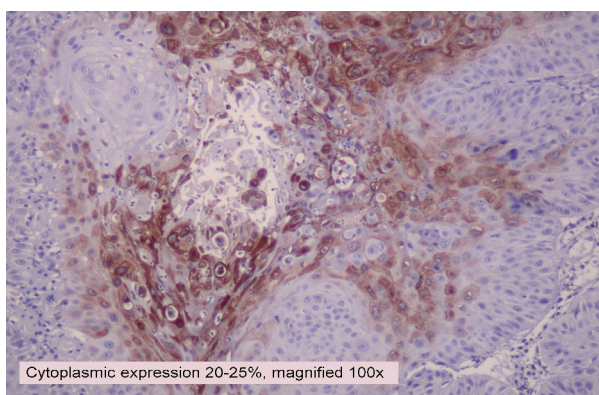
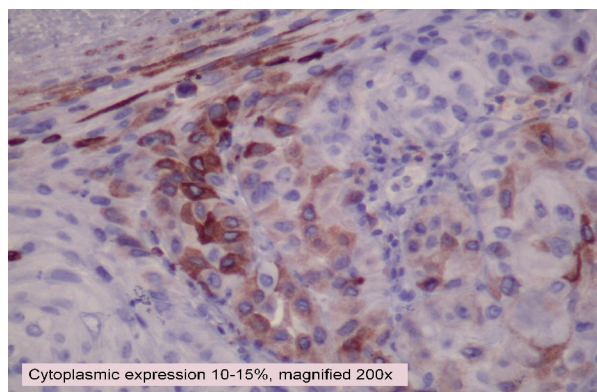
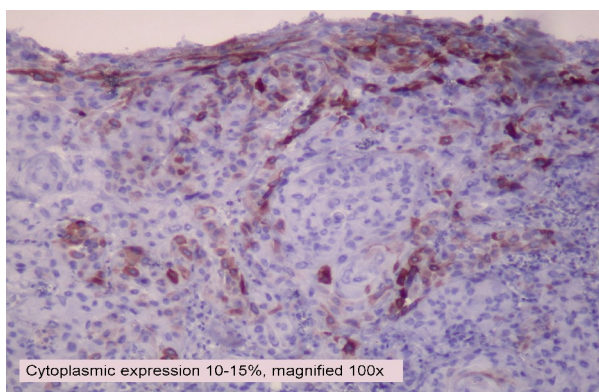
Vzhledem k tomu, že pozdní toxicita byla hodnocena s odstupem několika měsíců po ukončení léčby, část pacientů nebylo možno hodnotit. Důvodem bylo buď úmrtí pacienta, či relaps nebo progrese onemocnění v ozařovaném poli, tj. i v poli výskytu nežádoucích účinku.

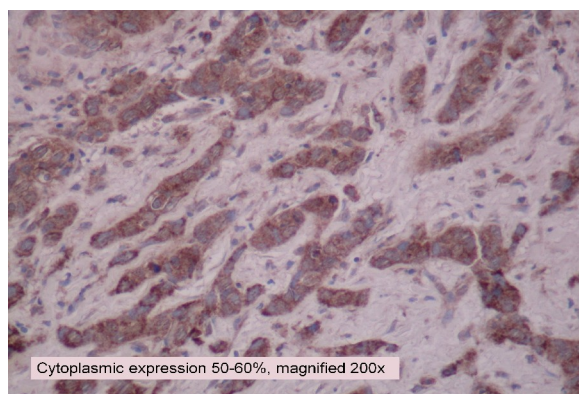
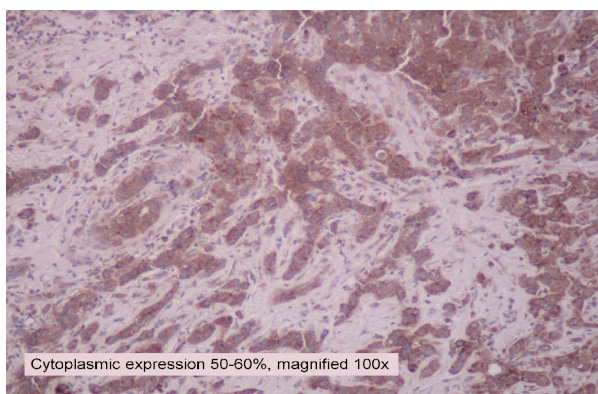
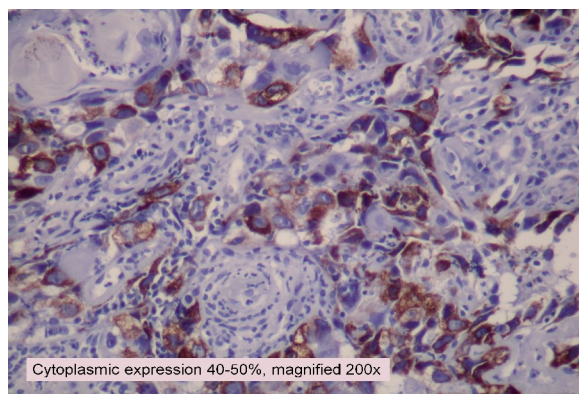
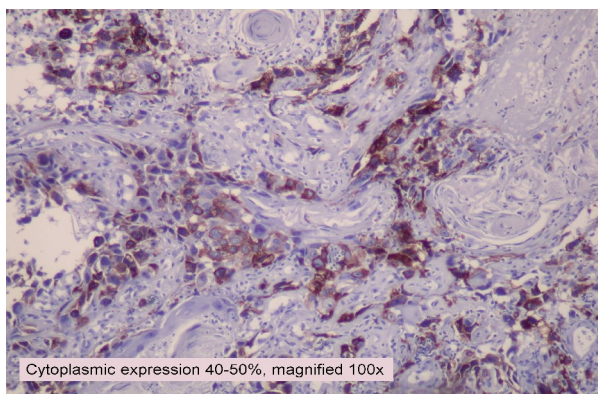
3.6 Exprese cyklooxygenázy

V biotických histologických vzorcích z odebrané nádorové tkáně všech zařazených pacientů jsme testovali expresi enzymu cyklooxygenázy-2. Toto testování bylo prováděno imunohistochemickými metodami a odečítáno zkušeným patologem. Exprese COX2 byla vyjádřena procentem COX2 pozitivních buněk v poměru ke všem buňkám.

Níže jsou znázorněny histologické nálezy získané ze světelného mikroskopu. Jedná se 4 vzorky (získané od pacientů ze studijního souboru), vybrané jako ilustračně nejvhodnější.

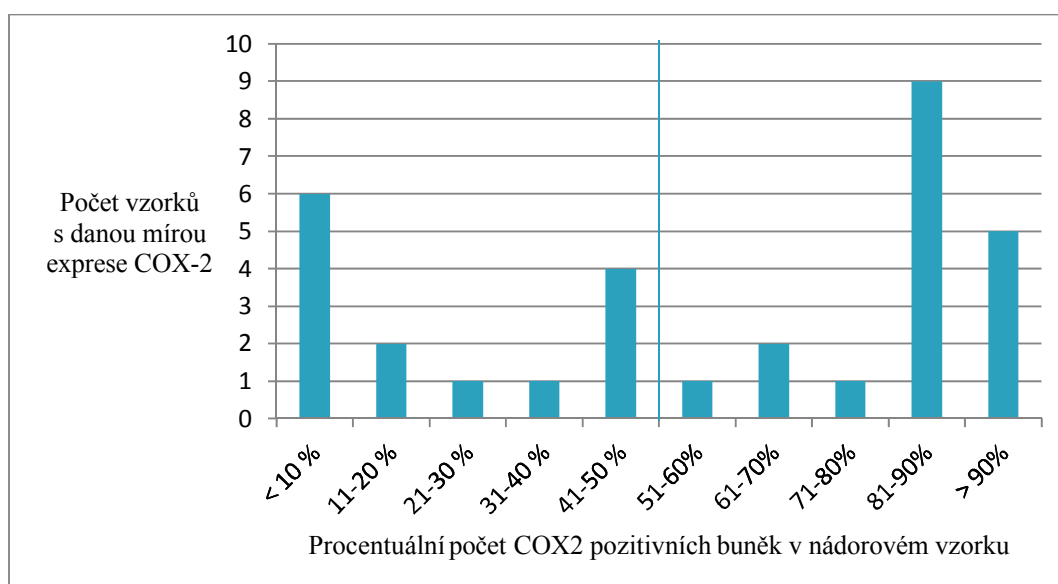
Vlevo je vždy znázorněn vzorek ve 100násobném zvětšení, vpravo je stejný vzorek ve 200násobném zvětšení. První pár snímků (vodorovně) znázorňuje vzorek s 10-15% pozitivitou COX2 exprimujících buněk, 2. pár vzorek s 20-25% pozitivitou COX2 exprimujících buněk, 3. pár s 40-50% zastoupením COX2 pozitivních buněk a 4. pár snímků znázorňuje tumor s 50-60% COX2 exprimujících buněk.





Bylo vyšetřeno 32 vzorků nádorových tkání získaných od všech pacientů. Procentuální rozložení exprese tkáňové COX2 v souboru testovaných vzorků znázorňuje histogram níže.

Graf č. 11: Distribuce počtů tkáňových vzorků dle % exprese COX2



18 vzorků vykazovalo expresi COX2 vyšší 50%, ve 14 vzorcích byla exprese rovna 50% nebo méně než 50%. Expresi menší než 50% pozitivních buněk byla označena jako

nízká (low), naopak exprese nad 50% jako vysoká (high). Vzhledem k použité semikvantitativní metodice k získání těchto dat další rozdělování tohoto malého souboru jsme již nedělali a hodnocení exprese COX2 bylo prováděno na souboru jako celku.

Tabulka níže znázorňuje distribuci vzorků s nízkou či vysokou expresí v jednotlivých kohortách dle dávky studijní medikace.

Tabulka č. 13: Rozdělení tumorů s vysokou a nízkou expresí v kohortách

	≤50%	>50%
Kohorta 1 (400mg/den)	2	1
Kohorta 2 (800mg/den)	0	5
Kohorta 3 (1600mg/den)	6	12
Kohorta 4 (1200mg/den)	6	0

≤50% - exprese COX2 v menšinové populaci nádorových buněk

>50% - exprese COX2 ve většinové populaci nádorových buněk

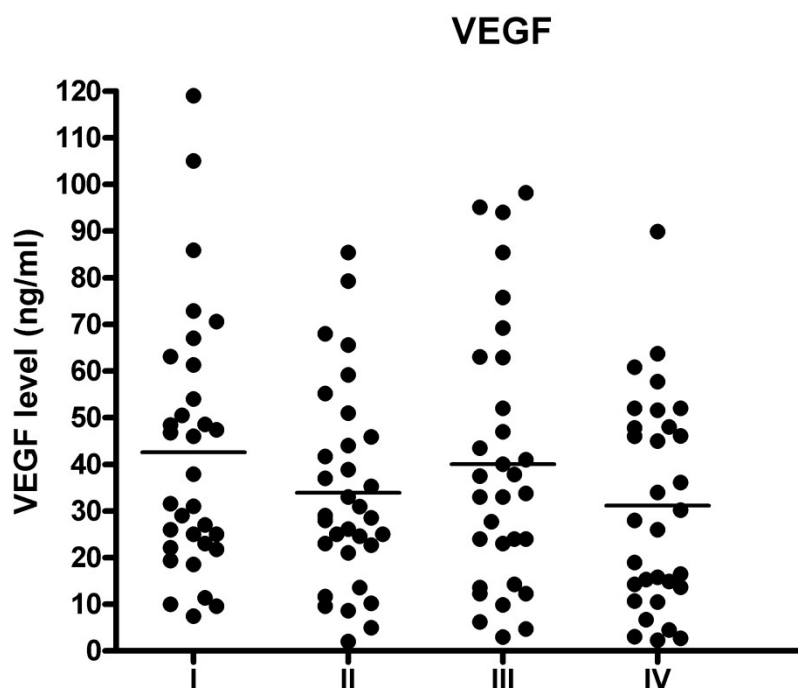
3.7 Sérové hladiny VEGF

Další testovanou proměnnou v rámci této studie byla hladina vaskulárního endoteliálního faktoru (VEGF) v séru pacientů. Písemný souhlas s testováním jsme obdrželi od všech zúčastněných pacientů.

Vzorek séra byl odebírán v průběhu radioterapie:

- na začátku radioterapie – v 1. den radioterapie, označováno jako I,
- v polovině radioterapie – 15. ozařovací den, označovaný jako II,
- v poslední den radioterapie – 30. ozařovací den, označovaný jako III,
- poslední odběr byl prováděn 6 týdnů po ukončení radioterapie s Celebrexem (follow-up), označován jako IV.

Graf č. 12: Sérové hladiny VEGF v průběhu léčby (I, II, III) a ve follow-up (IV)



I, II, III, IV – doba odběru vzorku

I – 1. den radioterapie

II – 15. den radioterapie

III – 30. den radioterapie

IV – 6 týdnů po ukončení radioterapie

Byla provedena analýza vývoje hladiny VEGF v séru v průběhu léčby. Statistická analýza byla provedena párovým t-testem. Párování hodnot bylo vysoce signifikantní.

Nebyl prokázán signifikantní rozdíl mezi hladinami sérové VEGF mezi 1. a 15. ozařovacím dnem (I vs. II), $p = 0,12$.

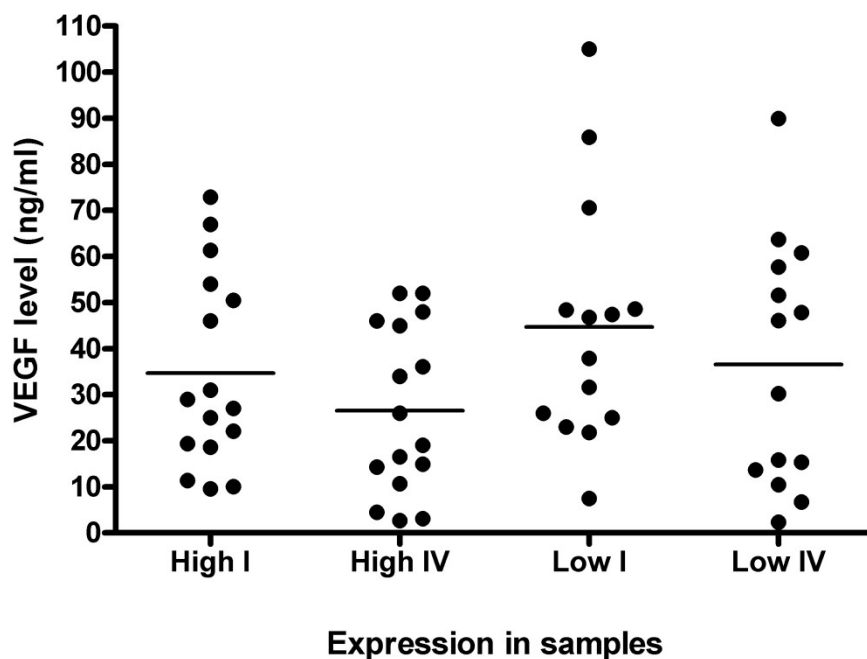
Nebyl prokázán signifikantní rozdíl mezi hladinami sérové VEGF ani mezi 1. a 30. ozařovacím dnem (I vs. III), $p = 0,52$.

Signifikantní pokles hladiny VEGF v séru byl prokázán mezi 1. ozařovacím dnem (tumor neovlivněn léčbou) a 6 týdnů po ukončení ozáření (doba předpokládané remise po léčbě) – I vs. IV, $p = 0,011$.

3.8 Korelace mezi COX2 a VEGF

Dále byla provedena statistická korelace mezi expresí COX2 v nádoru a poklesem hladiny VEGF v průběhu léčby, resp. po léčbě (odběr IV).

Graf č. 13: Korelace mezi expresí COX2 a sérovou hladinou VEGF



High I – sérová hladina v 1. den RT u pacientů s expresí COX2 u > 50% buněk v nádoru

High IV - sérová hladina 6 týdnů po RT u pacientů s expresí COX2 u > 50% buněk v nádoru

Low I – sérová hladina v 1. den RT u pacientů s expresí COX2 ≤50% buněk v nádoru

Low IV - sérová hladina 6 týdnů po RT u pacientů s expresí COX2 ≤50% buněk v nádoru

V celé studijní populaci nebyla nalezena korelace mezi expresí COX2 v biotické tkáni v nádoru a dynamikou VEGF popsanou výše, $p = 0,419$.

U pacientů s nízkou expresí COX2 ($\leq 50\%$) signifikantní pokles v hladinách VEGF taktéž nebyl prokázán.

Nicméně u pacientů, kde exprese COX2 v nádoru byla vstupně vysoká, byl zaznamenán signifikantní pokles VEGF mezi hladinami při zahájení léčby (I) a v poléčebném sledování (IV), $p = 0,022$.

3.9 Léčebná odpověď, follow-up

Hodnocení léčebné odpovědi bylo druhotným cílem studie. Léčebná odpověď byla hodnocena v 6 týdnech po ukončení radioterapie, dále ve 3 měsících, v 6 měsících, ve 12 měsících, v 18 měsících a ve 24 měsících po ukončení léčby. Počet jednotlivých typů dosažené léčebné odpovědi v jednotlivých časových bodech znázorňují tabulky níže.

Vzhledem k tomu, že pozdní toxicita byla hodnocena s odstupem několika měsíců od ukončení léčby, část pacientů nebylo možno hodnotit vzhledem k jejich úmrtí. Pro přehlednost tato úmrtí jsou zahrnuta do tabulky níže, i když *sensu stricto* se nejedná o léčebnou odpověď jako takovou. V této tabulce tyto údaje slouží spíše k vysvětlení úbytku pacientů pro následný follow-up.

Tabulka č. 14: Léčebná odpověď v poléčebném sledování

	6 týdnů	3 měsíce	6 měsíců	9 měsíců	12 měsíců	18 měsíců	24 měsíců
Kompletní remise	22	23	21	21 ⁺	18	16 ⁺	15 ⁺
Parciální remise	7	5	0	2 [*]	1 [*]	1 [*]	1 [*]
Relaps/progrese	3	3	7	3	5	2	2
Úmrtí spojené s tumorem	0	0	3	2	1	4	1
Úmrtí nesouvisející s tumorem	0	1	0	0	1	1	0
Počet pacientů pro další follow-up	32	31	28	26	24	19	18

^{*} léčebná odpověď po reiradiaci

⁺ 1 pacient po salvage chirurgii

(Nota bene: celkem u 3 pacientů byla provedena salvage chirurgická léčba, u 2 pacientů se jednalo o laryngektomii s blokovou direkcí krčních uzlin, u 1 pacienta o rozšířenou tonsilektomii. 4 pacienti byli léčeni reiradiací pro recidivu onemocnění.)

Tabulka č. 15: Klinická odpověď ve 3 měsících sledování

Klinická odpověď	Kompletní remise	Parciální remise	Progrese / relaps
Kohorta 1 (400mg/den)	1	1	1
Kohorta 2 (800mg/den)	5	0	0
Kohorta 3 (1600mg/den)	12	4	2
Kohorta 4 (1200mg/den)	5	0	1
Celkem	23	5	4

Tabulka č. 16: Klinická odpověď v 6 měsících sledování

Klinická odpověď	Kompletní remise	Parciální remise	Progrese / relaps	Úmrtí související s tumorem
Kohorta 1 (400mg/den)	0	0	1	2
Kohorta 2 (800mg/den)	4	0	1	0
Kohorta 3 (1600mg/den)	13	0	3	1
Kohorta 4 (1200mg/den)	4	0	2	0
Celkem	21	0	7	3

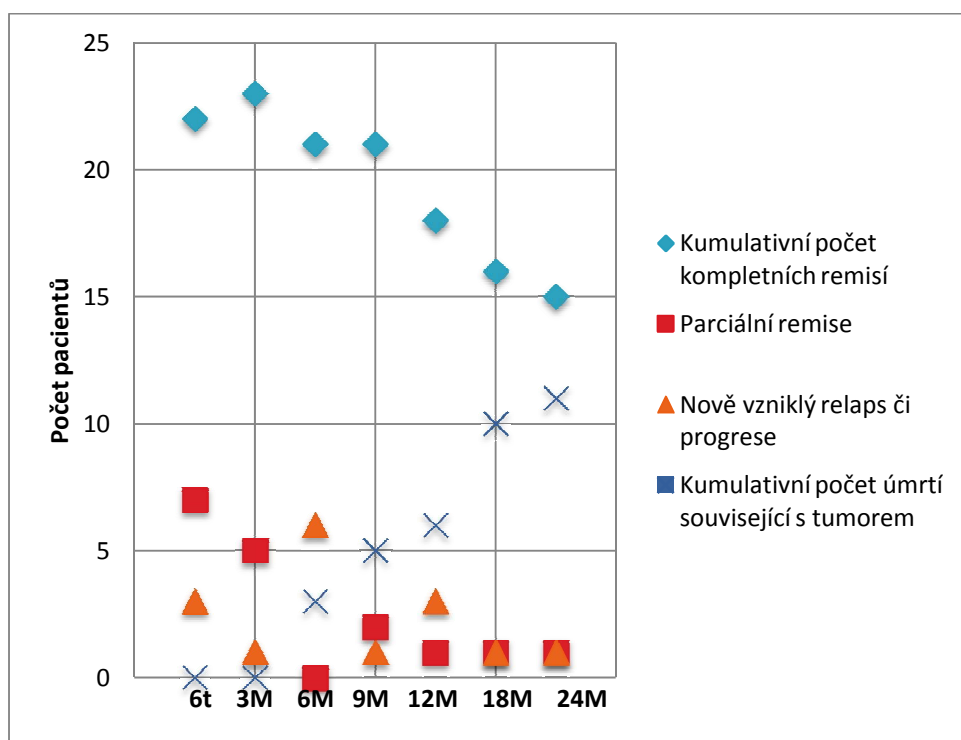
(Nota bene: poslední sloupec nevyjadřuje léčebnou odpověď jako takovou, nýbrž slouží k ilustraci úbytku pacientů.)

Rozdíl v relativních proporcích kompletních a parciálních remisí ve 3 a 6 měsících poléčebného sledování byl statisticky nesignifikantní, $p = 0,073$.

Tabulka č. 17: Vývoj léčebné odpovědi v čase

	6 týdnů	3 měsíce	6 měsíců	9 měsíců	12 měsíců	18 měsíců	24 měsíců
Kumulativní počet kompletních remisí	22	23	21	21	18	16	15
Parciální remise	7	5	0	2	1	1	1
Nově vzniklý relaps či progrese	3	1	6	1	3	1	1
Kumulativní počet úmrtí související s tumorem	0	0	3	5	6	10	11

Graf č. 14: Grafické znázornění vývoje léčebné odpovědi v čase



6t – kontrola pacientů 6 týdnů po ukončení RT

3M,6M,9M,12M,18M,24M – kontrola pacientů 3,6,9,12,18,24 měsíců po ukončení RT

Úmrtí pacientů bylo buď v souvislosti s tumorem, nebo bylo na interní komorbidity.

Dva pacienti zemřeli na kardiovaskulární příhodu.

Dva pacienti zemřeli časně po léčbě, jeden na maligní kachektizaci při perzistentním onemocnění.

U dvou pacientů bylo zjištěno generalizované onemocnění, aniž by byl lokoregionálně zjištěn tumor. U jednoho z těchto 2 pacientů se jednalo o generalizaci v plicích, která mohla souviset s primárním onemocněním, u 2. pacienta (žena) se jednalo o generalizaci do skeletu, která nebyla dále došetřována.

U jednoho pacienta bylo zjištěno histologicky verifikované duplicitní maligní postižení plic.

Další úmrtí proběhla až s odstupem více než 18 měsíců po ukončení léčby a to v souvislosti s relapsem onemocnění.

4 Diskuze

Nádory HaN jsou sice malou skupinou nádorů, nicméně vzhledem k náročnosti léčby a špatné prognóze velmi významnou. Tyto nádory postihující převážně muže a vyskytují se v produktivním věku. V teoretickém úvodu jsem uvedla demografická data celonárodní, dále situaci na Klinice onkologické ve FN v Ostravě, která je v Moravskoslezském kraji největším onkologickým centrem. Studijní soubor prezentovaný v této práci zahrnoval 32 pacientů, a, byť byl početně malý, tak svým demografickým rozložením odpovídal velkým souborům pacientů.

Ve snaze o zlepšení lokoregionální kontroly nádorů je celosvětově zkoumáno mnoho přístupů. Jedním z nich je ovlivnění nitrobuněčných drah inhibicí enzymu COX2. Raju a kolektiv [71] prezentovali v roce 2005 *in vitro* studii na tkáňových liniích HaN nádorů, na kterých prokázali inhibiční efekt na nádorový růst způsobený celekoxibem. Dále byl v této studii na tkáňových kulturách prokázán potenciační efekt celekoxibu na radioterapii a koncentrační závislost tohoto efektu.

Na základě těchto informací jsme připravili studii fáze I, která vycházela z těchto teoretických předpokladů a měla za prvotní cíl zjištění maximální tolerovatelné dávky Celebrexu (celekoxibu, komerčně dostupného inhibitoru COX2) *in vivo* u pacientů s pokročilým nádorem HaN ozařovaných s kurativním záměrem.

V dostupné literatuře zabývající se léčbou různých nádorů inhibitory COX2, za tzv. vysokou dávku celekoxibu byla považována dávka 800mg / den rozdělena do dvou podání [73, 74, 75, 76, 77]. V žádné studii nebyla prováděna eskalace do vyšší dávky. Buď “up-front” byla stanovena tato dávka jako nejvyšší testovaná, nebo byla na této dávkové úrovni klinická hodnocení ukončena, i když nebyla dosažena DLT.

V této studii jsme předem žádnou stropovou dávku celekoxibu nestanovili. V průběhu eskalace se však ukázalo, že maximální dávkou, kterou jsou pacienti ochotni po dobu radioterapie užívat, je dávka 1600mg / den, a to z důvodu množství užívaných tablet na den (t.č. jsou komerčně dostupné tablety à 200 mg). Při této dávce se také již objevila zvýšená toxicita radioterapeutické léčby, proto v dalším testování byla dávka snížena. V našem souboru pacientů jsme zjistili, že dávka 1200 mg / den ve dvou podáních je nejvyšší tolerovanou dávkou Celebrexu, při které není toxicita radioterapie vyšší či neúnosná.

Dalším cílem této malé klinické studie fáze I bylo zhodnocení exprese COX2 v nádorové tkáni. Vzhledem k tomu, že toto nebylo primárním cílem studie, nezatěžovali jsme

pacienty novým odběrem biopsie a použili jsme k testování původní diagnostické vzorky. Souhlas k testování udělilo všech 32 pacientů.

K hodnocení byla použita semikvantitativní imunohistochemická metodika, nedovolující podrobnou analýzu. Přesnější metodiky jako např. FISH - fluorescentní *in situ* hybridizace v tomto malém souboru využity nebyly, jednak pro finanční a technickou náročnost a jednak proto, že se jednalo o vstupní soubor pacientů. Nicméně použití komerčně dostupných testů dostatečně posloužilo ke “skríninkovým” účelům této studie ve smyslu identifikace vysoké a nízké exprese COX2 v nádorových buňkách. U poloviny souboru vzorků buňky exprimující COX2 tvořily dominantní populaci nádorových buněk (nad 50%). Tato data odpovídají zjištěním a prezentovaným výsledkům v odborné literatuře a to jak u nádorů HaN [29, 30], tak i ostatních solidních nádorů [73, 78, 79].

Řada studií zkoumajících expresi COX2 v nádorech prokázala nadměrnou expresi VEGF v nádorových buňkách [34, 66, 67, 80] a také závislost produkce VEGF na COX2 [81]. V této studii nás zajímalo, zda existuje měřitelný korelát vaskulogenezy u nádorů HaN, zda je jakkoliv závislý na expresi COX2 v nádorové tkáni a případně, zda se mění v závislosti na léčbě. Carbone a kolektiv [80] prezentovali předběžná data na téma pohybu hladin VEGF u léčby nemalobuněčných karcinomů plic, kde prokázali pokles sérové hladiny VEGF po kombinované terapii (chemoterapie, radioterapie, celekoxib). Jednalo se nicméně o předběžné výsledky a nejsme si vědomi, že by kdy byly publikovány kompletní závěrečné výsledky této studie.

V našem souboru jsme hodnotili vývoj hladin sérové VEGF v průběhu léčby a při kontrole 6 týdnů po ukončení kombinované léčby (radioterapie, celekoxib). K odběru hladin VEGF udělili souhlas všichni pacienti. V průběhu radioterapie k signifikantnímu poklesu hladin VEGF nedošlo. Signifikantní pokles VEGF se projevil až s odstupem 6 týdnů ve srovnání se vstupními hladinami.

Zhu a kolektiv prezentovali práci ohledně léčby nemalobuněčných plicních karcinomů. Zjistili, že při kombinované terapii s celekoxibem k poklesu produkce VEGF došlo u nádorů s vysokými hladinami COX2, zatímco u nádorů neexprimujících COX2 k poklesu produkce VEGF nedošlo [81].

I v našem souboru jsme provedli tuto analýzu. Soubor pacientů jsme rozdělili na skupinu s vysokou expresí COX2 v nádorové tkáni (nad 50%) a s nízkou expresí (pod 50%). Hodnotili jsme u těchto 2 skupin pacientů vývoj hladin VEGF. Analýza prokázala, že pokles VEGF u pacientů v poléčebném sledování, prokázaný v celé studijní populaci, je omezen pouze na

pacienty s nadpoloviční populací nádorových buněk exprimujících COX2 v nádorové tkáni. U pacientů s tumory s nízkou expresí COX2 k poklesu sérové VEGF nedošlo.

Toto klinické zjištění nedokazuje lepší účinnost kombinované terapie a nedovoluje činit žádné závěry. Signifikantní pokles VEGF u pacient s COX2 exprimujícími tumory naznačuje možnou klinickou interakci nitrobuněčných drah a nastiňuje případnou cestu k dalšímu zkoumání.

5 Závěr

Léčba nádorů HaN prochází v posledních desetiletích změnami jak v oblasti technologií při ozařování, operačních technik, tak i v oblasti onkologické systémové terapie a potenciace radioterapie. Množství vědeckých týmů celosvětově zkoumá na laboratorní i klinické úrovni metodiky, jak zlepšit výsledky onkologické léčby nádorů HaN, a tak i přežití pacientů.

Tato malá klinická studie si stavěla za cíl stanovení dávky celekoxibu vhodné pro další klinické testování – phase II dose. Tato byla stanovena na 1200 mg / den (rozdělena do 2 dávek).

Dále výsledky doplňujících testování ukázaly, že u tumorů s nadpoloviční populací buněk exprimující COX2 dochází ke statisticky významnému poklesu VEGF v poléčebném sledování.

Tato klinická studie nebyla koncipována k vysvětlení mechanismů interakce radioterapie a COX2 či COX2 a VEGF.

V této práci dále popisně prezentuji klinické výsledky této kombinované léčby.

Zjištěné parametry mohou být nápomocny k přípravě studie fáze II zahrnující větší počet pacientů a několik dalších proměnných jako rozdělení dle lokalizací nádorů, vstupních charakteristik pacientů či načasování podání celekoxibu v průběhu léčby.

Tato práce byla dílem celého kolektivu osob, jejichž zásluhy vyjmenovávám zde:

Iniciální myšlenka této studie – MUDr. David Feltl, Ph.D., MBA¹

Design studie - MUDr. David Feltl, Ph.D., MBA, MUDr. Magdalena Halámka¹

Zajištění organizace úkolů a finanční zajištění - MUDr. David Feltl, Ph.D., MBA, MUDr. Magdalena Halámka

Náběr pacientů a zařazování do kohort - MUDr. Magdalena Halámka

Radioterapie - MUDr., Ing. Jakub Cvek¹, Ph.D., MUDr. Magdalena Halámka

Distribuce léčiva – MUDr. Magdalena Halámka

Zpracování bioptických vzorků – doc. MUDr. Jaroslav Horáček², CSc., Mgr. Jana Vaculová²

Zpracování sérových vzorků – MUDr. Eva Zavadová, Ph.D.³, MUDr. Magdalena Halámka

Sledování pacientů – MUDr. Magdalena Halámka, MUDr., Ing. Jakub Cvek, Ph.D., doc. MUDr. Pavel Komínek, Ph.D., MBA⁴

Statistické zpracování výsledků – doc. RNDr. Ladislav Dušek, Dr.⁵

Prezentace a publikace výsledků: MUDr. Magdalena Halámka, MUDr. David Feltl, Ph.D., MBA, MUDr., Ing. Jakub Cvek, Ph.D.

1 – Klinika onkologická, Fakultní nemocnice Ostrava

2 – Ústav patologie, Fakultní nemocnice Ostrava

3 – Ústav imunologie a mikrobiologie, 1 lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

4 – Otorinolaryngologická klinika, Fakultní nemocnice Ostrava

5 – Institut biostatistiky a analýz, Masarykova Univerzita Brno

6 Literatura:

1. KUMAR, V. – LINGEN, M. W., Head and Neck. *Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, 8. vyd. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2010. Kapitola 16, s. 740-753. ISBN 9781416031215
2. PARKIN, D.M., BRAY, F., FERLAY, J., PISANI, P., Global Cancer Statistics, 2002. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, March 2005, vol. 55, s. 74-108
3. JEMAL, A., SIEGEL, R., WARD, E., HAO, Y., XU, J., MURRAY, T., THUN, M.J., Cancer Statistics, 2008. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, March 2008, vol. 58, s. 71-96
4. HADDAH, R.I., SHIN, D.M., Recent advances in head and neck cancer. *New England Journal of Medicine*, September 2008, vol. 359, s. 1143-1154
5. CHATURVEDI A.K., ET AL., Incidence trends for human papillomavirus – related and – unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. *Journal of Clinical Oncology*, February 2008, vol. 26, no. 4, s. 612-619
6. BOYLE, J.O., ET AL., The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Research*, 1993, vol. 53, no. 19, s. 4477-4480
7. ROSIN, M.P., ET AL., Use of allelic loss to predict malignant risk for low-grade oral epithelial dysplasia. *Clinical Cancer Research*, February 2000, vol. 53, no. 2, s. 357-362
8. ÚSTAV ZDRAVOTNICKÝCH INFORMACÍ A STATISTIKY ČR, *Novotvary 2005, 2006, 2007/Cancer Incidence 2005, 2006, 2007 in the Czech Republic*, Praha: ÚZIS, 2005,2006,2007, ISBN: 978-80-7280-723-9, ISBN: 978-80-7280-796-3, ISBN: 978-80-7280-796-3, <http://www.uzis.cz>
9. SOBIN L.H., WITTEKIND Ch., *TNM klasifikace*, 6. vydání, Praha: Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, 2002, česká verze 2004, ISBN 80-7280-391-3
10. ŠLAMPA, P., PETERA, J. – VOŠMIK, M., ŠLAMPA, P., KUBEŠ, J., PÁLA, M., DOLEŽEL, M., RŮŽIČKOVÁ, J., KORDAČ, P. Zhoubné nádory hlavy a krku. *Radiační onkologie*, 1. vyd., Praha: Galén Karolinum, 2007. Kapitola 3, s. 67-104
11. ARAKI, Y., OKAMURA, S., HUSSAIN, S.P., NAGASIMA, M., HE, P., SHISEKI, M., MIURA, K., HARRIS, C.C. Regulation of cyclooxygenase-2 expression by the Wnt and Ras pathways. *Cancer Research*, February 2003, vol. 63, no. 3, s. 728-734
12. CHAN, G., BOYLE, J.O., YAN, E.K. ET AL. Cyclooxygenase-2 Expression Is Up-Regulated in Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Clinical Cancer Research*, March 1999, vol. 1, s. 991-994

13. VADLAMUDI, R., MANDAL, M., ADAM, L., ET AL. Regulation of cyclooxygenase-2 pathway by HER2 receptor. *Oncogene*. January 1999, vol. 18, no. 2, s. 305-314
14. THUN, M.J., HENLEY, S.J., PATRONO, C., Nonsteroidal anti-inflammatory drugs as anticancer agents: mechanistic, pharmacologic, and clinical issues. *Journal of the National Cancer Institute*, February 2002, vol. 94, no. 4, s. 252-266
15. HAWK, E.T., VINER, J.L., DANNENBERG, A., DUBOIS, R.N., COX2 in cancer – a player that's defining rules. *Journal of the National Cancer Institute*, April 2002, vol. 94, no. 8, s. 545-546
16. GRIDLEY, G., McLAUGHLIN, J.K., EKBOM, A., ET AL.. Incidence of cancer among patients with rheumatoid arthritis. *Journal of the National Cancer Institute*, February 1993, vol. 85, no. 4, s. 307-311
17. SUH, O., METTLIN, C., PETRELLI, N.J. Aspirin use, cancer, polyps of the large bowel. *Cancer*, August 1993, vol. 72, issue 4, s. 1171-1177
18. KOKI, A.T., LEATHY, K.M., MASFERRER, J.L. Potential utility of COX2 inhibitors in chemoprevention and chemotherapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, October 1999, vol. 8, no. 10, s. 1623-1638
19. GASPARINI, G., LONGO, R., SARMIENTO, R., MORABITO, A. Inhibitors of cyclooxygenase 2: a new class of anticancer agents?, *Lancet Oncology*, October 2003; vol. 4, no. 10, s. 605-615
20. STEINBACH, G., LYNCH, P.M., PHILLIPS, R.K., ET AL., The effect of celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, in familial adenomatous polyposis. *The New England Journal of Medicine*, June 2000, vol. 342, no. 26, s. 1946-1952
21. KONERDING, M.A., FAIT, E., GAUMANN, A., 3D microvascular architecture of pre-cancerous lesions and invasive carcinomas of the colon. *British Journal of Cancer*, May 2001, vol. 84, issue 10, s. 1354-1362
22. MARK, K.S., TRICKLER, W.J., MILLER, D.W., Tumor necrosis factor- α induces cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin synthase in brain microvessel endothelial cells. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, June 2001, vol. 297, no. 3, s. 1051-1058
23. JONES, M.K., SZABO, I.L., KAWANAKA, H, ET AL., Von Hippel Lindau tumor suppressor and HIF-1 α : New targets of NSAIDs inhibition of hypoxia-induced angiogenesis. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, February 2002, vol. 16, s. 264-266

24. SENO, H., OSHIMA, M., ISHIKAWA, T.O., ET AL., Cyclooxygenase 2 and prostaglandin E(2) receptor EP(2)-dependent angiogenesis in Apc(Delta716) mouse intestinal polyps. *Cancer Research*, January 2002, vol. 62, s. 506-511
25. WILLIAMS, C.S., TSUJI, M., REESE, J., ET AL., Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *The Journal of Clinical Investigation*, June 2000, vol. 105, issue 11, s. 1589-1594
26. YUAN, A., PAN-CHYR, Y., KWEN-TAY, L., ET AL., Tumoral cyclooxygenase-2 (COX2) overexpression correlates with vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and angiogenesis, and associated with short survival and early relapse in non-small cell lung cancer. *Sborník: Proceedings of the American Association for Cancer Research* 2003, 44, s. 928 (Abstract)
27. WON, J.H. Cyclooxygenase-2: A Potential Target in Human Cancer. *Cancer Treatment and Research*, June 2004, vol. 36, issue 3, s. 161-162
28. HALLER, D.G. COX2 Inhibitors in Oncology. *Seminars in Oncology*, August 2003, (Suppl. 12), vol. 30, no. 4, s. 2-8
29. CHANG, B.W., KIM, D.H., KOWALSKI, D.P., ET AL. Prognostic Significance of Cyclooxygenase-2 in Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, March 2004, vol. 10, s. 1678-1684
30. NIX, P., LIND, M., GREENMAN, J., ET AL. Expression of COX2 protein in radioresistant laryngeal cancer. *Annals of Oncology*, May 2004, vol. 15, issue 5, s. 797-801
31. TERACADO, N., SHINTANI, S., YANO, J., ET AL. Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with radioresistance in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*, April 2004, vol. 40, no. 4, s. 383-389
32. SMINIA, P., KUIPERS, G., GELDOLF, A., ET AL. COX2 inhibitors act as radiosensitiser in tumour treatment. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, October 2005, (Suppl. 2), vol. 59, s. 272-275
33. KOKI, A.T., LEATHY, K.M., MASFERRER, J.L.. Potential utility of COX2 inhibitors in chemoprevention and chemotherapy. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. October 1999, vol. 8, no. 10, s. 1623-1638
34. GALLO, O., FRANCHI, A., MAGNELLI, L., ET AL. Cyclooxygenase-2 Pathway Correlates with VEGF Expression in Head and Neck Cancer. Implication for Tumor Angiogenesis and Metastasis. *Neoplasia*, 2001; vol. 3, no. 1, pp. 53-61

35. TSUJI, M., KAWANO, S., TSUJI, S., ET AL. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell*, 1998; 93, pp. 705-716
36. MILAS, L. Cyclooxygenase-2 (COX2) enzyme inhibitors as potential enhancers of tumor radioresponse. *Seminars in Radiation Oncology*, October 2001, vol. 11, no.: 4, s. 290-299
37. LIN, D.T., SUBBARAMAIAH, K., SHAH, J.P., DANNENBERG, A.J., BOYLE, J.O. Cyclooxygenase-2: a novel molecular target for the prevention and treatment of head and neck cancer. *Head and Neck*, August 2002, vol. 24, issue 8, s. 792-799
38. GATELY, S. The contributions of cyclooxygenase-2 to tumor angiogenesis. *Cancer and Metastasis Reviews*, 2000, vol. 19, no. 1-2, s. 19-27
39. ZWEIFEL, B., OMBERG, R., WOERNER, M., ET AL., Inhibition of prostaglandins by celecoxib results in suppression of tumor growth and reduces VEGF levels in human head and neck xenograft model. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, 2001, vol. 43, s. 77
40. LEATHY, M.L., ORNBERG, R.L., WANG, Y., ET AL. Cyclooxygenase-2 Inhibition by Celecoxib Reduces Proliferation and Induces Apoptosis in Angiogenic Endothelial Cells *in vitro*. *Cancer Research*, February 2002, vol. 62, no. 1, s. 625-631
41. MASFERRER, J. Approach to Angiogenesis Inhibition Based on Cyclooxygenase-2. *Cancer Journal*, November-December 2001, vol. 7, suppl. 3, s. 144-150
42. SAWAOKA, H., TSUJI, S., TSUJII, M., ET AL., Cyclooxygenase inhibitors suppress angiogenesis and reduce tumor growth *in vivo*. *Laboratory Investigation*, 1999, vol. 79, no 12, s. 1469-77
43. LIU, X.H., KIRSCHENBAUM, A., YAO, S., ET AL., Inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses angiogenesis and the growth of prostate cancer *in vivo*. *The Journal of Urology*, September 2000, vol. 164, issue 3, part 1, s. 820-825
44. MANSFERRER, J.L., LEATHY, K.M., KOKI, A.T., ET AL. Antiangiogenic and Antitumor Activities of Cyclooxygenase-2 Inhibitors. *Cancer Research*, March 2000, vol. 60, s. 1306-1311
45. WEI, D., WANG, L., HE, Y., ET AL. Celecoxib inhibits vascular endothelial growth factor expression in and reduces angiogenesis and metastasis of human pancreatic cancer via suppression of Sp1 transcription factor activity. *Cancer Research*, March 2004, vol. 64, no. 6, s. 2030-2038
46. MILAS, L., KISHI, K., HUNTER, N., ET AL. Enhancement of Tumor Response to Gamma-Radiation by an Inhibitor of Cyclooxygenase-2 Enzyme. *Journal of the National Cancer Institute*, September 1999; vol. 91, no. 17, s. 1501-1504

47. KISHI, K., PETERSEN, S., PETERSEN, C., ET AL. Preferential Enhancement of Tumor Radioresponse by a Cyclooxygenase-2 Inhibitor. *Cancer Research*, March 2000, vol. 60, no. 5, s. 1326-1331
48. DORMOND, O., RÜEGG, C. Inhibition of tumor angiogenesis by non-steroidal anti-inflammatory drugs: emerging mechanisms and therapeutic perspectives. *Drug Resistance Updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy*, October 2001, vol. 4, no. 5, s. 314-321
49. DITTMANN, K.H., MAYER, K., OHNESEIT, P.A., ET AL. Celecoxib induces tumor cell radiosensitization by inhibiting radiation induced nuclear EGFR transport and DNA-repair: a COX2 independent mechanism. *International Journal of Radiation Oncology, Biology and Physics*, January 2008, vol. 70, issue 1, s. 203-212
50. WANG, Z., FUENTES, C.F., SHAPSHAY, S.M. Angiogenic and chemopreventive activities of celecoxib in oral carcinoma cell. *The Laryngoscope*, May 2002, vol. 122, no. 5, s. 839-843
51. PYO, H., CHOY, H., AMORINO, G.P., ET AL. A Selective Cyclooxygenase -2 Inhibitor, NS-398, Enhances the Effect of Radiation *in vitro* and *in vivo* Preferentially on the Cells That Express Cyclooxygenase-2. *Clinical Cancer Research*, October 2001, vol. 7, s. 2998-3005
52. PETERSEN C, PETERSEN S, MILAS L, ET AL. Enhancement of intrinsic tumor cell radiosensitivity induced by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor. *Clinical Cancer Research*, June 2000, vol. 6, s. 2531-20
53. Good Clinical Practice, *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, dostupné z: www.ich.org, poslední verze 2011 [cit. 2011-06-15]
54. Declaration of Helsinki, *World Medical Association*, dostupné z: www.wma.net, poslední verze 2011 [cit. 2011-06-15]
55. KUMMAR, S., GUTIERREZ, M., JAMES, H., ET AL., Drug development in oncology: classical cytotoxics and molecularly targeted agents, *British Journal of Clinical Pharmacology*, July 2006, vol. 62, no. 1, s. 15-26
56. DENT, S.F., EISENHAUER, E.A., Phase I trial design: Are new methodologies being put in practice?, *Annals of Oncology*, August 1996, vol. 7, no. 6, s. 561-566
57. KERR, D.J., Phase I clinical trials: Adapting methodology to face new challenges, *Annals of Oncology*, 1994, vol. 5, suppl. 4., s. 67-70

58. Common Toxicity Criteria, *National Cancer Institute*, dostupné z:
http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm, poslední verze 15.12.2010 [cit. 2011-06-15]
59. HARDROCK, Head and neck cancer: Assesment of risk factors, stage distribution, radiotherapy optimalization, causes of relapse - keypoints, dostupné z:
<http://hardrock.registry.cz>, [cit. 2011-06-15]
60. Radiation Therapy Oncology Group, *Cooperative Group Common Toxicity Criteria*, dostupné z:
<http://www.rtog.org/ResearchAssociates/AdverseEventReporting/AcuteRadiationMorbidityScoringCriteria.aspx>, poslední verze 2011 [cit. 2011-06-15]
61. National Cancer Institute, Cancer Therapy Evaluation Program, *Protocol Templates and Guidelines* [online], poslední revize 18.5.2011 [cit. 2011-06-06]; Dostupné z:
<http://ctep.cancer.gov/guidelines/templates.html>
62. FUTURA, Y., HUNTER, N., BARKLEY, Y. Jr, et al., Increase in radioresponse of murine tumors by treatment with indomethacin. *Cancer Research*, June 1988, vol. 48, no.11, s. 3008-3013
63. MILAS, L., FUTURA, Y., HUNTER, N., ET AL., Dependence of indomethacin-induced potentiation of murine tumor radioresponse on tumor host immunocompetence. *Cancer Research*, August 1990, vol. 50, no. 15, s. 4473-4477
64. PETERSEN, C., PETERSEN, S., MILAS, L., ET AL., Human glioma cell radiosensitisation by a selective COX2 inhibitor. *Clinical Cancer Research*, 2000, vol. 6, s. 2513-20
65. WEPPELMANN, B., MONKEMEIER, D. The influence of prostaglandin antagonists on radiation therapy of carcinoma of cervix. *Gynecologic Oncology*, Februar 1984, vol. 17, no. 2, s. 196-199
66. DAVIS, T.W., O'NEAL, J.M., PAGLE, M.D., ET AL. Synergy between Celecoxib and Radiotherapy Results from Inhibition of Cyclooxygenase-2-Derived Prostaglandin E2, a Survival Factor for Tumor and Associated Vasculature. *Cancer Research*, January 2004, vol. 64, no. 1, s. 279-285
67. GORSKI, D.H., BECKETT, M.A., JASKOWIAK, N.T., ET AL. Blockade of the Vascular Endothelial Growth Factor Stress Response Increases the Antitumor Effects of Ionizing Radiation. *Cancer Research*, July 1999, vol. 59, no. 14, s. 3374–3378

68. KASAL, P., SVAČINA, Š. – HAAS, T. Statistika. In *Lékařská informatika*. Praha: Nakladatelství Univerzity Karlovy Karolinum, 1998. Kapitola 2, s. 136-215
69. Monoclonal Mouse Anti-Human COX2 (Cyclooxygenase-2). Brno: DAKO, 2007.
<http://www.dako.com/dist/download.pdf?objectid=109213003>
70. TERAOKA, N., SHINTANI, S., YANO, J., ET AL. Overexpression of cyclooxygenase-2 is associated with radioresistance in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncology*, April 2004, vol. 40, no. 4, s. 383-389
71. RAJU, U., ARIGA, H., DITTMANN, K., ET AL. Inhibition of DNA Repair as a Mechanism of Enhanced Radioresponse of Head and Neck Carcinoma Cells by a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor, Celecoxib. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, October 2005, vol. 63, no. 2, s. 520-528
72. AISLP, Informační systém humánních, homeopatických a veterinárních léčivých přípravků, www.aispl.cz/cs/, poslední verze 6.4.2011 [cit. 2011-06-15]
73. LAIO, Z., MILAS, L., KOMAKI, R., ET AL. Combination of COX2 Inhibitor With Radiotherapy or Radiochemotherapy in Treatment of Thoracic Cancer. *American Journal of Clinical Oncology*, August 2003, vol. 26, issue 4, suppl. 2, s. 85-91
74. GANSWINDT, U., BUDACH, V., JENDROSSEK, V., ET AL. Combination of celecoxib with percutaneous radiotherapy in patients with localised prostate cancer – a phase I study. *Radiation Oncology*, April 2006, s.1-9
75. JAVLE, M.M., CAO, S., DURRANI, F.A., ET AL. Celecoxib and Mucosal Protection: Translation from an Animal Model to a Phase I Clinical Trial of Celecoxib, Irinotecan and 5-Fluorouracil. *Clinical Cancer Research*, February 2007, vol. 13, no. 3, s. 965 – 971
76. DAWSON, S.J., MICHAEL, M., BIAGI, J., ET AL. A phase I/II trial of celecoxib with chemotherapy and radiotherapy in the treatment of patients with locally advanced oesophageal cancer [Abstract]. *Investigational New Drugs*, April 2007, vol. 25, no. 2
77. LIAO, Z., KOMAKI, R., MILAS, L., ET AL. A Phase I Clinical Trial of Thoracic Radiotherapy and Concurrent Celecoxib for Patients with Unfavorable Performance Status, Inoperable / Unresectable Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*, May 2005, vol. 11, no. 9, s. 3342-3348
78. RICH, T.A., SHEPARD, R. COX2 Inhibitors as Radiation Sensitisers for Upper GI Tract Cancer: Esophagus, Stomach, and Pancreas. *American Journal of Clinical Oncology*, August 2003, vol. 26, no. 4, suppl. 2, s. 110-113

79. XI, H., BALDUS, S.E., WARNECKE-EBERZ, U., ET AL. High Cyclooxygenase-2 Expression Following Neoadjuvant Radiochemotherapy Is Associated with Minor Histopathologic Response and Poor Prognosis in Esophageal Cancer. *Clinical Cancer Research*, December 2005, vol. 11, no. 23, s. 8341-8347
80. CARBONE, D., CHOY, H., DANG, T., ET AL. Serum/plasma VEGF level changes with cyclooxygenase-2 (COX2) inhibition in combined modality therapy in stage III non-small cell lung cancer (NSCLC): preliminary results of a phase II trial [Abstract]. *Proceedings of the Annual Meeting of the American Society for Clinical Oncology* 2002, abstract no. 1270
81. ZHU, Y.M., AZAHRI, N.S.M., YU, D.C., ET AL. Effects of COX2 inhibition on expression of vascular endothelial growth factor and interleukin-8 in lung cancer cells. *BioMed Central Cancer*, 2008, vol. 8, no. 218, s. 1-10.
82. FELTL, David, CVEK, Jakub. *Klinická radiobiologie*. 1. vyd. Havlíčkův Brod: Tobiáš, 2008. 57-66 s. ISBN 978-80-7311-103-8
83. PARSONS, J.T., MENDENHALL, W.M., CASSISI, N.J., ET AL., Hyperfractionation for head and neck cancer. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, April 1988, vol. 14, no. 2, s. 649-658
84. BOURHIS, J., OVERGAARD, J., AUDRY, H., ET AL., Hyperfractionated or accelerated radiotherapy in head and neck cancer: a meta-analysis, *The Lancet*, September 2006, vol. 368, issue 9538, s. 843-859
85. MAO, L., ET AL.. Frequent microsatellite alterations at chromosomes 9p21 and 3p14 in oral premalignant lesions and their value in cancer risk assessment. *Nature Medicine*, June 1996, vol. 2, no. 6, s. 682-685
86. IZZO, J.G. ET AL.: Dysregulated cyclin D1 expression early in head and neck tumorigenesis: *in vivo* evidence for an association with subsequent gene amplification. *Oncogene*, November 1998, vol. 17, no. 18, s. 2313-2322
87. KOREN, R., KRISTT, D., ET AL.: The spectrum of laryngeal neoplasia: the pathologist's review. *Pathology, Research and Practice*, 2002, vol. 198, no. 11, s. 709-715
88. KARNOFSKY, D.A., BURCHENAL, J.H.. The Clinical Evaluation of Chemotherapeutic Agents In Cancer. s. 196. In: MacLEOD, C.M. (Ed.). *Evaluation of Chemotherapeutic Agents*. *Columbia Univ. Press*, 1949, s. 191-205
89. OKEN, M.M., CREECH, R.H., TORMEY, D.C., HORTON, J., DAVIS, T.E., MCFADDEN, E.T., CARBONE, P.P.: Toxicity And Response Criteria Of The Eastern

- Cooperative Oncology Group. *American Journal of Clinical Oncology*, December 1982, vol. 5, issue 6, s. 649-655
90. KLENER, P. – KLENER. P. Klasifikace nádorových onemocnění a staging. In *Klinická onkologie*. Praha: Galén, 2002. Kapitola 7.4, s. 106
 91. MURRAY, K.R. – MAYES P.A. Metabolismus nenasycených mastných kyselin a eikosanoidů. In *Harperova biochemie*. H&H, 1998. Kapitola 25, s. 243-251
 92. NIEDER, C. – MILAS L. Role of Cyclooxygenase-2 (COX2) and Its Inhibition in Tumor Biology and Radiotherapy. In *Modification of Radiation Response: Cytokines, Growth Factors and Other Biological Targets*. Heidelberg: Springer Verlag Berlin, 2003. Kapitola 18, s. 241- 258
 93. FOSSLIEN, E. Biochemistry of cyclooxygenase (COX)-2 inhibitors and molecular pathology of COX2 in neoplasia. *Critical Reviews In Clinical Laboratory Sciences*. October 2000, vol. 37, no. 5, s. 431-502
 94. GREEN, S., CROWLEY, J., BENEDETTI, J., SMITH, A., *Clinical Trials in Oncology*. 2. edition, Chapman and Hall/CRC, 2002. 280s. ISBN 1584883022
 95. KLENER, P. – KLENER. P. Chemoterapie. In *Klinická onkologie*. Praha: Galén, 2002. Kapitola 11, s. 149-153
 96. KREIMER, A.R., CLIFFORD, M.G., BOYLE, P., FRANCESCHI, S.: Human Papillomavirus Types in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas Worldwide: A Systematic Review. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, February 2005, vol. 14, s. 467-475
 97. TERMINE, N., PANZARELLA, V., FALASCHINI, S., ET AL.: HPV in oral squamous cell carcinoma vs head and neck squamous cell carcinoma biopsies: a meta-analysis (1988-2007). *Annals of Oncology*. October 2008, vol. 19, no. 10, s. 1681-1690
 98. BONNER, J.A., HARARI, P.M., GIRALT, J., ET AL.: Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *New England Journal of Medicine*. February 2006, vol. 354, s. 567-578
 99. HARRINGTON, K.J., EL-HARIRY, I.A., HOLFORD, C.S., ET AL., Phase I study of lapatinib in combination with chemoradiation in patients with locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Journal of clinical oncology*. March 2009, vol. 27, no. 7, s. 1100-1107
 100. HANAHAN, D., WEINBERG, R.A.. The hallmarks of cancer. *Cell*. January 2000, vol. 100, s. 57–70

101. WORLD HEALTH ORGANIZATION ON BEHALF OF THE SPECIAL PROGRAMME FOR RESEARCH AND TRAINING IN TROPICAL DISEASES, *Handbook: good laboratory practice (GLP): quality practices for regulated non-clinical research and development*. Paris, 2009, 2nd Edition, ISBN: 978 92 4 154755 0, <http://apps.who.int/tdr/publications/training-guideline-publications/good-laboratory-practice-handbook/pdf/glp-handbook.pdf>
102. LICITRA, L., FELIP, E. Squamous cell carcinoma of the head and neck: ESMO Clinical Recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 20, 2009, vol. 20, suppl. 4, s. 121-122
103. PETERSEN, C., BAUMANN, M., PETERSEN, S. New Targets for the Modulation of Radiation Response – Selective Inhibition of the Enzyme Cyclooxygenase 2. *Current Medicinal Chemistry – Anti-Cancer Agents*. 2003, vol. 3, no. 5, s. 354-359
104. ÚSTAV ZDRAVOTNICKÝCH INFORMACÍ A STATISTIKY ČR, *Mezinárodní statistická klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů – Desátá revize*, Praha: ÚZIS, 2010, ISBN: 978-80-904259-1-0
105. NIEDER, C., MILAS, L., ANG, K.K. – MILAS, L., MASON, K., LIAO, Z., RAJU, U., MILAS, M., HUSAIN, A., ANG, K. Role of Cyclooxygenase-2 (COX—2) and Its Inhibition in Tumor Biology and Radiotherapy. *Modification of Radiation Response*, Springer Verlag Berlin Heidelberg New York 2003. Kapitola 18, s. 241-258
106. THERASSE, P., ARBUCK, S.G., EISENHAUER E.A., ET AL.: New Guidelines to Evaluate Response to Treatment in Solid Tumors. *Journal of the National Cancer Institute*, Feb 2000, vol. 92, no. 3, s. 205-216
107. DANIEL, T.O., LIU, H., MORROW J.D., ETA L.: Thromoxane A2 is a mediator of cacroxygenase-2-dependent endothelial migration and angiogenesis. *Cancer Research*, 1999, vol. 59, s. 4574-4577
108. DORMOND, O., FOLETII, A., PAROZ, C., RUEGG, C.: NSAIDs inhibit alpha V beta 3 integrin-mediated and Cdc42/Rac-dependent endothelial-cell spreading, migration and angiogenesis. *Nature Medicine*, 2001, vol. 7, s. 1041-1047
109. DUBOIS, R.N., ABRAMSON S.B., CROFFORD, L., et al.: Cyclooxygenase in biology and disease. *The FASEB Journal*, 1998, vol. 98, s. 1063-1073
110. HARRIS, R.C., McKENNA, J.A., JACOBSON, H.R., et al.: Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction. *The Journal of Clinical Investigation*, 1994, vol. 94, s. 2504-2510

111. KAUFMANN, W.E., WORLEY, P.F., PEGG, J., et al.: COX-2, a synaptically induced enzyme, is expressed by excitatory neurons at postsynaptic sites in rat cerebral cortex. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 1996, vol. 93, s. 2317-2321
112. KLENER, P. – KLENER. P. Angiogenní léčba a devaskularizace (devitalizace). In *Klinická onkologie*. Praha: Galén, 2002. Kapitola 7.4, s. 239-240

Příloha č. 1: TNM klasifikace – 6. vydání, r. 2002

	Dutina ústní	Oropharynx	Hypopharynx
T1	≤ 2 cm	≤ 2 cm	nádor je omezen na jednu sublokalizaci hypofaryngu a má 2 cm nebo méně v největším rozměru
T2	> 2 cm a ≤ 4 cm	> 2 cm a ≤ 4 cm	nádor postihuje více než jednu sublokalizaci hypofaryngu či okolní struktury nebo měří více než 2 cm, ne však více než 4 cm v největším rozměru, bez fixace hemilaryngu
T3	> 4 cm	> 4 cm	nádor více než 4 cm v největším rozměru, nebo s fixací hemilaryngu
T4a	nádor prorůstá do kortikalis kostí, hlubokých/extraglossálních svalů jazyka, dutiny čelistní, kůže	nádor postihuje některou ze struktur: hrtan, hluboké/extraglossální svaly jazyka, m. pterygoideus medialis, tvrdé patro a dolní čelist	nádor postihuje některou z následujících struktur: chrupavku štítnou/prstencovou, jazyku, štítnou žlázu, jícen, centrální část měkkých tkání prelaryngeálních páskových svalů a podkožního tuku
T4b	nádor postihuje fossa infratemporalis, ploténky výběžku křídlovitého, baze lebni, a. carotis int.	nádor postihuje některou ze struktur: m. pterygoideus lateralis, ploténky výběžku klínovitého, laterální část nazofaryngu, bazi lebni; nebo obrůstá a. karotis	nádor postihuje prevertebrální fascii, obrůstá a. carotis nebo postihuje struktury mediastina

N1	jedna stejnostranná ≤ 3 cm
N2a	jedna stejnostranná > 3 cm a ≤ 6 cm
N2b	vícečetné stejnostranné ≤ 6 cm
N2c	oboustranné, druhostranné ≤ 6 cm
N3	> 6 cm

	Larynx – supraglottis	Larynx – glottis	Larynx – subglottis
T1	nádor je omezen na jednu sublokalizaci supraglottis s normální pohyblivostí hlasivek	nádor omezen na glottis	nádor je omezen na subglottis
T1a		nádor je omezen na jednu hlasivku	
T1b		nádor postihuje obě hlasivky	
T2	nádor postihuje sliznici více než jedné přilehlé sublokalizace, bez fixace laryngu	nádor se šíří na supraglottis a/nebo subglottis a/nebo je narušena pohyblivost hlasivek	nádor se šíří na jednu nebo obě hlasivky s normální nebo narušenou pohyblivostí
T3	nádor je omezen na larynx, s fixací hlasivky a/nebo postihuje postkrikoidní oblast, preepiglotickou tkáň, paraglottický prostor a/nebo s menší erozí/narušením chrupavky štítné	nádor je omezen na larynx s fixací hlasivek a/nebo postihuje paraglottický prostor a/nebo s menší erozí/narušením chrupavky štítné	nádor omezen na larynx s fixací hlasivek
T4a	nádor prorůstá chrupavkou štítnou nebo postihuje tkáň mimo larynx	nádor prorůstá chrupavkou štítnou nebo postihuje tkáň mimo larynx, např. tracheu, měkké tkáň krku včetně páskových svalů, štítnice, jícnu	nádor prorůstá chrupavkou prstencovou nebo štítnou a/nebo postihuje tkáň mimo larynx, např. tracheu, měkké tkáň krku včetně, hlubokých/extraglossálních svalů jazyka, páskových svalů, štítnice, jícnu
T4b	nádor postihuje prevertebrální prostor, struktury mediastina nebo obrůstá a. karotis	nádor postihuje prevertebrální prostor, struktury mediastina nebo obrůstá a. carotis	nádor postihuje prevertebrální prostor, struktury mediastina nebo obrůstá a. karotis

N1	jedna stejnostranná ≤ 3 cm
N2a	jedna stejnostranná > 3 cm a ≤ 6 cm
N2b	vícečetné stejnostranné ≤ 6 cm
N2c	oboustranné, druhostranné ≤ 6 cm
N3	> 6 cm

Příloha č. 2: WHO / ECOG Performance Status

Grade (Stupeň)	WHO / ECOG	Karnofsky PS
0	Fully active, able to carry on all pre-disease performance without restriction. (Schopen normální tělesné aktivity bez omezení.)	90-100%
1	Restricted in physically strenuous activity but ambulatory and able to carry out work of a light or sedentary nature, e.g., light house work, office work. (Neschopen těžké fyzické námahy, ale může vykonávat lehčí práci.)	70-80%
2	Ambulatory and capable of all self care but unable to carry out any work activities. Up and about more than 50% of waking hours. (Soběstačný, ale neschopen práce. Tráví více než 50% denní doby mimo lůžko.)	50-60%
3	Capable of only limited self care, confined to bed or chair more than 50% of waking hours. (Omezeně soběstačný. Upoután na lůžko více než 50% denní doby.)	30-40%
4	Completely disabled. Cannot carry on any self care. Totally confined to bed or chair. (Odkázán na cizí péči. Trvale upoután na lůžko.)	20-30%
5	Dead. (Moribundní pacient.)	0-20%

WHO / ECOG performance status převzato z Oken, M.M., Creech, R.H., Tormey, D.C., Horton, J., Davis, T.E., McFadden, E.T., Carbone, P.P.: Toxicity And Response Criteria Of The Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol 5: 649-655, 1982 [89].

Český překlad a srovnání s Karnofsky Performance Scale Index převzaty z Klener P., Klinická onkologie, vyd. Galén, 2002 [90].

Příloha č. 3: RTOG Acute Radiation Morbidity Scoring Criteria (přehled stupňů akutní toxicity radioterapie)

V této práci uvádím kategorie týkající se léčby nádorů HaN.

Plná verze je dostupná na webových stránkách The Radiation Therapy Oncology Group, která je klinickou kooperativní skupinou v rámci National Cancer Institute.

<http://www.rtog.org/ResearchAssociates/AdverseEventReporting/AcuteRadiationMorbidityScoringCriteria.aspx>

Grade	0	1	2	3	4
SKIN	No change over baseline	Follicular, faint or dull erythema/ epilation/ dry desquamation/ decreased sweating	Tender or bright erythema, patchy moist desquamation/ moderate edema	Confluent, moist desquamation other than skin folds, pitting edema	Ulceration, hemorrhage, necrosis
MUCOUS MEMBRANE	No change over baseline	Injection/ may experience mild pain not requiring analgesic	Patchy mucositis which may produce an inflammatory serosanguinitis discharge/ may experience moderate pain requiring analgesia	Confluent fibrinous mucositis/ may include severe pain requiring narcotic	Ulceration, hemorrhage or necrosis
SALIVARY GLAND	No change over baseline	Mild mouth dryness/ slightly thickened saliva/ may have slightly altered taste such as metallic taste/ these changes not reflected in alteration in baseline feeding behavior, such as increased use of liquids with meals	Moderate to complete dryness/ thick, sticky saliva/ markedly altered taste	-----	Acute salivary gland necrosis

PHARYNX & ESOPHAGUS	No change over baseline	Mild dysphagia or odynophagia/ may require topical anesthetic or non-narcotic analgesics/ may require soft diet	Moderate dysphagia or odynophagia/ may require narcotic analgesics/ may require puree or liquid diet	Severe dysphagia or odynophagia with dehydration or weight loss(>15% from pre-treatment baseline) requiring N-G feeding tube, i.v. fluids or hyperalimentation	Complete obstruction, ulceration, perforation, fistula
LARYNX	No change over baseline	Mild or intermittent hoarseness/cough not requiring antitussive/ erythema of mucosa	Persistent hoarseness but able to vocalize/ referred ear pain, sore throat, patchy fibrinous exudate or mild arytenoid edema not requiring narcotic/ cough requiring antitussive	Whispered speech, throat pain or referred ear pain requiring narcotic/ confluent fibrinous exudate, marked arytenoid edema	Marked dyspnea, stridor or hemoptysis with tracheostomy or intubation necessary
HEMATOLOGIC WBC (X 1000)	≥ 4.0	3.0 - <4.0	2.0 - <3.0	1.0 - <2.0	<1.0
PLATELETS (X 1000)	≥ 100	75 - <100	50 - <75	25 - <50	<25 or spontaneous bleeding
NEUTROPHILS	≥ 1.9	1.5 - <1.9	1.0 - <1.5	0.5 - <1.0	<0.5 or sepsis
HEMOGLOBIN (GM %)	>11	11 – 9.5	<9.5 - 7.5	<7.5 - 5.0	-----
HEMATOCRIT (%)	≥ 32	28 - <32	<28	Packed cell transfusion required	-----
GUIDELINES: The acute morbidity criteria are used to score/grade toxicity from radiation therapy. The criteria are relevant from day 1, the commencement of therapy, through day 90. Thereafter, the EORTC/RTOG Criteria of Late Effects are to be utilized. * ANY TOXICITY WHICH CAUSED DEATH IS GRADED 5.					

Příloha č. 4: Informační leták pro pacienta

Informace pro pacienta

Pozvání:

Zveme Vás k účasti ve výzkumné studii. Než se rozhodnete, zda se studie chcete zúčastnit, je důležité, abyste porozuměl, proč se tento výzkum provádí a v čem spočívá. Věnujte prosím čas tomuto sdělení a pečlivě si následující informace přečtěte. Jestliže Vám něco nebude jasné nebo budete mít zájem o více informací, zeptejte se svého lékaře nebo sestry ve výzkumném týmu.

Co je cílem studie?

Studie bude zkoušet novou léčbu nádorů v oblasti hlavy a krku, a sice kombinaci ozařování a léku Celebrex. Bude se rovněž hledat optimální dávka Celebrexu.

Proč jsem byl vybrán do studie?

Máte zhoubný nádor v oblasti hlavy a krku, který je pokročilý a je nutno jej léčit ozařováním. Účinnost samotného ozařování však není dostatečná a proto se hledají cesty, jak tuto účinnost zvýšit. Jednou z možností je přidání léku Celebrex k ozařování.

Musím se studie zúčastnit?

Je jen na Vás, zda se studie zúčastníte. Jestliže se rozhodnete pro účast, dostanete tuto informaci pro pacienta pro svou potřebu a požádáme Vás o podepsání informovaného souhlasu. Přesto máte kdykoli možnost ze studie odstoupit, aniž byste musel své rozhodnutí jakkoli zdůvodňovat. Vaše rozhodnutí o odstoupení ze studie nijak neovlivní úroveň péče, kterou Vám poskytneme.

Co se bude dít, když se studie zúčastním?

Zahájíte ozařování úplně stejně, jako kdybyste se žádné studie neúčastnil. V den prvního ozaření Vám odebereme 10 mililitrů krve (asi dvě lžičky), totéž provedeme v polovině ozařování (po 3 týdnech) a na konci ozařování (po 6 týdnech). Od prvního dne ozařování budete polykat lék Celebrex v dávce, kterou Vám určíme. Jedná se o bílé podlouhlé kapsle, které se spolknou a zapijí trochou vody. Tyto kapsle budete užívat po celou dobu ozařování, ne však déle. Po skončení ozařování Vás budeme sledovat jako jakéhokoli jiného pacienta bez ohledu na studii.

Jaký lék se zkouší?

Celebrex je lék, který se používá k léčbě revmatických chorob nebo bolestivých stavů. Bylo ale prokázáno, že tento lék má u Vašeho onemocnění i protinádorové účinky a že tyto účinky jsou nejlepší, pokud se Celebrex kombinuje s ozařováním. Jelikož ale nevíme, jestli výsledky léčby budou skutečně lepší, musíme vyzkoušet, jak se Celebrex v kombinaci s ozařováním

snáší. Pokud se bude snášet dobře, budeme jej testovat v dalších studiích, které se Vás však již týkat nebudou.

Jaké jsou náhradní možnosti léčby?

Standardní léčbou je ozařování, případně v kombinaci s chemoterapií. Léčebné výsledky nejsou ale nijak zvlášť dobré, což je i důvod existence této naší studie.

Jaké jsou nežádoucí účinky léčby?

Nežádoucími účinky ozařování jsou: sucho v ústech, obtížné polykání, ztráta chuti, chrapot. Nežádoucími účinky Celebrexu jsou: bolest hlavy, bolest žaludku, poruchy funkce jater či ledvin, krvácivé projevy. Je možné, že nežádoucí účinky ozařování budou podáváním Celebrexu zesíleny.

Jaké jsou nevýhody a rizika spojená s účastí ve studii?

Léčba Vás nezatíží o mnoho více, než kdybychom Vás léčili mimo studii. Jedná se o 3 odběry krve navíc a o polykání kapslí Celebrexu. Mohou se samozřejmě vyskytnout i nepředpokládané vedlejší účinky léčby. Je také možné, že kombinace ozařování a Celebrexu bude méně účinná než samotné ozařování.

Jaký je možný přínos z účasti ve studii?

Je možné, že kombinace ozařování a Celebrexu bude účinnější než samotné ozařování. Informace získané v této studii nám pomohou při léčbě dalších pacientů s nádory hlavy a krku.

Co se stane, pokud se objeví nové informace?

Někdy se stává, že se v průběhu studie objeví nové informace o hodnoceném léku nebo jeho kombinaci s ozařováním. Pokud k tomu dojde, Váš lékař Vám tyto informace sdělí a probere s Vámi, zda byste měl pokračovat ve studii. Jestliže se rozhodnete ze studie odstoupit, lékař zařídí pokračování ve standardní léčbě.

Bude moje účast zachována v tajnosti?

Vaše jméno nebude mimo nemocnici uváděno. Vzorky krve budou analyzovány mimo nemocnici, ale budou číslovány a ani zde nebude nikde figurovat Vaše jméno.

S Vaším svolením oznámíme Vašemu praktickému lékaři Vaši účast ve studii, rovněž další zdravotníci, kteří se o Vás starají, budou s Vaším svolením informováni.

Co se stane s výsledky studie?

Výsledky této studie mohou být publikovány v odborném lékařském časopise. Váš zkoušející lékař Vám může dát kopii publikovaných výsledků. Výsledky této studie mohou vést k vývoji patentů. Za tyto důsledky výzkumu nemáte nárok na žádný finanční prospěch.

Kdo organizuje a financuje tento výzkum?

Tuto studii organizuje Radioterapeutická klinika Fakultní nemocnice v Ostravě. Je financována grantem Ministerstva zdravotnictví ČR a příspěvkem nadace Avenir.

Kontakt pro případ dalších informací:

Jestliže máte další otázky či obavy, můžete dostat informace od zkoušejícího lékaře MUDr..... nebo dalších členů řešitelského týmu na telefonním čísle

Děkujeme za Váš čas, který jste věnoval přečtení této informace. Jestliže souhlasíte se svou účastí v této studii, podepište prosím formulář informovaného souhlasu. Kopii této informace a informovaného souhlasu obdržíte pro svou potřebu.