

UNIVERZITA KARLOVA
Lékařská fakulta v Hradci Králové

**Extrakorporální eliminace plazmatického pegylovaného lipozomálního
doxorubicinu ke zvýšení benefitu cytostatické léčby karcinomu ovarií**

Ondřej Kubeček

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program: Klinická onkologie a radioterapie

Hradec Králové

2022

Disertační práce byla vypracována v rámci kombinovaného studia doktorského studijního programu Klinická onkologie a radioterapie na Klinice onkologie a radioterapie Lékařské fakulty v Hradci Králové.

Autor: **MUDr. Ondřej Kubeček**
Klinika onkologie a radioterapie, Lékařská fakulta v Hradci Králové
Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové

Školitel: **prof. MUDr. Stanislav Filip, Ph.D., DSc.**
Klinika onkologie a radioterapie, Lékařská fakulta v Hradci Králové
Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové

Školitel konzultant: **prof. MUDr. Jiřina Martínková, CSc.**
Ústav farmakologie, Lékařská fakulta v Hradci Králové
Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové

Oponenti: **doc. MUDr. Beatrice Mohelníková Duchoňová, Ph.D.**
Onkologická klinika, Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci
Křížkovského 511/8, 779 00 Olomouc

doc. MUDr. Regina Demlová, Ph.D.
Farmakologický ústav, Lékařská fakulta Masarykovy univerzity
Kamenice 753/5, 625 00 Brno

Obhajoba se bude konat před Komisí pro obhajoby OR Klinické onkologie a radioterapie
dne v od hod.
(bude doplněno po vyhlášení termínu, místa a času)

Tato práce vznikla za podpory grantů: IGA MZ ČR NT14035-3/2013
AZV MZ ČR 16-30366A

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty
v Hradci Králové, Univerzity Karlovy, Šimkova 870, 500 03 Hradec Králové
(tel. 495 816 134).

prof. MUDr. Jiří Petera, Ph.D.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu Klinická onkologie a radioterapie
Garant studijního programu

1 OBSAH

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1 | OBSAH | 3 |
| 2 | SOUHRN | 4 |
| 3 | SUMMARY | 5 |
| 4 | ÚVOD DO PROBLEMATIKY | 6 |
| 5 | CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE | 9 |
| 6 | MATERIÁL A METODIKA | 10 |
| 6.1 | Design studie | 10 |
| 6.2 | Pacientky | 10 |
| 6.3 | Podávání chemoterapie | 10 |
| 6.4 | Plazmafiltrace | 11 |
| 6.5 | Stanovení farmakokinetiky | 12 |
| 6.5.1 | Odběr vzorků, stanovení PLD a volného DOX | 12 |
| 6.5.2 | Farmakokinetická analýza | 12 |
| 6.6 | Hodnocení efektivity a toxicity léčby PLD | 13 |
| 6.7 | Statistické hodnocení | 13 |
| 7 | VÝSLEDKY | 14 |
| 7.1 | Charakteristika pacientek | 14 |
| 7.2 | Průběh léčby | 14 |
| 7.3 | Farmakokinetika PLD | 14 |
| 7.4 | Účinnost plazmafiltrace | 17 |
| 7.5 | Nežádoucí události související s plazmafiltrací | 17 |
| 7.6 | Efektivita protinádorové léčby | 17 |
| 7.7 | Toxicita související s terapií PLD | 19 |
| 8 | DISKUZE | 21 |
| 9 | ZÁVĚRY | 25 |
| 10 | POUŽITÁ LITERATURA | 26 |
| 11 | PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA | 31 |

2 SOUHRN

Úvod: Lipozomální cytostatika využívají enkapsulaci účinné látky do lipozomů s cílem modifikovat její farmakokinetický a toxikologický profil ke zvýšení benefitu léčby. Jedním z nejvýznamnějších zástupců těchto léčiv je pegylovaný lipozomální doxorubicin (PLD). Ve srovnání s mateřskou látkou (doxorubicin, DOX) má nižší kardiotoxicitu a hematotoxicitu, avšak vyšší incidenci mukokutánní toxicity. Specifické farmakokinetické vlastnosti PLD umožňují odstranění frakce podané dávky metodou extrakorporální eliminace v době, kdy již byla cytostatikem dostatečně saturována nádorová tkáň, a tímto způsobem snížit incidenci a závažnost zejména mukokutánní toxicity.

Cíl: Tato disertační práce měla za cíl hodnocení účinnosti a bezpečnosti plazmafiltrace (PF) jako metody extrakorporální eliminace PLD s cílem zvýšení benefitu cytostatické léčby. Dále byl hodnocen vliv PF na toxicitu léčby, farmakokinetika PLD, vliv laboratorních a klinických faktorů na farmakokinetiku PLD a vliv PF na účinnost protinádorové léčby.

Materiál a metody: Do studie bylo zařazeno celkem 16 pacientek s platina-rezistentním karcinomem ovaria léčených PLD v dávce 50 mg/m² v jednod hodinové i.v. infúzi každé 4 týdny, celkem 3–6 cyklů. PF byla zahájena za 44–46 hod po podání PLD. Odběry na stanovení plazmatického PLD a volného DOX byly provedeny za 3, 10, 20, 30, 44 (46), 47 (49), 56, 68, 92, 96 a 116 hod po dokončení infúze PLD. Plazmatické koncentrace PLD a volného DOX byly stanoveny metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí. Z koncentračních závislostí byly nekompartmentovými postupy odvozeny základní farmakokinetické charakteristiky PLD. Metodou nelineárního modelování vlivu kontrolovaných a náhodných faktorů byl získán populační kompartmentový farmakokinetický model pro PLD. Hodnocení účinnosti PF bylo založeno na srovnání frakce dávky PLD odstraněné pomocí PF s frakcí odstraněnou endogenními mechanismy do provedení PF. Byl analyzován vliv kovariát (pořadí cyklu, věk, tělesná konstituce, přítomnost maligního výpotku, absolutní počet leukocytů a monocytů před zahájením cyklu) na farmakokinetiku PLD. Toxicita související s terapií PLD byla hodnocena podle kritérií CTCAE v4.0. Léčebná odpověď byla hodnocena podle kritérií RECIST 1.1 a vývoje sérové koncentrace onkomarkeru CA 125.

Výsledky: Celkem bylo hodnoceno 53 cyklů s PF a čtyři cykly bez PF. Prostřednictvím PF bylo odstraněno 31 (±10) % podané dávky PLD. Endogenními mechanismy bylo do zahájení PF odstraněno 34 (±7) % podané dávky PLD. PF zvýšila clearance PLD na ~42násobek hodnoty přirozené clearance (CL_n). Volný DOX tvořil 10,4 (±4,6) % celkového DOX v plazmě a zařazení PF nemělo vliv na únik DOX z lipozomů. Přítomnost maligního výpotku byla spojena s vyšším distribučním objemem periferního kompartmentu v prvním a následujících cyklech a vyšším CL_n v prvním cyklu. Žádné další kovariáty neměly vliv na farmakokinetiku PLD. PF byla dobře tolerována, nežádoucí události související s PF byly zaznamenány ve 3 cyklech (6 %), technické komplikace ve 4 cyklech (7,5 %). Nežádoucí události byly ve všech případech lehkého stupně a odezněly spontánně nebo po minimální intervenci. Provedení PF vedlo k významnému snížení projevů mukokutánní toxicity – byl zaznamenán jeden případ kožní toxicity grade 3 a jeden případ mukositivity grade 1. Medián doby do progresu (PFS) byl 3,6 (1,5–8,1) měsíce, celkové přežití (OS) 7,5 (1,7–26,7) měsíce. V jednom případě (7 %) bylo dosaženo parciální remise, ve 27 % stabilizace onemocnění, u 67 % pacientek byla zjištěna progresse onemocnění.

Závěr: PF je bezpečnou a účinnou metodou extrakorporální eliminace PLD. Vede k významnému snížení projevů mukokutánní toxicity. Farmakokinetika PLD hodnocená v této studii se nelišila od literárních údajů. Ve srovnání s historickými daty byl dosažený PFS srovnatelný, OS a počet léčebných odpovědí byly nižší. S ohledem na odlišné studijní populace je však pro validní posouzení vlivu PF na účinnost protinádorové léčby nutné srovnání v rámci prospektivní randomizované studie.

3 SUMMARY

Extracorporeal elimination of circulating pegylated liposomal doxorubicin to enhance the benefit of cytostatic therapy in ovarian cancer

Background: Encapsulation of cytotoxic drugs into liposomes changes their pharmacokinetic and toxicologic properties in order to enhance the benefit of chemotherapy. Pegylated liposomal doxorubicin (PLD) is one of the most prominent drugs in this group. Despite its reduced cardio- and hematologic toxicity, it confers a higher risk of mucocutaneous toxicity in comparison to its parent drug (*i.e.* doxorubicin, DOX). The specific pharmacokinetic properties of PLD enable its partial elimination from plasma after reaching maximum concentration within the tumor tissue in order to reduce its toxicity.

Aim: This doctoral thesis evaluates the efficacy and safety of plasmapheresis (PF) as a method of extracorporeal PLD elimination, seeking to enhance its therapeutic benefit. The reduction of PLD-related toxicity thanks to the application of PF was determined. Further, PLD pharmacokinetics and the factors affecting it, as well as the effect of PF on the outcome of cancer therapy, were also analyzed.

Material and methods: Sixteen patients with platinum-resistant epithelial ovarian cancer were enrolled in the study. PLD was administered as a one-hour i.v. infusion of 50 mg/m² once every four weeks, up to 3–6 cycles. PF was initiated 44–46 h post-infusion. Blood samples were collected at 3, 10, 20, 30, 44 (46), 47 (49), 56, 68, 92, 96, and 116 h after PLD administration. The concentration of PLD and free DOX in plasma was determined through high-performance liquid chromatography with fluorescent detection. A non-linear modeling of mixed effects (controlled = fixed and random effects) was used to create a population pharmacokinetic model for PLD. The PLD fraction eliminated by endogenous mechanisms prior to PF was compared with the fraction removed by PF. The effect of covariates (cycle order, age, body composition, pleural effusion, and pre-cycle white blood cell and monocyte absolute count) on PLD pharmacokinetics was evaluated. PLD-related toxicity was determined using CTCAE v4.0. Treatment response was evaluated using RECIST 1.1 and serum CA 125 evolution.

Results: A total of 53 cycles with PF were evaluated, whereas that four cycles of PLD were administered without performing PF. PF removed 31% ($\pm 10\%$) of the administered PLD dose. Until the start of PF, endogenous clearance (CL_n) was responsible for the elimination of 34% ($\pm 7\%$) of the administered PLD dose. PF enhanced the PLD clearance up to ~ 42 -fold from CL_n baseline values. Free DOX accounted for 10.4% ($\pm 4.6\%$) of total DOX in plasma. No PF-associated DOX leakage from the liposomes was observed. The presence of malignant effusions was associated with increased peripheral volume of distribution in the first and subsequent cycles and with increased CL_n during the first cycle. Other evaluated covariates had no effect on PLD pharmacokinetics. PF was well-tolerated and PF-related adverse events (AEs) were observed in 3 cycles (6%) and technical complications were observed in 4 cycles (7.5%). All of the AEs were mild and resolved spontaneously or with minor intervention. PF was associated with a significant PLD-related toxicity reduction – only one case of grade 3 skin toxicity and one case of grade 1 mucositis were observed. The median progression-free survival (PFS) was 3.6 (1.5–8.1) months, the median overall survival (OS) was 7.5 (1.7–26.7) months. One patient (7%) achieved partial response, 27% patients achieved a stable disease, and 67% patients showed progressive disease.

Conclusion: PF can be considered as a safe and effective method for the extracorporeal removal of PLD, resulting in a lower incidence of mucocutaneous toxicity. The PLD pharmacokinetics observed in this study were consistent with previously published data. The median PFS observed in this study was comparable to historical data, while the median OS and treatment responses were lower. This may be possible to the difference between the study populations, which make a head-to-head survival comparison challenging. Therefore, prospective randomized trials are warranted to evaluate the effect of PF on antitumor therapy efficacy.

4 ÚVOD DO PROBLEMATIKY

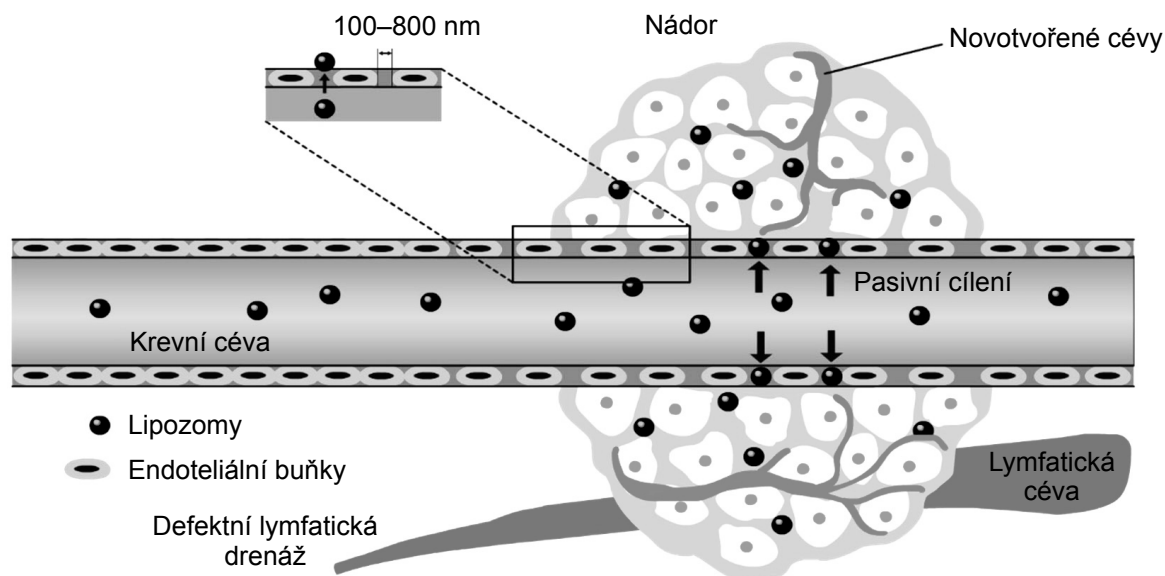
Přestože zavedení cílené léčby a imunoterapie do léčby nádorových onemocnění znamenalo významný úspěch a zlepšení prognózy onkologických pacientů, stále existuje množství nádorů, u kterých tyto léčebné modalitty doposud nedosahují uspokojivých výsledků [1]. Jednou z příčin omezené efektivity cílené léčby je právě její cílený účinek na konkrétní struktury nádorových buněk [2,3]. V případě solidních nádorů je nevýhodou variabilní exprese cílových molekul v heterogenním nádorovém mikroprostředí a riziko nárůstu subpopulace nádorových buněk k léčbě rezistentních [4]. Zmíněný mechanismus lze považovat za jeden z důvodů, proč cytostatická léčba v terapii zhoubných nádorů doposud neztratila své dominantní postavení a proč u některých nádorových onemocnění, jako je např. pokročilý adenokarcinom pankreatu, zůstává nejučinnější léčebnou alternativou [5].

V současné době jsou hledány způsoby, jak zvýšit benefit cytostatické léčby u onkologických pacientů. Jednou z možností je cílená distribuce cytostatika do nádoru pomocí nosičových systémů – *drug delivery systems (DDS)*. Jejich cílem je nejen zvýšení cytostatického účinku, ale také obejití zdravých tkání s následnou redukcí toxicity [6].

Za fyziologických okolností představuje intaktní endotel a bazální membrána cév bariéru pro průnik makromolekulárních látek do většiny zdravých tkání. Těsné spoje endoteliálních buněk (*tight junctions*) neumožňují průnik částic o průměru větším než 20 nm [7]. Lipozomy ani jiné makromolekulární DDS, které tento rozměr přesahují, tak nemohou do většiny zdravých tkání pronikat a ty jsou tímto chráněny před případnými projevy toxicity [2].

Vaskulatura nádorové tkáně se však od fyziologického cévního zásobení v mnohém odlišuje. Typické jsou pro ni fenestrace endotelu, zvýšená kapilární permeabilita [8] a defektní lymfatická drenáž (**Obr. 1**) [9,10]. Nádorové buňky produkují množství angiogenních faktorů, které se podílejí na zvýšení vaskulární permeability a novotvorbě cév – nádorové angiogenezi. To jim zajišťuje dostatečnou dodávku kyslíku a nutrientů nezbytných pro nádorový růst [11-13]. Právě zvýšená permeabilita a fenestrace epitelu novotvořených cév představují cestu pro průnik makromolekul do nádorového intersticia [2]. Makromolekulární látky, které proniknou do nádorového intersticia, jsou navíc defektní lymfatickou drenáží jen velmi omezeně odstraňovány a kumulují se zde [14]. Popsané mechanismy bývají souhrnně označovány jako efekt zvýšené permeability a retence – *enhanced permeability and retention effect (EPR)* a jsou příčinou zvýšené kumulace lipozomů a dalších makromolekulárních DDS v nádorové tkáni [14]. Za 24 hod po intravenózní (i.v.) aplikaci je v nádorové tkáni dosaženo 10–200krát vyšší koncentrace makromolekulárních léků než ve zdravých tkáních [3]. EPR je považován za pasivní proces (*passive targeting*) a je podkladem pro využití makromolekulárních DDS v terapii zhoubných nádorů [3,15].

Obr. 1. Schematické znázornění efektu zvýšené permeability a retence (EPR efektu)



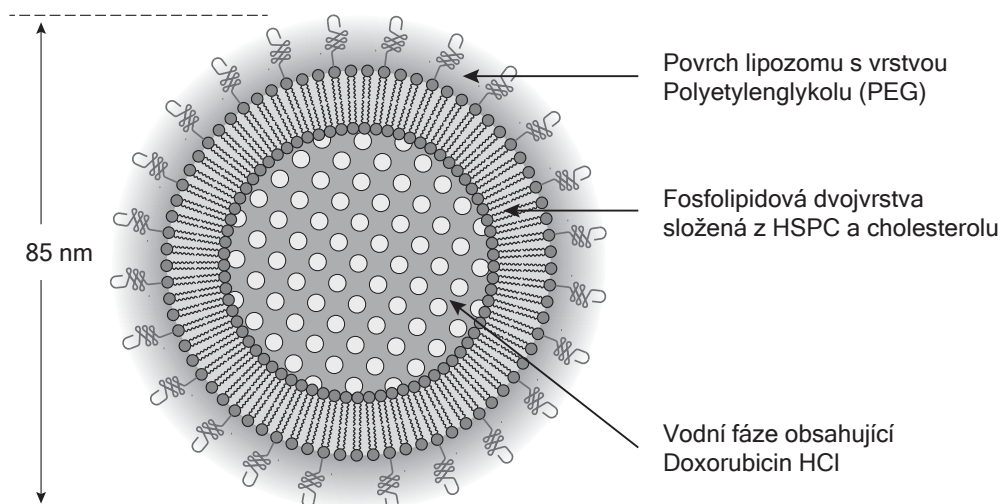
Schematické znázornění distribuce lipozomů do nádorové tkáně vlivem efektu zvýšené permeability a retence (EPR efektu), označovaného také jako pasivní cílení. Novotvořené cévy v nádorové tkáni nejsou plnohodnotné a mezi endoteliemi jsou póry (100–800 nm), které umožňují průnik lipozomů do nádorového intersticia (zvýšená permeabilita). Defektní lymfatická drenáž nacházející se v nádorové tkáni není schopna tyto lipozomy efektivně odstranit a ty se zde kumulují (zvýšená retence), což poskytuje dostatek času pro uvolnění aktivních látek v nich obsažených.

Adaptováno z Day *et al.* (2020) [16].

Nejjednodušším DDS v klinické praxi jsou lipozomy [17]. Označují se tak kulovité vezikulární útvary, jejichž stěna je tvořena jednou nebo více lipidovými dvojvrstvami. Ty představují hydrofobní fázi a obklopují vlastní hydrofilní jádro [18]. Výhody lipozomů jako nosičů léčiv spočívají ve schopnosti transportovat hydrofilní i lipofilní léčiva, zvýšení rozpustnosti lipofilních léčiv (solubilizace), zvýšení stability léčiva, zprostředkování přímé interakce mezi léčivem a buňkou, pasivní či aktivní transport léčiva do cílené tkáně a snížení toxicity v důsledku nižší expozice zdravých tkání léčivu [17-19].

V onkologii jsou v současnosti využívány lipozomální nosiče mj. pro doxorubicin (DOX), a to ve formě nepeglyovaného lipozomálního doxorubicinu (NPLD) a peglyovaného lipozomálního doxorubicinu (PLD) [20]. Základem PLD je vodní suspenze jednodamelárních lipozomů o průměrné velikosti 80–90 nm, v nichž je enkapsulován DOX hydrochlorid v gelové fázi (**Obr. 2**) [21]. Na povrchu lipozomů jsou kovalentně vázány molekuly polyetylen glykolu (PEG), což vede ke snížení vychytávání lipozomů buňkami retikuloendoteliálního systému (RES) a v důsledku toho prodloužení biologického poločasu eliminace ($t_{1/2}$) [22]. Ve srovnání s nelipozomálním DOX (NLD) je pro peglyovanou lipozomální formu charakteristické prodloužení $t_{1/2}$, vzestup expozice cytostatiku (plocha pod křivkou plazmatické koncentrace v čase po podání – AUC_{PLD}) a nižší distribuční objem (V_d) [23].

Obr. 2. Schematické znázornění struktury pegylovaného lipozomálního doxorubicinu (PLD)



Fosfolipidová dvojrstva složená z hydrogenovaného sojového fosfatidylcholinu (HSPC) a cholesterolu odděluje vnitřní vodní kompartment od zevního media. Doxorubicin je enkapsulovaný ve vnitřním kompartmentu. Jeden lipozom obsahuje přibližně 10 000–15 000 molekul doxorubicinu v gelové fázi. Molekuly polyetylen glykolu (PEG) jsou navázány na povrch lipozomu a tvoří ochrannou hydrofobní vrstvu zajišťující jeho stabilitu. Adaptováno z Gabizon *et al.* (2001) [21].

Enkapsulace DOX do pegylovaných lipozomů však neovlivňuje jen jeho farmakokinetické vlastnosti, ale také toxikologický profil [24]. Ve srovnání s NLD je významně snížena kardiotoxicita, což je považováno za jeden z největších přínosů lipozomální formy [25]. Mechanismem je omezená distribuce PLD do myokardu [26]. Stejně tak incidence alopecie, myelosuprese, nauzey a zvracení je ve srovnání s NLD nižší [23].

Naopak výrazně vyšší je výskyt kožní a slizniční toxicity [27]. Kožní toxicita se nejčastěji vyskytuje ve formě palmo-plantární erytrodysestézie (PPE neboli *hand-foot syndrom*), jejíž incidence se při dávkování 50 mg/m² každé čtyři týdny pohybuje okolo 50 % a těžší formy (stupeň 3–4) postihují až 20 % pacientů [28,29]. Nejčastějším projevem slizničního postižení je stomatitida [27]. Projevy mukokutánní toxicity snižují kvalitu života pacientů, mohou vést k odložení chemoterapie, redukci dávky a v těžších případech i ukončení léčby PLD [23]. Jsou proto hledány způsoby, jakými výskyt těchto projevů snížit. Kromě režimových opatření a podávání léků s protektivním účinkem (pyridoxin a kortikosteroidy) [30] se jako možnost nabízí využití specifických farmakokinetických vlastností PLD [31].

Jak již bylo vysvětleno, vlivem zvýšené permeability nádorových cév a defektní lymfatické drenáže dochází ke kumulaci PLD v nádorové tkáni [2]. Frakce PLD, která je zde deponována, však tvoří jen velmi malý podíl podané dávky (přibližně 0,7 %) [32]. Většina podaného PLD slouží pouze k vytvoření koncentračního gradientu nezbytného pro difúzi lipozomů do nádorové tkáně [33]. Podstatné je zjištění, že distribuce PLD do nádorové tkáně je rychlejší než distribuce do zdravých tkání ohrožených toxicitou. Zatímco maximální

koncentrace PLD v nádorové tkáni ($C_{\max(T)}$) bylo na zvířecích modelech dosaženo za 24 hod od podání, v kůži byla byla maximální koncentrace naměřena až po 72 hod [34]. Po dosažení $C_{\max(T)}$ se v cirkulaci nachází ještě ~70 % podané dávky PLD. Vzhledem k tomu, že nádorová tkáň je v tomto okamžiku již plně saturována, plazmatická frakce PLD pravděpodobně dále nepřispívá k protinádorovému účinku a je naopak dostupná pro distribuci do zdravých tkání, kde se může podílet na rozvoji toxicity [31]. Smyslem extrakorporální eliminace je odstranění dostatečně velké frakce PLD nacházející se v krevním řečišti, aby byla omezena jeho distribuce do zdravých tkání, a to v čase, kdy již bylo dosaženo $C_{\max(T)}$ [31]. Vhodnou metodou pro odstranění frakce PLD z těla pacienta je modifikace membránové diferenční filtrace plazmy založená na speciálním sekundárním plazmatickém filtru s relativně malými otvory – plazma-filtrace (PF) [35]. Tato technika je již řadu let využívána v klinické praxi mj. k odstranění lipoproteinů s nízkou hustotou (*low density lipoproteins*, LDL) u pacientů s familiární hypercholesterolemií [36]. Pro snížení projevů toxicity u pacientek s karcinomem prsu a gynekologickými tumory léčenými PLD ji jako první úspěšně použil tým Gerharda Pütze [33].

5 CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Primárním cílem této disertační práce je prověřit, zda je PF dostatečně účinnou a zároveň bezpečnou metodou k odstranění takové frakce podané dávky PLD z těla pacientky, která zvýší benefit léčby, tj. sníží incidenci a závažnost projevů zejména mukokutánní toxicity u pacientek s pokročilým/metastazujícím karcinomem ovaria léčených PLD.

Ke splnění cíle bude sloužit:

- Odhad individuální farmakokinetiky PLD a volného DOX před zahájením PF, v jejím průběhu a po jejím ukončení. Endogenní eliminace PLD bude porovnána s účinností PF – extrakorporálním odstraněním PLD.
- Monitorace nežádoucích událostí souvisejících s PF k vyhodnocení její bezpečnosti.
- Monitorace toxicity související s terapií PLD (zejm. mukokutánní) a její porovnání s literaturou k posouzení vlivu PF na snížení incidence a závažnosti toxicity PLD.

Sekundárním cílem je analýza vlivu kovariát (přítomnost maligního výpotku, pořadí podaného cyklu, tělesná konstituce, absolutní počet leukocytů a monocytů před zahájením cyklu) a demografických dat (věk) na osud PLD v těle pacientky. Současně bude porovnáním dosažených výsledků přežívání a léčebné odpovědi s historickými daty orientačně posouzena účinnost cytostatické léčby PLD při využití PF.

6 MATERIÁL A METODIKA

6.1 Design studie

Studie byla koncipována jako monocentrická, jednoramenná, otevřená prospektivní studie, která hodnotila efektivitu PF jako extrakorporální metody eliminace plazmatického PLD s cílem snížení toxicity léčby. Studie probíhala v období od února 2014 do února 2018 na Plazmaferetickém centru 4. interní hematologické kliniky, Klinice onkologie a radioterapie a Gynekologické a porodnické klinice Fakultní nemocnice Hradec Králové (FNHK). Analytická fáze probíhala na Oddělení klinické biochemie a diagnostiky FNHK. Design studie byl navržen v souladu s principy Helsinské deklarace a jeho návrh schválila etická komise FNHK a Státní ústav pro kontrolu léčiv (SÚKL) pod identifikačním znakem 24615/16-I.

6.2 Pacientky

Do studie mohly být zařazeny pacientky ve věku ≥ 18 let s inoperabilním a/nebo metastatickým karcinomem ovaria rezistentním k terapii platinovými deriváty (tzn. s progresí onemocnění ≤ 6 měsíců po dokončení chemoterapie založené na platinových derivátech nebo v jejím průběhu). Počet předchozích linií léčby nebyl omezen. Podmínkami byly histologicky verifikovaný epitelální karcinom ovaria a alespoň jedna měřitelná léze podle RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumours) 1.1 kritérií [37]. Dalšími vstupními kritérii byla dostatečná funkce kostní dřeně, vyhovující jaterní parametry a kardiální funkce. Pacientky musely být v dobrém výkonnostním stavu (Eastern Cooperative Oncology Group [ECOG] performance status [PS] ≤ 2) a mít předpokládané přežití alespoň 3 měsíce.

Vylučujícími kritérii byly předchozí léčba antracykliny s dosažením kumulativní dávky DOX 450 mg/m² (nebo jejího ekvivalentu), těhotenství, kojení, přítomnost duplicitního onkologického onemocnění, symptomatické metastatické postižení CNS a systémová infekce. V průběhu studie byly pacientky vyřazeny v případě progresse onemocnění, zhoršení výkonnostního stavu dle ECOG > 2 , neakceptovatelné toxicity, zhoršení kardiálních funkcí (pokles ejekční frakce levé komory [EFLK] na < 40 % nebo o > 10 % oproti vstupní hodnotě; prodloužení QTc intervalu na $> 0,500$ s nebo o $> 0,06$ s oproti vstupní hodnotě) nebo v případě stažení informovaného souhlasu ze strany pacientky.

6.3 Podávání chemoterapie

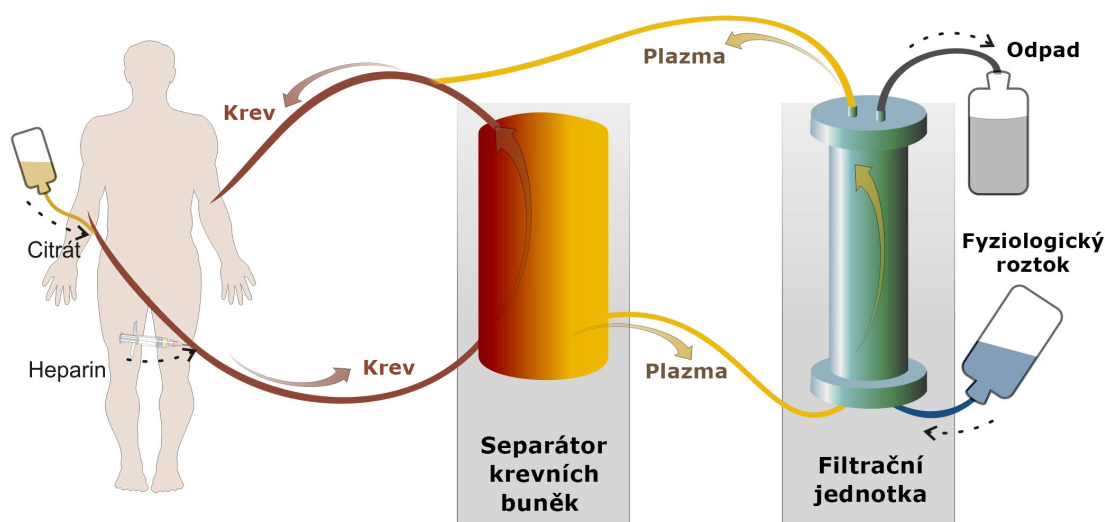
PLD (Caelyx[®], Janssen-Cilag International N.V., Beerse, Belgie) byl podáván v dávce 50 mg/m² jako jednodinová i.v. infúze každých 28 dnů, maximálně 6 cyklů. Pacientky, které z léčby profitovaly (bylo dosaženo kompletní remise [CR], parciální remise [PR] nebo stabilizace onemocnění [SD]) mohly v léčbě pokračovat mimo klinickou studii (bez provedení PF) do progresse onemocnění nebo neakceptovatelné toxicity. Povoleno bylo profylaktické užití

běžných antiemetik. Individuální úprava dávek PLD v důsledku toxicity léčby byla povolena a řídila se doporučeními uvedenými v Souhrnu údajů o léčivém přípravku (SPC) [38].

6.4 Plazmafiltrace

K odstranění plazmatického PLD byla použita extrakorporální eliminace metodou plazmafiltrace (PF) (Obr. 3) [39]. Plazma byla získána centrifugací kontinuálním separátorem Cobe Spectra nebo Spectra Optia (Terumo BCT, Lakewood, Colorado, USA). Ve druhém kroku byla takto získaná plazma proháněna druhým stupněm – filtrem Evaflux 5A (Kawasumi, Tokyo, Japonsko) s filtračními membránami tvořenými ethylen-vinyl-alkoholovými dutými vlákny s vnitřním průměrem 175 μm a póry o průměru 0,003 μm [40].

Obr. 3. Schématické znázornění plazmafiltrace (PF)



Na schématu je znázorněna modifikace metody kaskádové filtrace použitá v této studii (plazmafiltrace, PF). Krev byla odebrána z periferní žíly (centrální žilní vstup byl použit jen u pacientek s periferním žilním deficitem). Po separaci plazmy pomocí separátoru krevních buněk (Cobe Spectra nebo Optia, Lakewood, CO, USA) byla separovaná plazma proháněna druhým stupněm – filtrem (Evaflux 5A, Kawasuki, Tokyo, Japonsko). Následně byly krevní elementy i plazma vráceny zpět do oběhu pacientky [39].

Proces PF byl kontinuální a objem očištěné plazmy odpovídal jednomu intravaskulárnímu objemu, který byl vypočítán separátorem na základě hmotnosti, výšky a hematokritu pacientky. Jako antikoagulace byla použita kombinace ACD-A (Baxter, Mnichov, SRN) 1:15 a úvodního jednorázového i.v. podání nefrakcionovaného heparinu v dávce 4000 IU. Po průchodu filtrem byla očištěná plazma spolu s krevními buňkami vrácena zpět do oběhu pacientky druhým žilním vstupem. Proces PF byl zahájen 44–46 hod po dokončení infúze PLD. Doba výkonu byla 2–3 hod v závislosti na objemu očištěné krve a rychlosti průtoku krve dané zejména stavem odběrové periferní žíly.

6.5 Stanovení farmakokinetiky

6.5.1 Odběr vzorků, stanovení PLD a volného DOX

Vzorky o objemu 4 mL nesrážlivé krve byly odebírány z periferní žíly do zkumavky s heparinem (systém BD Vacutainer[®], Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) v čase 3, 10, 20, 30, 44 (46), 47 (49), 56, 68, 92, 96 a 116 hod po dokončení infúze PLD. Další dva až tři odběry byly provedeny v průběhu PF. Do dvou hod po odběru byla centrifugací při 2000 otáčkách/min a teplotě 4 °C oddělena plazma. Následně byl 1 mL plazmy opatrně promíchán s 0,2 mL glycerolu a uchován při teplotě –80 °C až do provedení analýzy.

Metodika analýzy PLD a volného DOX vycházela z dříve publikovaných postupů pro stanovení plazmatického lipozomálního a nelipozomálního daunorubicinu [41]. Principem metody bylo přečištění vzorků od balastních látek extrakcí na pevné fázi a následná analýza extraktu za využití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (*high-performance liquid chromatography*, HPLC) s fluorescenční detekcí. Touto metodou bylo možné ve vzorku současně stanovit koncentraci PLD a volného DOX. Bylo při tom využíváno schopnosti lipozomů projít reverzní fází C₁₈ silikagelových kolon [42], zatímco volný DOX byl ve stacionární fázi zadržen a následně eluován metanolem [43]. Proces extrakce PLD a volného DOX tedy probíhal ve dvou krocích [41].

6.5.2 Farmakokinetická analýza

Nekompartmentová analýza farmakokinetiky byla provedena pomocí software Kinetica verze 5.1 (InnaPhase Corporation, Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA). Maximální plazmatická koncentrace (C_{\max}) byla získána jako nejvyšší změřená koncentrace na křivce koncentrace-čas. Plocha pod křivkou koncentrace-čas v intervalu od nuly do času posledního odběru t_{last} ($AUC_{0-t_{\text{last}}}$) byla vypočítána s využitím kombinace lineární a logaritmické lichoběžníkové metody. Celková AUC byla stanovena jako součet $AUC_{0-t_{\text{last}}}$ a AUC v časovém intervalu od t_{last} do nekonečna ($AUC_{t_{\text{last}}-\infty}$). $AUC_{t_{\text{last}}-\infty}$ byla vypočítána jako $C_{\text{last}}/\lambda_z$, kde C_{last} je predikovaná plazmatická koncentrace v čase posledního odběru (t_{last}) a λ_z je rychlostní konstanta eliminace v terminální fázi získaná lineární regresní analýzou (kladná hodnota směrnice přímky \log_e (koncentrace)-čas).

K odhadu populačních farmakokinetických parametrů byla použita iterační metoda maximálně věrohodného odhadu. Algoritmus SAEM (Stochastic Approximation Expectation–Maximization) společně s metodou MCMC (Markov Chain Monte Carlo) byly implementovány s využitím softwaru Monolix Suite 2018 R1 (Lixoft; Batiment D, Antony, Francie). Použití kompartmentového modelu bylo omezeno na odhad parametrů v základním strukturálním modelu PLD a bylo následováno odhadem individuálních hodnot farmakokinetických parametrů Bayesovou metodou. Vliv PF na eliminaci PLD byl modelován následovně:

za předpokladu, že nativní (t.j. endogenní) clearance (CL_n) PLD je v průběhu PF nezměněna, je celková clearance při PF součtem CL_n a extrakorporální clearance CL_{PF} : $CL = CL_n + PF \times CL_{PF}$, kde PF je časová indikátorová proměnná v datovém souboru vyznačující interval trvání PF ($PF = 1$ v průběhu PF, $PF = 0$ mimo PF). Interindividuální variabilita a intraindividuální variabilita (cykly terapie) parametrů modelu byly vystiženy exponenciálními modely. Pro odhad reziduální variability koncentrací (variability nevystižené modelem) byl nejlepší kombinovaný statistický model (aditivní a proporcionální chyba). Test dobré shody (goodness-of-fit) a diagnostické grafy byly použity pro výběr nejlepšího modelu.

6.6 Hodnocení efektivity a toxicity léčby PLD

Léčebná odpověď byla hodnocena po cyklu III a VI na základě zobrazovacích vyšetření (výpočetní tomografie a/nebo magnetická rezonance) a analýzy sérové koncentrace nádorového antigenu CA 125. Rozhodující bylo zhodnocení léčebné odpovědi podle RECIST 1.1 kritérií [37]. Doplnující informací byl vývoj sérové koncentrace onkomarkeru CA 125 a posouzení léčebné odpovědi na základě vývoje CA 125 dle GCIG (The Gynecological Cancer Inter-Group), která definuje léčebnou odpověď jako pokles CA 125 alespoň o 50% oproti původní hodnotě a progresi onemocnění jako vzestup na alespoň dvojnásobek nejnižší naměřené hodnoty (nadir) [44,45]. Přežití bez progresu (*progression-free survival*, PFS) bylo definováno jako časový interval od zahájení cyklu I do progresu onemocnění nebo úmrtí z jakékoli příčiny. Celkové přežití (*overall survival*, OS) bylo měřeno od zahájení cyklu I do úmrtí z jakékoli příčiny. Výsledné parametry byly porovnávány s historickými daty pocházejícími z klinických studií fáze III, ve kterých byl PLD podáván v identickém režimu, tj. v dávce 50 mg/m² každých 28 dnů.

Toxicita byla hodnocena u pacientek, kterým byl podán alespoň jeden cyklus PLD a které zároveň podstoupily alespoň jednu proceduru PF. Toxicita byla hodnocena podle kritérií CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events) v4.0 [46] na základě anamnestických dat, klinického vyšetření, laboratorních a zobrazovacích vyšetření. U všech událostí byl zároveň hodnocen kauzální vztah k terapii PLD a provedení PF.

6.7 Statistické hodnocení

Statistická analýza byla provedena s využitím programu GraphPad Prism v5.0 (Graph-Pad Software, San Diego, Kalifornie, USA). Rozdíly mezi skupinami byly hodnoceny pomocí nepárového *t* testu. Jako párový test pro hodnocení veličin, které neodpovídaly normálnímu rozdělení, byl použit Wilcoxonův test. Pro srovnání v rámci skupiny byla použita ANOVA pro opakovaná měření následovaná Tukeyovým–Kramerovým mnohočetným srovnávacím testem. Vztah mezi proměnnými byl hodnocen pomocí Spearmanova koeficientu pořadové korelace a lineární regrese. Hodnoty $p < 0,05$ byly považovány za signifikantní.

7 VÝSLEDKY

7.1 Charakteristika pacientek

Do studie bylo od února 2014 do listopadu 2017 zařazeno celkem 16 pacientek s platina-rezistentním karcinomem ovaria. Věk pacientek se pohyboval od 44 do 77 let (medián 64,5 let). Výkonnostní stav pacientek (PS) dle ECOG byl hodnocen jako 0 u 13 pacientek a jako 1 u tří pacientek. Nejčastějším histologickým typem byl serózní cystadenokarcinom ($n = 9$), následovaný serózním povrchovým papilárním karcinomem ($n = 4$) a papilárním serózním cystadenokarcinomem ($n = 3$). Čas od stanovení diagnózy primárního ovariálního karcinomu do zařazení do studie byl 11–78 měsíců (medián 28 měsíců). Čas od ukončení terapie platinovým derivátem do progresse onemocnění (*platinum-free interval*, PFI) se pohyboval od jednoho do pěti měsíců (medián 4 měsíce). Čtyři pacientky tak splňovaly definici platina-refrakterního onemocnění ($PFI \leq 1$ měsíc). Předchozí léčba zahrnovala jednu až čtyři linie paliativní chemoterapie. Byla také zařazena jedna pacientka, u které došlo k progresi onemocnění na adjuvantní léčbě obsahující platinový derivát (jednalo se tedy o první linii paliativní léčby).

7.2 Průběh léčby

Pacientky v rámci studie podstoupily 1–6 cyklů chemoterapie (medián 3 cykly). Počet pacientek, kterým byl podán daný počet cyklů (v pořadí od jednoho do šesti cyklů) byl následující: 1 (6 %), 3 (19 %), 5 (31 %), 3 (19 %) 0 (0 %) a 4 (25 %). Studii dokončily 4 pacientky (25 %). Nejčastějším důvodem předčasného ukončení léčby byla progresse onemocnění, která byla zaznamenána u 11 pacientek (69 %). V jednom případě byla léčba ukončena z důvodu protrahované kožní toxicity grade 3. Celkem bylo v rámci studie podáno 57 cyklů chemoterapie PLD. PF byla provedena v rámci 53 cyklů léčby. U čtyř pacientek byl podán první cyklus chemoterapie bez provedení PF z důvodu posouzení farmakokinetiky PLD bez vlivu PF. Jedna pacientka podstoupila pouze jeden cyklus chemoterapie bez současného provedení PF. U této pacientky byla hodnocena farmakokinetika PLD, avšak pacientka nebyla zahrnuta do celkové analýzy toxicity a účinnosti léčby.

7.3 Farmakokinetika PLD

Farmakokinetická analýza byla provedena u 16 pacientek na celkem 57 cyklech, z nichž 53 zahrnovalo provedení PF. Koncentrace plazmatického PLD byla popsána otevřeným dvoukompartmentovým modelem s eliminací prvního řádu z centrálního kompartmentu. farmakokinetické parametry pro cykly chemoterapie 1–6 získané nekompartmentovým a populačním kompartmentovým modelováním s využitím *post hoc* individualizace farmakokinetických parametrů dle Bayese jsou uvedeny v **Tab. 1**. Naměřené koncentrace PLD a koncentrační

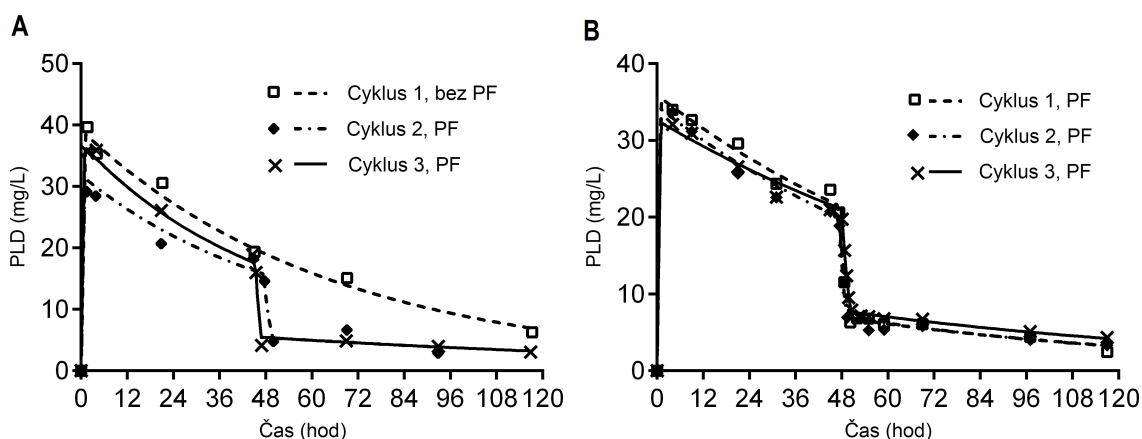
závislosti predikované modelem s využitím individuálních parametrů průběh u dvou reprezentativních pacientek jsou znázorněny na **Obr. 4**.

Tab. 1. Souhrnná tabulka farmakokinetických parametrů pro cykly 1–6

| | Pořadí cyklu chemoterapie (počet pacientek) | | | | | |
|--|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 1 (16) | 2 (15) | 3 (12) | 4 (6) | 5 (4) | 6 (4) |
| AUC_{0–fast} PLD [mg × h/L] | 1420 (333) | 1340 (201) | 1500 (320) | 1380 (334) | 1530 (392) | 1580 (392) |
| C_{max} PLD [mg/L] | 32,4 (4,7) | 30,3 (5,4) | 32,9 (5,9) | 31,1 (7,3) | 34,3 (9,5) | 35,6 (8,9) |
| AUC_{0–fast} DOX [mg × h/L] | 138 (36,6) | 150 (29,1) | 140 (35,2) | 161 (30,9) | 152 (42,8) | 142 (11,8) |
| C_{max} DOX [mg/L] | 2,7 (1,0) | 3,0 (1,3) | 3,0 (1,4) | 3,0 (0,72) | 2,7 (0,62) | 2,6 (0,41) |
| CL_n [L/h] | 0,032 (0,011) | 0,031 (0,010) | 0,028 (0,010) | 0,030 (0,013) | 0,029 (0,017) | 0,025 (0,010) |
| CL_{PF} [L/h] | 1,13 (0,24) | 1,11 (0,34) | 1,16 (0,32) | 1,20 (0,20) | 0,87 (0,33) | 1,15 (0,27) |
| Q₁₂ [L/h] | 0,021 (0,029) | 0,038 (0,11) | 0,017 (0,026) | 0,046 (0,072) | 0,006 (0,003) | 0,008 (0,009) |
| V₁ [L] | 2,6 (0,56) | 2,7 (0,63) | 2,6 (0,56) | 2,6 (0,67) | 2,6 (0,96) | 2,5 (0,96) |
| V₂ [L] | 1,7 (1,35) | 1,3 (0,53) | 1,0 (0,37) | 0,91 (0,46) | 0,96 (0,55) | 0,93 (0,65) |
| Am_{until PF} [%] | 34 (6,9) | 36 (5,8) | 32 (7,0) | 34 (9,8) | 35 (8,9) | 32 (4,5) |
| Am_{PF} [%] | 33 (15) | 28 (10) | 33 (7,8) | 31 (8,6) | 29 (6,8) | 36 (6,6) |

Hodnoty jsou uvedeny jako průměr (SD). PLD – pegylovaný lipozomální doxorubicin, DOX – volný doxorubicin, AUC_{0–fast} – plocha pod křivkou koncentrace vs. čas od zahájení infúze PLD do 116 hod po podání infúze, C_{max} – maximální plazmatická koncentrace, CL_n – endogenní clearance, CL_{PF} – extrakorporální clearance plazmafiltrací, Q₁₂ – interkompartmentová clearance, V₁ – distribuční objem centrálního kompartmentu, V₂ – distribuční objem periferního kompartmentu, Am_{until PF} – frakce dávky odstraněná před zahájením PF, Am_{PF} – frakce dávky odstraněná během PF.

Obr. 4. Naměřené koncentrace plazmatického PLD a modelem predikovaný průběh koncentrace PLD v čase u dvou reprezentativních pacientek



Symbole znázorňují naměřené koncentrace PLD v plazmě, plné a přerušované čáry znázorňují modelem predikovaný průběh plazmatické koncentrace PLD v čase u dvou reprezentativních pacientek, které podstoupily 3 cykly chemoterapie. Pacientka na **Obr. A** podstoupila první cyklus chemoterapie bez provedení plazmafiltrace (PF).

Hodnocena byla také stabilita PLD. Podíl volného DOX tvořil 10,4 ($\pm 4,6$) % celkového stanoveného DOX. K posouzení vlivu PF na uvolnění DOX z lipozomů byl hodnocen podíl volného DOX před a po provedení PF. Tento podíl činil 10,6 % ($\pm 4,5$ %), respektive 11,2 % ($\pm 5,0$ %) a obě hodnoty se navzájem statisticky nelišily ($p = 0,259$).

Dále byla provedena analýza faktorů s potenciálním vlivem na farmakokinetiku PLD, které zahrnovaly pořadí cyklu, věk (< 60 let vs. ≥ 60 let), index tělesné hmotnosti (BMI), poměr celkové tělesné hmotnosti a ideální tělesné hmotnosti (TBW/IBW), přítomnost maligního výpotku a absolutní počet leukocytů a monocytů před zahájením cyklu. Závažnosti maligního výpotku byla hodnocena dle vlastní arbitrární stupnice následovně: 0 – bez maligního výpotku; 1 – klinicky němý výpotek zjištěný pomocí zobrazovacích vyšetření; 2 – klinicky zjevný výpotek; 3 – významné množství výpotku s nutností evakuace. Pro hodnocení vlivu maligního výpotku na farmakokinetiku PLD byly porovnávány skupiny 0 a 1 vs. 2 a 3.

Vliv pořadí cyklu na CL_n a CL_{PF} byl hodnocen u 12 pacientek, které podstoupily alespoň 3 léčebné cykly. Pořadí cyklu nemělo vliv na CL_n ($p = 0,80$) ani CL_{PF} ($p = 0,73$). Nebyla nalezena korelace mezi věkem a CL_n ($p = 0,91$, $r = 0,0001$) ani CL_{PF} ($p = 0,16$, $r = 0,01$). Při porovnání obou věkových skupin (< 60 let vs. ≥ 60 let) nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v CL_n , CL_{PF} , $t_{1/2}$ ani V_{ss} . Byl patrný trend v poklesu CL_n s narůstajícím počtem cyklů u skupiny pacientek ≥ 60 let, který však nedosáhl statistické významnosti ($p = 0,12$). Nepodařilo se prokázat statisticky významný vliv tělesné konstituce (BMI a TBW/IBW) na CL_n ($p = 0,64$, resp. $p = 0,57$). Stejně tak nebyla CL_n ovlivněna předléčebným počtem leukocytů ($p = 0,083$) ani monocytů ($p = 0,14$).

Maligní výpotek (fluidothorax nebo ascites) se před zahájením léčby nebo v jejím průběhu vyskytl u 14/16 (88 %) pacientek. U pacientek s maligním výpotkem stupně 2–3 (klinicky zjevný výpotek s případnou nutností evakuace) byl oproti pacientkám bez maligního výpotku nebo s maligním výpotkem stupně 1 (asymptomatický výpotek diagnostikovaný zobrazovacími metodami) zvýšen periferní distribuční objem (V_2) o 1,3 L v prvním, respektive 0,65 L v následujících cyklech. Dále bylo zjištěno, že pacientky s maligním výpotkem stupně 2–3 měly v prvním cyklu vyšší CL_n . Stupeň závažnosti maligního výpotku neovlivnil plochu pod křivkou koncentrace vs. čas od zahájení infúze PLD do 116 hod po podání infúze (AUC_{0-last}), C_{max} ani další farmakokinetické parametry. Stejně tak množství PLD eliminovaného před a v průběhu PF nebylo ovlivněno závažností maligního výpotku. U pacientky č. 5 bylo opakovanými punkcemi maligního výpotku provedenými v čase 166–428 hod (7–17 dnů) od podání PLD v rámci cyklu I (bez PF) získáno celkem 7,3 % podané dávky. U stejné pacientky bylo v čase 169–513 hod (7–22 dnů) od aplikace PLD v rámci cyklu II (s PF) získáno 3,1 % podané dávky.

7.4 Účinnost plazmafiltrace

K posouzení efektivity PF bylo množství PLD odstraněného pomocí PF (A_{mPF}) srovnáváno s množstvím PLD odstraněným endogenní cestou před zahájením PF ($A_{m_{\text{untilPF}}}$). Pokud porovnáme průměrné hodnoty ze všech provedených cyklů PF, jsou hodnoty $A_{m_{\text{untilPF}}}$ a A_{mPF} srovnatelné: 34 % ($\pm 7\%$) vs. 31 % ($\pm 10\%$). Avšak k odstranění srovnatelného množství PLD je při endogenní eliminaci potřeba výrazně delšího času: 44–46 hod vs. 2–3 hod. PF tedy odstraňovala PLD z plazmy ~42krát efektivněji než endogenní mechanismy.

7.5 Nežádoucí události související s plazmafiltrací

Nežádoucí události v souvislosti s PF se vyskytly u 2 pacientek (13 %), respektive ve 3 cyklech PF (6 %). Ve dvou případech se jednalo o celkové příznaky – rozvoj nevolnosti a slabosti (pacientka č. 1, cyklus III a IV), které ustoupily během několika minut po přerušení PF a podání antiemetik. V jednom případě došlo k poklesu krevního tlaku (85/70 mmHg) po zahájení PF (pacientka č. 3, cyklus III). Po krátkodobém přerušení PF a podání několika desítek mL parenterální hydratace došlo k rychlé úpravě stavu a PF mohla být dokončena.

Kromě nežádoucích událostí souvisejících s PF jsme ve 4 cyklech (7,5 %) zaznamenali technické komplikace. Ve dvou případech se jednalo o špatný průtok krve kanylou (pacientka č. 4, cyklus I a pacientka č. 15, cyklus III). V jednom případě došlo po 70 minutách PF k neprůchodnosti filtru (pacientka č. 16, cyklus III). Po výměně filtru byl proces PF úspěšně dokončen. V jednom případě došlo poruše přístroje při přípravě výkonu (pacientka č. 14, cyklus IV). Po výměně přístroje bylo možné PF zahájit. Ve všech zmíněných případech byla PF dokončena a nebylo ohroženo zdraví pacientek.

7.6 Efektivita protinádorové léčby

Efektivita protinádorové léčby byla hodnocena u 15 pacientek, které podstoupily alespoň jeden cyklus chemoterapie následovaný PF (**Tab. 2**). Medián času do provedení prvního zhodnocení léčebné odpovědi byl 2,9 měsíců. Dle RECIST kritérií (verze 1.1) bylo u 4/15 (27 %) pacientek dosaženo stabilizace onemocnění (SD) a u 10/15 (67 %) pacientek došlo k progresi onemocnění (PD). Parciální remise (PR) byla zaznamenána u jedné pacientky (7 %), kompletní remise (CR) nebyla v tomto souboru zaznamenána. Při hodnocení léčebné odpovědi na základě vývoje onkomarkeru CA 125 dle GCIG kritérií, které bylo možné u 12 pacientek, bylo léčebné odpovědi bylo dosaženo u jedné pacientky (8 %), stabilizace onemocnění u 8 pacientek (67 %) a progresi onemocnění byla zaznamenána u 3 pacientek (25 %).

V případě dvou pacientek došlo ke klinické progresi onemocnění, ale s ohledem na jejich celkový stav nebylo provedeno kontrolní CT vyšetření. U zbývajících 14 pacientek bylo

nejčastějším místem progresu peritoneum (79 %), lymfatické uzliny (29 %), játra (21 %) a malá pánev (21 %). U dvou pacientek (14 %) došlo k rozvoji metastatického postižení CNS.

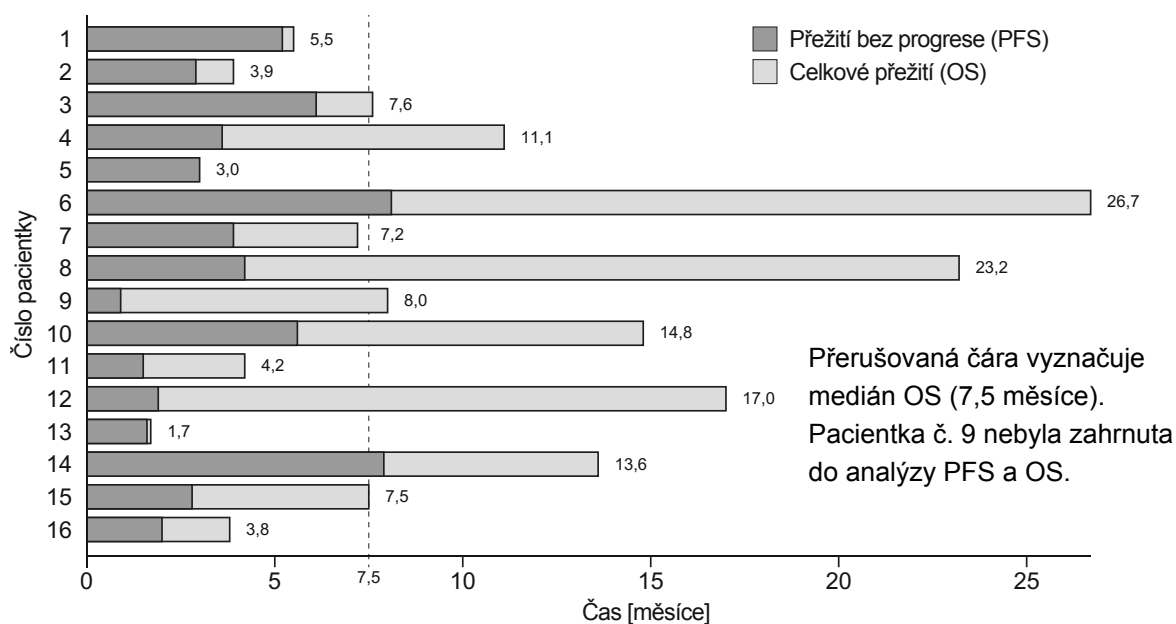
Tab. 2. Analýza efektivity protinádorové léčby

| ČP | Počet cyklů CHT | Počet cyklů s PF | Nejlepší dosažená odpověď ¹ | Vývoj CA 125 [%] | Místo progresu | PFS [měsíce] | OS [měsíce] |
|----|-----------------|------------------|--|------------------|----------------------|--------------|-------------|
| 1 | 6 | 5 | SD | -9 | MP, hrudní stěna | 5,2 | 5,5 |
| 2 | 3 | 2 | PD | +238 | LYM, PER | 2,9 | 3,9 |
| 3 | 3 | 3 | SD | +72 | n/a | 6,1 | 7,6 |
| 4 | 3 | 3 | PD | -25 | MP, PER | 3,6 | 11,1 |
| 5 | 2 | 1 | PD | n/a | n/a | 3,0 | 3,0 |
| 6 | 6 | 6 | SD | -256 | HEP, LYM, PER, PUL | 8,1 | 26,7 |
| 7 | 4 | 4 | PD | +346 | HEP, PER | 3,9 | 7,2 |
| 8 | 4 | 4 | PD | +61 | PER, BRA | 4,2 | 23,2 |
| 9 | 1 | 0 | PD | n/a | PER | 0,9 | 8,0 |
| 10 | 6 | 6 | PR | +2 | PER | 5,6 | 14,8 |
| 11 | 2 | 2 | PD | +64 | BRA | 1,5 | 4,2 |
| 12 | 3 | 3 | PD | -26 | LYM, MP, PER, břišní | 1,9 | 17,0 |
| 13 | 2 | 2 | PD | n/a | PER | 1,6 | 1,7 |
| 14 | 6 | 6 | SD | n/a | PER | 7,9 | 13,6 |
| 15 | 3 | 3 | PD | +62 | LYM, PER, PLE | 2,8 | 7,5 |
| 16 | 3 | 3 | PD | +211 | HEP | 2,0 | 3,8 |

CHT – chemoterapie, PF – plazmafiltrace, PFS – přežití bez progresu, PR – parciální remise, OS – celkové přežití, SD – stabilizace onemocnění, PD – progresu onemocnění, BRA – mozek, HEP – játra, LYM – lymfatické uzliny, MP – malá pánev, PER – peritoneum, PLE – pleura, PUL – plíce, n/a – údaj není k dispozici (nebyl proveden kontrolní odběr CA 125 nebo kontrolní zobrazovací vyšetření – klinická progresu onemocnění), ¹ Nejlepší dosažená odpověď hodnocená dle RECIST kritérií 1.1.

Pozn. pacientka č. 9 nebyla zařazena do analýzy PFS a OS.

Obr. 5. Graf přežití bez progresu (PFS) a celkového přežití (OS)



Medián PFS byl 3,6 měsíce (rozmezí 1,5–8,1 měsíce) a medián OS 7,5 měsíce (rozmezí 1,7–26,7 měsíce). Tři pacientky (20%) zemřely v průběhu studie, 12 (80%) v průběhu follow-up. Ve všech případech byla příčinou progresse onemocnění, nebylo zaznamenáno žádné úmrtí v souvislosti s léčbou. Graf PFS a OS celého souboru je zobrazen na **Obr. 5**.

7.7 Toxicita související s terapií PLD

Léčba PLD byla velmi dobře tolerována. Nebylo zaznamenáno žádné úmrtí související s léčbou a pouze u jedné pacientky musela být léčba ukončena v důsledku toxicity. Většina pozorovaných nežádoucích účinků byla mírného stupně (grade 1–2 dle CTCAE v4.0). Nejčastější hematologickou toxicitou byla anémie grade 1–2, která se vyskytla u 33,3% pacientek. Jen u dvou pacientek (13,3%) byla zaznamenána trombocytopenie grade 1. Ve studii jsme nezaznamenali žádný případ neutropenie související s léčbou.

Mezi nejčastější nehematologické nežádoucí účinky patřila nauzea (40,0%), zvracení (26,7%), zácpa (20,0%) a únava (13,3%). Nezaznamenali jsme ani jeden případ kardiotoxicity (srdeční arytmie, prodloužení QTc intervalu nebo pokles EFLK). V rámci studie jsme zaznamenali jediný případ kožní toxicity (grade 3), který si nakonec vyžádal ukončení léčby. Dále jsme pozorovali jeden případ orofaryngeální mukositivity. Jednalo se však o mírný průběh (grade 1), který se spontánně upravil do podání následujícího cyklu. U jedné pacientky byla odložena léčba z důvodu extravazace. Nebylo nutné redukovat dávku z důvodu toxicity. V **Tab. 3** je uveden výskyt toxicity u jednotlivých pacientek, **Tab. 4** uvádí celkový přehled incidence a závažnosti toxicity související s léčbou PLD.

Tab. 3. Toxicita související s terapií PLD

| Toxicita | Číslo pacientky | | | | | | | | | | | | | | | | n (%) |
|-----------------|-----------------|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|--|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | | |
| Anemie | 2 | 2 | 2 | | | | | 1 | | | | | 1 | | | | 5 (33,3) |
| Neutropenie | | | | | | | | | | | | | | | | | 0 |
| Trombocytopenie | | | | | | | | | | | | 1 | | 1 | | | 2 (13,5) |
| Kožní toxicita | | | 3 | | | | | | | | | | | | | | 1 (6,7) |
| Mukositida | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | 1 (6,7) |
| Srdeční selhání | | | | | | | | | | | | | | | | | 0 |
| Tromboembolie | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | 1 (6,7) |
| Tromboflebitida | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | 1 (6,7) |
| Nauzea | 2 | 3 | 1 | 1 | | | | | 2 | | | | 1 | | | | 6 (40,0) |
| Zvracení | 2 | 2 | | 2 | | | | | 1 | | | | | | | | 4 (26,7) |
| Únava | | | | 1 | | 1 | 1 | | | | | | | | | | 3 (20,0) |
| Zácpa | 1 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | 2 (13,5) |
| Extravazace | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | 1 (6,7) |
| Infúzní reakce | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | 1 (6,7) |

Uvedena je toxicita související s terapií PLD u jednotlivých pacientek. Číslo představuje nejvyšší stupeň pozorované toxicity dle CTCAE v4.0 u dané pacientky. Pacientka č. 9 nebyla do hodnocení toxicity zahrnuta (absolvovala pouze jeden cyklus léčby bez PF).

Tab. 4. Celkový přehled toxicity související s léčbou PLD

| Toxicita | Postižených pacientek n (%) | Postižených cyklů n (%) | Incidence podle cyklu* | | | | | |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | | 1 (15) | 2 (15) | 3 (12) | 4 (6) | 5 (4) | 6 (4) |
| Anemie | 5 (33,3) | 21 (37,5) | 5 (33) | 5 (33) | 5 (42) | 3 (50) | 2 (50) | 1 (25) |
| Grade 1 | 2 (13,3) | 11 (19,6) | 4 (27) | 2 (13) | 2 (17) | 2 (33) | 1 (25) | 0 |
| Grade 2 | 3 (20,0) | 10 (17,9) | 1 (7) | 3 (20) | 3 (25) | 1 (17) | 1 (25) | 1 (25) |
| Neutropenie | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Trombocytopenie | 2 (13,3) | 6 (10,7) | 1 (7) | 1 (7) | 2 (17) | 1 (17) | 1 (25) | 0 |
| Grade 1 | 2 (13,3) | 6 (10,7) | 1 (7) | 1 (7) | 2 (17) | 1 (17) | 1 (25) | 0 |
| Grade 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Kožní toxicita | 1 (6,7) | 2 (3,6) | 0 | 1 (7) | 1 (8) | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 0 | 1 (1,8) | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 3 | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 0 | 0 | 1 (8) | 0 | 0 | 0 |
| Mukozitida | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Srdeční selhání | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Tromboembolie | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 0 | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 0 | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Tromboflebitida | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 0 | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 1 (6,7) | 0 | 0 | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 0 | 1 (1,8) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Nauzea | 6 (40,0) | 10 (17,9) | 2 (13) | 3 (20) | 2 (17) | 2 (33) | 0 | 1 (25) |
| Grade 1 | 3 (20,0) | 6 (10,7) | 2 (13) | 2 (13) | 0 | 1 (17) | 0 | 1 (25) |
| Grade 2 | 2 (13,3) | 3 (5,4) | 0 | 1 (7) | 1 (8) | 1 (17) | 0 | 0 |
| Grade 3 | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 0 | 0 | 1 (8) | 0 | 0 | 0 |
| Zvracení | 4 (26,7) | 7 (12,5) | 1 (7) | 2 (13) | 2 (17) | 1 (17) | 0 | 1 (25) |
| Grade 1 | 1 (6,7) | 4 (7,1) | 1 (7) | 1 (7) | 0 | 1 (17) | 0 | 1 (25) |
| Grade 2 | 3 (20,0) | 3 (5,4) | 0 | 1 (7) | 2 (17) | 0 | 0 | 0 |
| Zácpa | 3 (20,0) | 4 (7,1) | 3 (20) | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 3 (20,0) | 4 (7,1) | 3 (20) | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Únava | 2 (13,3) | 3 (5,4) | 1 (7) | 1 (7) | 1 (8) | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 2 (13,3) | 3 (5,4) | 1 (7) | 1 (7) | 1 (8) | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Extravazace | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (25) | 0 |
| Grade 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 (25) | 0 |
| Grade 2 | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Infúzní reakce | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Grade 2 | 1 (6,7) | 1 (1,8) | 1 (7) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Toxicita byla hodnocena na souboru 15 pacientek (pacientka č. 9 nebyla zařazena – podstoupila pouze 1 cyklus bez provedení PF). Dále byl hodnocen počet cyklů, ve kterých se daná toxicita vyskytla (celkem hodnoceno 56 cyklů), * číslo před závorkou uvádí pořadí cyklu, číslo v závorce uvádí počet pacientek, který podstoupily daný počet cyklů.

8 DISKUZE

Přes významný pokrok na poli onkologie související se zavedením cílené léčby a imunoterapie do léčby solidních nádorů zůstává chemoterapie nedílnou součástí armamentaria protinádorové léčby. Jsou hledány způsoby, jakými docílit vyššího protinádorového účinku a zároveň snížení toxicity léčby. Jednou z možností je enkapsulace cytostatik do lipozomálních nosičů, čímž dochází ke změně jejich farmakokinetického a toxikologického profilu [22]. Vedle cílené distribuce cytostatika do nádorové tkáně umožňují specifické farmakokinetické vlastnosti nosiče provedení extrakorporální eliminace frakce podané dávky lipozomálního cytostatika s cílem snížení toxicity [33]. Výsledky doposud jediné klinické studie provedené na 15 pacientkách s gynekologickými nádory a karcinomem prsu (studie CARL-trial) svědčily pro bezpečnost a účinnost metody kaskádové filtrace (*double filtration plasmapheresis*, DFPP) jako prostředku extrakorporální eliminace PLD [33].

Naše studie hodnotila účinnost a bezpečnost PF jako metody extrakorporální eliminace PLD s cílem zlepšení tolerability léčby pacientek s platina-rezistentním inoperabilním a/nebo metastatickým ovariálním karcinomem. Byla použita odlišná technika extrakorporální eliminace. Zatímco studie CARL-trial využívala v prvním kroku separace (tj. oddělení krevních elementů od plazmy) metodu filtrace, v naší studii byla k separaci plazmy použita metoda centrifugace kontinuálním separátorem. Oproti studii CARL-trial měla naše studie několik předností, a to zejména soubor pacientek s jednotnou onkologickou diagnózou a léčebným schématem, absenci konkomitantní protinádorové léčby, která by mohla ovlivnit farmakokinetiku PLD a léčebnou odpověď, dávkování PLD, které odpovídá současným léčebným standardům, častější odběry krve na stanovení plazmatické koncentrace PLD, současné stanovení volného DOX, přesnější odhad farmakokinetických parametrů pomocí metod populační farmakokinetiky a stanovení koncentrace celkového a volného DOX v maligních výpotcích. Oproti původní studii byl dále hodnocen vliv některých klinických a laboratorních faktorů na farmakokinetiku PLD. Naše studie byla také první, která srovnávala efektivitu extrakorporální eliminace pomocí PF s endogenní (přirozenou) eliminací.

Během 2–3hod procesu PF byl očištěn objem plazmy odpovídající přibližně jednomu intravaskulárnímu objemu, který byl vypočítán separátorem na základě hmotnosti, výšky a hematokritu pacientky. Při tom bylo z těla odstraněno 31 % (± 10 %) podané dávky PLD. Do zahájení PF bylo endogenními mechanismy z těla pacientky odstraněno 34 % (± 7 %) podané dávky. Pro odstranění přibližně stejného množství PLD endogenními mechanismy bylo zapotřebí 44–46 hod oproti 2–3 hod při provedení PF. Extrakorporální clearance tak byla ~42krát efektivnější než endogenní mechanismy a její účinnost byla dostatečná pro redukcii toxicity související s léčbou PLD. V pilotní studii CARL-trial bylo pomocí PF odstraněno 45 % (± 7 %) podané dávky PLD, tedy více než v naší studii [33]. Tento rozdíl lze přičíst

několika aspektům. Ve studii CARL-trial bylo použito jiné dávkování (dávka 40 mg/m² q3w nebo q4w ve srovnání s 50 mg/m² q4w v naší studii). Dále byl v této studii očištěn fixní objem plazmy (3000 ml), zatímco v naší studii byl objem očištěné plazmy modifikován vypočítaným intravaskulárním objemem pacientky. Objem očištěné plazmy (a s tím související množství odstraněného PLD) se u jednotlivých pacientek značně lišil: průměr 2946 mL (\pm 558 mL), rozsah 2084–4398 mL. S ohledem na takto velké rozpětí se úprava očištěného objemu podle konstituce konkrétní pacientky jeví jako výhodnější pro zachování dostatečné protinádorového účinku a zároveň snížení rizika vzniku nežádoucích účinků PLD. Je nutné také zmínit nižší počet odběrů krve na stanovení plazmatické koncentrace PLD ve studii CARL-trial, čímž mohla být ovlivněna přesnost farmakokinetických výpočtů.

PF je obecně považována za bezpečnou a dobře tolerovanou léčebnou metodu. Dle mezinárodního registru RheoNet byla incidence nežádoucích událostí souvisejících s výkonem 5,56 %, přičemž ve 2,19 % případů byla nutná intervence [47]. Nejčastějšími nežádoucími událostmi bývají hypotenze, závratě, zimnice, krvácivé projevy, nauzea a zvracení [47,48]. V našem souboru došlo v souvislosti s PF k výskytu nežádoucích událostí ve 3 cyklech (6 %). Ve všech případech se jednalo o nezávažné nežádoucí události, které samy odezněly po krátkodobém přerušení PF nebo vyžadovaly jen minimální intervenci. Technické problémy související s přístrojem se vyskytly ve 2 cyklech (4 %) a problémy s cévním přístupem (nedostatečný průtok krve kanylou) ve 2 cyklech (4 %). Dle mezinárodního registru RheoNet se technické problémy a komplikace související s cévním přístupem vyskytují ve 2,11 %, respektive 5,50 % cyklů [47]. Separátorové centrum Fakultní nemocnice Hradec Králové patří mezi pracoviště, která mají bohaté zkušenosti s reoferézami prováděnými z jiných indikací (familiární hypercholesterolemie, makulární degenerace aj.) a které vedou dlouhodobé statistiky nežádoucích událostí. Incidence lehkých nežádoucích událostí se v tomto centru pohybuje v rozmezí 4–8 % [49], což je v souladu s údaji uváděnými v národních a mezinárodních registrech [47,48]. Incidence nežádoucích událostí v naší studii se tedy nelišila od dlouhodobého průměru centra ani údajů v registrech. Nepozorovali jsme žádnou neočekávanou nežádoucí událost. Na základě těchto dat lze tvrdit, že provedení PF s cílem extrakorporální eliminace PLD je bezpečnou a dobře tolerovanou metodou, což potvrzuje výsledky pilotní studie [33].

Farmakokinetiku PLD v našem souboru nejlépe charakterizoval otevřený dvoukompartimentový model s eliminací prvního řádu z centrálního kompartmentu, což je v souladu s výsledky předchozích studií [50,51]. Také jednotlivé farmakokinetické parametry se výrazně neodlišovaly od údajů v literatuře [22,50,52,53]. Analýzou faktorů s potenciálním vlivem na farmakokinetiku PLD nebyl nalezen vliv pořadí cyklu, věku, BMI, TBW/IBW, absolutního počtu leukocytů před zahájením cyklu ani absolutního počtu monocytů před zahájením cyklu na CL_n. Jiní autoři dříve prokázali snížení CL_n s narůstajícím počtem cyklů PLD, což bylo

vysvětlováno snížením funkce RES při opakovaném podání PLD [54,55]. Lze předpokládat, že odstraněním PLD pomocí PF dochází k menšímu ovlivnění funkce buněk RES, které jsou zodpovědné za endogenní clearance lipozomů. Obdobným mechanismem lze pravděpodobně také vysvětlit nižší incidenci leukopenie pozorovanou v naší studii. Pozorovali jsme trend v poklesu CL_n s narůstajícím počtem cyklů u pacientek ≥ 60 let. Přestože tento pokles nedosáhl statistické významnosti, nabízí se hypotéza, že u starších pacientek může docházet při opakovaném podání PLD k významnějšímu poklesu CL_n než u mladších pacientek, a to i při provedení PF. Vysvětlením by mohly být věkem podmíněné změny RES [56-58]. Je nutné zmínit limitovanou velikost našeho souboru, v důsledku které se nemusel vliv některých faktorů projevit.

Maligní výpotky (ascites a fluidothorax) jsou častou komplikací pokročilého ovarálního karcinomu a postihují přibližně jednu třetinu pacientek v době diagnózy [59]. V našem souboru se maligní výpotek v průběhu léčby vyskytl u 88% pacientek, přičemž u 44% se jednalo o klinicky významný výpotek (stupeň 2–3 dle naší arbitrální stupnice). Přítomnost klinicky významného výpotku neměla vliv na základní farmakokinetické parametry s výjimkou zvýšení V_2 v prvním a následujících cyklech a zvýšení CL_n v prvním cyklu. Větší V_2 u pacientek s výpotkem svědčí o distribuci PLD do maligních výpotků, což jsme ověřili vyšetřením jeho koncentrace v ascitické tekutině a/nebo fluidothoraxu. PLD zde byl prokazatelný dlouhou dobu po aplikaci (513 hod), což svědčí o jeho kumulaci a potvrzuje závěry jiných autorů [60,61]. O kumulaci PLD v maligních výpotcích dále svědčí zjištění, že k poklesu koncentrace celkového DOX v maligních výpotcích docházelo pomaleji než k poklesu plazmatické koncentrace celkového DOX. PLD představoval v maligních výpotcích ~80 % celkového DOX, což je v souladu s literaturou [60].

Provedení PF vedlo k významnému snížení mukokutánní toxicity ve srovnání s historickými daty (**Tab. 5**). Zaznamenali jsme pouze jeden případ kožní toxicity grade 3, a to u starší pacientky a chronickou žilní insuficiencí. Po sedmi týdnech podpůrné léčby došlo u této pacientky k úplnému ústupu erytému a významné regresi otoku. S ohledem na protrahovanou kožní toxicitu však musela být terapie PLD ukončena. Bylo zjištěno, že vyšší věk může mít vliv na CL_n [62], což mohlo přispět k rozvoji kožní toxicity u této pacientky. Současně pacientka trpěla chronickou žilní insuficiencí, u které bývá popisován žilní reflux, zvýšená permeabilita lymfatických cév a snížený počet sběrných kanálků [63]. To mohlo vést ke zvýšené distribuci PLD do kůže a prolongované expozici účinkům PLD [64,65]. Mukozitida, jejíž incidence byla v klinických studiích 34,8–43,0%, se v našem souboru vyskytla u jedné pacientky (6,7 %). Jednalo se o orofaryngeální mukosiditu lehkého stupně (grade 1), která spontánně ustoupila a v následujících cyklech se již neopakovala. Zatímco incidence anemie a trombocytopenie byla srovnatelná s historickými daty, výskyt neutropenie, která byla ve srovnávaných

studiích přítomna u 21,8–37,1 % pacientek, jsme v našem souboru nezaznamenali. PLD je za normálních okolností vychytáván makrofágy RES, které se hojně vyskytují mj. také v kostní dřeni [66,67]. Lze tedy předpokládat, že odstranění plazmatického PLD by mohlo vést ke snížení množství PLD vychytaného makrofágy kostní dřene a tímto způsobem zabránit možnému negativnímu vlivu na leukopoézu [65]. Výskyt ostatních nežádoucích účinků, jako je nauzea, zvracení, zácpa a únava, byl srovnatelný s historickými daty.

Tab. 5. Porovnání toxicity pozorované v této studii s klinickými studiemi

| Toxicita | Gordon <i>et al.</i> (2000) [68] n = 89 | Gordon <i>et al.</i> (2001) [29] n = 239 | Mutch <i>et al.</i> (2007) [69] n = 96 | Colombo <i>et al.</i> (2012) [70] n = 409 | Tato studie n = 15 |
|--------------------------------|--|---|---|--|-----------------------|
| Anemie | 35 (39,3) | 85 (35,6) | n/a | 88 (21,5) | 5 (33,3) |
| Grade 3–4 | 12 (13,5) | 13 (5,4) | 2 (2,1) | 15 (3,7) | 0 |
| Neutropenie | 33 (37,1) | 84 (35,1) | n/a | 89 (21,8) | 0 |
| Grade 3–4 | 12 (13,5) | 29 (12,1) | 18 (18,8) | 41 (10,0) | 0 |
| Trombocytopenie | n/a | 31 (13,0) | n/a | n/a | 2 (13,3) |
| Grade 3–4 | n/a | 3 (1,3) | 5 (5,2) | n/a | 0 |
| PPE (hand-foot syndrom) | 37 (41,6) | 117 (49,0) | 19 (19,8)* | 171 (41,8) | 1 (6,7) |
| Grade 3–4 | 18 (20,2) | 55 (23,0) | 10 (10,4) | 55 (13,4) | 1 (6,7) |
| Mukozitida | 31 (34,8) | 95 (39,7) | 15 (15,6)* | 176 (43,0) | 1 (6,7) |
| Grade 3–4 | 8 (9,0) | 20 (8,4) | 3 (3,1) | 41 (10,0) | 0 |
| Nauzea | 34 (38,2) | n/a | n/a | 188 (46,0) | 6 (40,0) |
| Grade 3–4 | 6 (6,7) | n/a | n/a | 24 (5,9) | 1 (6,7) |
| Zvracení | 17 (19,1) | n/a | n/a | 131 (32,0) | 4 (26,7) |
| Grade 3–4 | 4 (4,5) | n/a | n/a | 24 (5,9) | 0 |
| Zácpa | n/a | n/a | 9 (9,4)* | 143 (35,0) | 3 (20,0) |
| Grade 3–4 | n/a | n/a | 2 (2,1) | 11 (2,7) | 0 |
| Únava | 37 (41,6) | n/a | 22 (22,9)* | 190 (46,5) | 2 (13,3) |
| Grade 3–4 | 8 (9,0) | n/a | 1 (1,0) | 34 (8,3) | 0 |

V uvedených studiích bylo použito dávkování PLD 50 mg/m² každé 4 týdny. n/a – údaj není dostupný, PPE – palmo-plantární erytrodysestezie, * Grade 2–4.

K posouzení protinádorové účinnosti terapie PLD v kombinaci s extrakorporální eliminací PLD pomocí PF jsme porovnali výsledky naší studie s historickými daty. Zatímco medián PFS byl srovnatelný (3,6 vs. 2,1–3,8 měsíce), medián OS dosažený v naší studii byl oproti srovnávaným studiím kratší (7,5 vs. 8,3–13,5 měsíce) [29,69,70]. Stejně tak porovnání četnosti nejlepších dosažených léčebných odpovědí vyznívá v neprospěch naší studie, ve které jsme nezaznamenali žádnou CR a pouze jeden případ PR (6,7%). SD bylo dosaženo u 26,7% pacientek a u 66,7% došlo k progresi onemocnění. Je však třeba zdůraznit, že se jedná o nepřímé srovnání, které může být zkresleno odlišností studijní populace. Ve dvou ze srovnávaných studií byl počet linií léčby před zařazením do studie limitován na jednu [29], respektive dvě [69]. Stejně tak ve třetí studii byla většina pacientek (93 %) předléčena nanejvýše dvěma liniemi léčby [70]. To by mohlo být vysvětlením horšího přežívání pozorovaného v naší studii,

kde nebyl počet linií předchozí léčby limitován a 33 % pacientek před zařazením absolvovalo ≥ 3 léčebné linie. Pokud bychom v našem souboru selektovali podskupinu pacientek, které podstoupily nanejvýše 1–2 předchozí linie léčby ($n = 8$), byl by medián PFS 4,1 měsíce a medián OS 13,6 měsíce, tedy obdobné výsledky jako ve srovnávaných studiích. Pro validní posouzení vlivu provedení PF na protinádorovou účinnost léčby PLD by však bylo nutné provedení prospektivní randomizované klinické studie s kontrolním ramenem bez PF.

Pro úplnost je nutné uvést možné limitace této studie. Zejména jde o limitovanou velikost studijní populace, vzhledem ke které nemusely být zachyceny některé vzácnější projevy toxicity. Ze stejného důvodu se také nemusel projevit vliv některých kovariát na farmakokinetické parametry. S ohledem na absenci kontrolního studijního ramene bez provedení PF a variabilitě souboru ve smyslu počtu předchozích linií léčby a délce PFI jsou informace týkající se efektivity protinádorové léčby pouze orientační.

Aby mohla být metoda využívána v klinické praxi, bude třeba nejprve zodpovědět některé zásadní otázky. Těmi jsou zejména optimální načasování (*timing*) provedení PF. Pokud by totiž byla PF provedena příliš brzy, došlo by k významnému snížení toxicity léčby, avšak za cenu snížení protinádorového účinku. Pokud by naopak PF byla provedena příliš pozdě, byl by zachován protinádorový účinek, avšak bez požadovaného snížení toxicity [71]. Dále bude nutné selektovat pacienty, kteří budou z tohoto přístupu nejvíce profitovat. Zejména však bude nutné prokázat, že provedení PF nevede ke zhoršení účinnosti protinádorové léčby.

9 ZÁVĚRY

Plazmafiltraci lze považovat za bezpečnou a účinnou metodou pro extrakorporální eliminaci PLD. Nežádoucí události související s PF byly vzácné a jejich incidence a závažnost se nelišila od provedení výkonu z jiných indikací. Zařazení PF vedlo k významnému snížení projevů mukokutánní toxicity ve srovnání s historickými daty a přispělo tím k lepší tolerabilitě léčby. Současně byla významně snížena incidence leukopenie, resp. neutropenie. Během PF nedocházelo k významnějšímu úniku volného DOX z lipozomů. Farmakokinetika PLD odpovídala otevřenému dvoukompartmentovému modelu s eliminací prvního řádu z centrálního kompartmentu a jednotlivé farmakokinetické parametry byly v souladu s literaturou. S výjimkou zvýšení periferního distribučního objemu v prvním a následujících cyklech a zvýšení clearance PLD v prvním cyklu u pacientů s klinicky významnými výpotky nebyl pozorován vliv sledovaných kovariát na farmakokinetiku PLD. Byla potvrzena distribuce a dlouhodobá perzistence PLD v maligních výpotcích. Nelze vyloučit možný negativní vliv PF na snížení účinnosti protinádorové léčby. Pro validní posouzení vlivu PF na účinnost protinádorové léčby je však nezbytné srovnání v rámci randomizované klinické studie.

10 POUŽITÁ LITERATURA

1. Maeda H, Khatami M. Analyses of repeated failures in cancer therapy for solid tumors: poor tumor-selective drug delivery, low therapeutic efficacy and unsustainable costs. *Clin Transl Med.* 2018;7(1):11.
2. Maeda H, Bharate GY, Daruwalla J. Polymeric drugs for efficient tumor-targeted drug delivery based on EPR-effect. *Eur J Pharm Biopharm.* 2009;71(3):409-19.
3. Fang J, Nakamura H, Maeda H. The EPR effect: Unique features of tumor blood vessels for drug delivery, factors involved, and limitations and augmentation of the effect. *Adv Drug Deliv Rev.* 2011;63(3):136-51.
4. Janku F. Tumor heterogeneity in the clinic: is it a real problem? *Ther Adv Med Oncol.* 2014;6(2):43-51.
5. Leroux C, Konstantinidou G. Targeted Therapies for Pancreatic Cancer: Overview of Current Treatments and New Opportunities for Personalized Oncology. *Cancers (Basel).* 2021;13(4).
6. Yao Y, Zhou Y, Liu L, Xu Y, Chen Q, Wang Y, et al. Nanoparticle-Based Drug Delivery in Cancer Therapy and Its Role in Overcoming Drug Resistance. *Front Mol Biosci.* 2020;7(193).
7. Barua S, Mitragotri S. Challenges associated with Penetration of Nanoparticles across Cell and Tissue Barriers: A Review of Current Status and Future Prospects. *Nano today.* 2014;9(2):223-43.
8. Hashizume H, Baluk P, Morikawa S, McLean JW, Thurston G, Roberge S, et al. Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness. *Am J Pathol.* 2000;156(4):1363-80.
9. Leu AJ, Berk DA, Lymboussaki A, Alitalo K, Jain RK. Absence of functional lymphatics within a murine sarcoma: a molecular and functional evaluation. *Cancer Res.* 2000;60(16):4324-7.
10. Padera TP, Stoll BR, Tooredman JB, Capen D, di Tomaso E, Jain RK. Pathology: cancer cells compress intratumour vessels. *Nature.* 2004;427(6976):695.
11. Jain RK. Normalizing tumor microenvironment to treat cancer: bench to bedside to biomarkers. *J Clin Oncol.* 2013;31(17):2205-18.
12. Nakamura Y, Mochida A, Choyke PL, Kobayashi H. Nanodrug Delivery: Is the Enhanced Permeability and Retention Effect Sufficient for Curing Cancer? *Bioconjug Chem.* 2016;27(10):2225-38.
13. Abdalla AME, Xiao L, Ullah MW, Yu M, Ouyang C, Yang G. Current Challenges of Cancer Anti-angiogenic Therapy and the Promise of Nanotherapeutics. *Theranostics.* 2018;8(2):533-48.
14. Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 1986;46(12 Pt 1):6387-92.
15. Natfji AA, Ravishankar D, Osborn HMI, Greco F. Parameters Affecting the Enhanced Permeability and Retention Effect: The Need for Patient Selection. *J Pharm Sci.* 2017;106(11):3179-87.

16. Day CM, Hickey SM, Song Y, Plush SE, Garg S. Novel Tamoxifen Nanoformulations for Improving Breast Cancer Treatment: Old Wine in New Bottles. *Molecules* (Basel, Switzerland). 2020;25(5).
17. Mishra H, Chauhan V, Kumar K, Teotia D. A comprehensive review on Liposomes: a novel drug delivery system. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2018;8(6): 400-4.
18. Wagner A, Vorauer-Uhl K. Liposome technology for industrial purposes. *J Drug Deliv Ther*. 2011;2011:591325.
19. Li J, Wang X, Zhang T, Wang C, Huang Z, Luo X, et al. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian J Pharm Sci*. 2015;10(2):81-98.
20. Waterhouse DN, Tardi PG, Mayer LD, Bally MB. A comparison of liposomal formulations of doxorubicin with drug administered in free form: changing toxicity profiles. *Drug Saf*. 2001;24(12):903-20.
21. Gabizon AA. Pegylated liposomal doxorubicin: metamorphosis of an old drug into a new form of chemotherapy. *Cancer Invest*. 2001;19(4):424-36.
22. Gabizon A, Shmeeda H, Barenholz Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal Doxorubicin: review of animal and human studies. *Clin Pharmacokinet*. 2003;42(5): 419-36.
23. Gabizon A, Shmeeda H, Grenader T. Pharmacological basis of pegylated liposomal doxorubicin: impact on cancer therapy. *Eur J Pharm Sci*. 2012;45(4):388-98.
24. Uziely B, Jeffers S, Isacson R, Kutsch K, Wei-Tsao D, Yehoshua Z, et al. Liposomal doxorubicin: antitumor activity and unique toxicities during two complementary phase I studies. *J Clin Oncol*. 1995;13(7):1777-85.
25. O'Brien ME, Wigler N, Inbar M, Rosso R, Grischke E, Santoro A, et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX/Doxil) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol*. 2004;15(3):440-9.
26. Rahman AM, Yusuf SW, Ewer MS. Anthracycline-induced cardiotoxicity and the cardiac-sparing effect of liposomal formulation. *Int J Nanomedicine*. 2007;2(4):567-83.
27. Soloman R, Gabizon AA. Clinical pharmacology of liposomal anthracyclines: focus on pegylated liposomal Doxorubicin. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2008;8(1):21-32.
28. Nagore E, Insa A, Sanmartin O. Antineoplastic therapy-induced palmar plantar erythrodysesthesia ('hand-foot') syndrome. Incidence, recognition and management. *Am J Clin Dermatol*. 2000;1(4):225-34.
29. Gordon AN, Fleagle JT, Guthrie D, Parkin DE, Gore ME, Lacave AJ. Recurrent epithelial ovarian carcinoma: a randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin versus topotecan. *J Clin Oncol*. 2001;19(14):3312-22.
30. Kollmannsberger C, Mayer F, Harstnck A, Honecker F, Vanhbfber U, et al. Reduction of skin toxicity of pegylated liposomal doxorubicin (PLD) by concomitant administration of dexamethasone and pyridoxin in patients (pts) with anthracyclin-sensitive malignancies - A phase I/II trial (abstract 623P). *Ann Oncol*. 2000;11(suppl_4):136.
31. Putz G, Schmäh O, Eckes J, Hug MJ, Winkler K. Controlled application and scheduled removal of nanoparticle based chemotherapeutics (CARL) will reduce dose limiting adverse events in anticancer chemotherapy. *Med Hypotheses*. 2009;72(4):393-7.

32. Wilhelm S, Tavares AJ, Dai Q, Ohta S, Audet J, Dvorak HF, et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. *Nat Rev Mater*. 2016;1(5):16014.
33. Eckes J, Schmah O, Siebers JW, Groh U, Zschiedrich S, Rautenberg B, et al. Kinetic targeting of pegylated liposomal doxorubicin: a new approach to reduce toxicity during chemotherapy (CARL-trial). *BMC cancer*. 2011;11:337.
34. Charrois GJ, Allen TM. Multiple injections of pegylated liposomal Doxorubicin: pharmacokinetics and therapeutic activity. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;306(3):1058-67.
35. Agishi T, Kaneko I, Hasuo Y, Hayasaka Y, Sanaka T, Ota K, et al. Double filtration plasmapheresis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*. 1980;26:406-11.
36. Borberg H. 26 years of LDL--apheresis: a review of experience. *Transfus Apher Sci*. 2009;41(1):49-59.
37. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228-47.
38. EMA. Summary of product characteristics Caelyx (EPAR) 2014 [online] [cit. 2019-12-28]. Dostupné z: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000089/WC500020180.pdf.
39. Blaha M, Martinkova J, Lanska M, Filip S, Malakova J, Kubecek O, et al. Plasma filtration for the controlled removal of liposomal therapeutics - From the apheretic site of view. *Atheroscler Suppl*. 2017;30:286-93.
40. Lánská, M. Reoferéza - klinický význam reologických, technických a dalších hemaferetických ukazatelů účinnosti, nežádoucí účinky a ekonomika. [disertační práce]. Praha: Univerzita Karlova, Lékařská fakulta v Hradci Králové; 2018.
41. Bellott R, Pouna P, Robert J. Separation and determination of liposomal and non-liposomal daunorubicin from the plasma of patients treated with Daunoxome. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl*. 2001;757(2):257-67.
42. Druckmann S, Gabizon A, Barenholz Y. Separation of liposome-associated doxorubicin from non-liposome-associated doxorubicin in human plasma: implications for pharmacokinetic studies. *Biochim Biophys Acta*. 1989;980(3):381-4.
43. Robert J. Extraction of Anthracyclines from Biological Fluids for HPLC Evaluation. *J Liq Chromatogr*. 1980;3(10):1561-72.
44. Guppy AE, Rustin GJ. CA125 response: can it replace the traditional response criteria in ovarian cancer? *Oncologist*. 2002;7(5):437-43.
45. Rustin GJ, Quinn M, Thigpen T, du Bois A, Pujade-Lauraine E, Jakobsen A, et al. Re: New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors (ovarian cancer). *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(6):487-8.
46. NCI. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0 2009 [online] [cit. 2020-11-05]. Dostupné z: https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_8.5x11.pdf.
47. Klingel R, Fassbender C, Heibges A, Koch F, Nasemann J, Engelmann K, et al. RheoNet registry analysis of rheopheresis for microcirculatory disorders with a focus on age-related macular degeneration. *Ther Apher Dial*. 2010;14(3):276-86.

48. Blaha M, Ptak J, Cap J, Ceeova V, Masin V, Filip S, et al. WAA apheresis registry in the Czech Republic: two centers experience. *Transfus Apher Sci.* 2009;41(1):27-31.
49. Blaha M, Cermanova M, Blaha V, Blazek M, Maly J, Siroky O, et al. Safety and tolerability of long lasting LDL-apheresis in familial hyperlipoproteinemia. *Ther Apher Dial.* 2007;11(1):9-15.
50. Gabizon A, Catane R, Uziely B, Kaufman B, Safra T, Cohen R, et al. Prolonged circulation time and enhanced accumulation in malignant exudates of doxorubicin encapsulated in polyethylene-glycol coated liposomes. *Cancer Res.* 1994;54(4):987-92.
51. Amantea MA, Forrest A, Northfelt DW, Mamelok R. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of pegylated-liposomal doxorubicin in patients with AIDS-related Kaposi's sarcoma. *Clin Pharmacol Ther.* 1997;61(3):301-11.
52. Lyass O, Uziely B, Ben-Yosef R, Tzemach D, Heshing NI, Lotem M, et al. Correlation of toxicity with pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin (Doxil) in metastatic breast carcinoma. *Cancer.* 2000;89(5):1037-47.
53. Hong R-L, Tseng Y-L. Phase I and pharmacokinetic study of a stable, polyethylene-glycolated liposomal doxorubicin in patients with solid tumors. *Cancer.* 2001;91(9):1826-33.
54. Gabizon A, Tzemach D, Mak L, Bronstein M, Horowitz AT. Dose dependency of pharmacokinetics and therapeutic efficacy of pegylated liposomal doxorubicin (DOXIL) in murine models. *J Drug Target.* 2002;10(7):539-48.
55. Gabizon A, Isacson R, Rosengarten O, Tzemach D, Shmeeda H, Sapir R. An open-label study to evaluate dose and cycle dependence of the pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2008;61(4):695-702.
56. Arlt W, Hewison M. Hormones and immune function: implications of aging. *Aging Cell.* 2004;3(4):209-16.
57. Cusack BJ. Pharmacokinetics in older persons. *Am J Geriatr Pharmacother.* 2004;2(4):274-302.
58. Zamboni WC, Maruca LJ, Strychor S, Zamboni BA, Ramalingam S, Edwards RP, et al. Bidirectional pharmacodynamic interaction between pegylated liposomal CKD-602 (S-CKD602) and monocytes in patients with refractory solid tumors. *J Liposome Res.* 2011;21(2):158-65.
59. Ahmed N, Stenvers KL. Getting to know ovarian cancer ascites: opportunities for targeted therapy-based translational research. *Front Oncol.* 2013;3:256.
60. Papahadjopoulos D, Allen TM, Gabizon A, Mayhew E, Matthay K, Huang SK, et al. Sterically stabilized liposomes: improvements in pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(24):11460-4.
61. Bally MB, Masin D, Nayar R, Cullis PR, Mayer LD. Transfer of liposomal drug carriers from the blood to the peritoneal cavity of normal and ascitic tumor-bearing mice. *Cancer Chemother Pharmacol.* 1994;34(2):137-46.
62. Gusella M, Bononi A, Modena Y, Bertolaso L, Franceschetti P, Menon D, et al. Age affects pegylated liposomal doxorubicin elimination and tolerability in patients over 70 years old. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014;73(3):517-24.
63. Bollinger A, Pfister G, Hoffmann U, Franzeck UK. Fluorescence microlymphography in chronic venous incompetence. *Int Angiol.* 1989;8(4 Suppl):23-6.

64. Boers-Sonderen MJ, van Herpen CM, van der Graaf WT, Desar IM, van der Logt MG, de Beer YM, et al. Correlation of toxicity and efficacy with pharmacokinetics (PK) of pegylated liposomal doxorubicin (PLD) (Caelyx(R)). *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014;74(3):457-63.
65. Kubeček O, Martínková J, Chládek J, Bláha M, Maláková J, Hodek M, et al. Plasmafiltration as an effective method in the removal of circulating pegylated liposomal doxorubicin (PLD) and the reduction of mucocutaneous toxicity during the treatment of advanced platinum-resistant ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2020;85(2): 353-65.
66. Vail DM, Amantea MA, Colbern GT, Martin FJ, Hilger RA, Working PK. Pegylated liposomal doxorubicin: proof of principle using preclinical animal models and pharmacokinetic studies. *Semin Oncol.* 2004;31(6 Suppl 13):16-35.
67. Van Rooijen N. The Liposome-Mediated “Macrophage Suicide” Technique: A Tool to Study and Manipulate Macrophage Activities. In: Gregoriadis G, editor. *Liposome technology.* 3rd ed. New York: Informa Healthcare; 2007. p. 303-15.
68. Gordon AN, Granai CO, Rose PG, Hainsworth J, Lopez A, Weissman C, et al. Phase II study of liposomal doxorubicin in platinum- and paclitaxel-refractory epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2000;18(17):3093-100.
69. Mutch DG, Orlando M, Goss T, Teneriello MG, Gordon AN, McMeekin SD, et al. Randomized phase III trial of gemcitabine compared with pegylated liposomal doxorubicin in patients with platinum-resistant ovarian cancer. *J Clin Oncol.* 2007;25(19):2811-8.
70. Colombo N, Kutarska E, Dimopoulos M, Bae DS, Rzepka-Gorska I, Bidzinski M, et al. Randomized, open-label, phase III study comparing patupilone (EPO906) with pegylated liposomal doxorubicin in platinum-refractory or -resistant patients with recurrent epithelial ovarian, primary fallopian tube, or primary peritoneal cancer. *J Clin Oncol.* 2012;30(31):3841-7.
71. Ngoune R, Contini C, Hoffmann MM, von Elverfeldt D, Winkler K, Putz G. Optimizing Antitumor Efficacy and Adverse Effects of Pegylated Liposomal Doxorubicin by Scheduled Plasmapheresis: Impact of Timing and Dosing. *Curr Drug Deliv.* 2018;15(9):1261-70.

11 PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI AUTORA

Původní vědecké práce v impaktovaném časopise

1. Martínková J, Bláha M, **Kubeček O**, Maláková J, Špaček J, Bezouška J, Krulichová IS, Filip S. Plasmafiltration as a possible contributor to kinetic targeting of pegylated liposomal doxorubicin (PLD) in order to prevent organ toxicity and immunosuppression. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2016; 77(2): 429–37. **(IF 2,737)**
2. Blaha M, Martinkova J, Lanska M, Filip S, Malakova J, **Kubecek O**, Bezouska J, Spacek J. Plasma filtration for the controlled removal of liposomal therapeutics - From the apheretic site of view. *Atheroscler Suppl.* 2017; 30: 286–293. **(IF 3,078)**
3. **Kubeček O**, Martínková J, Chládek J, Bláha M, Maláková J, Hodek M, Špaček J, Filip S. Plasmafiltration as an effective method in the removal of circulating pegylated liposomal doxorubicin (PLD) and the reduction of mucocutaneous toxicity during the treatment of advanced platinum-resistant ovarian cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2020; 85(2): 353–365. **(IF 3,333)**
4. **Kubeček O**, Laco J, Špaček J, Kubečková A, Petera J, Selke Krulichová I, Bezrouk A, Filip S, Kopecký J. Clinicopathological Characteristics and Prognostic Factors in Ovarian (PDF) Clinicopathological Characteristics and Prognostic Factors in Ovarian Metastases from Right- and Left-Sided Colorectal Cancer. *Curr Oncol.* 2021; 28: 2914–292. **(IF 3,677)**
5. Kopecky J, **Kubecek O**, Buchler T, Melichar B, Poprach A, Zemanova M, Katolicka J, Kiss I, Hajek J, Studentova H, Spisarova M. Administration of Nivolumab in Metastatic Renal Cell Cancer Following Treatment With mTOR Inhibitors. *In Vivo.* 2021; 35(5): 2981–2990. **(IF 2,155)**
6. Kopecky J, **Kubecek O**, Priester P, Vosmikova H, Cermakova E, Kyllarova A. Prognostic value of blood cell count-derived ratios in BRAF-mutated metastatic melanoma [publikováno online]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2021; doi:10.5507/bp.2021.053. **(IF 1,245)**

Ostatní práce v impaktovaném časopise

1. Kopecký J, Trojanová P, **Kubeček O**, Kopecký O. Treatment possibilities of ipilimumab-induced thrombocytopenia—case study and literature review. *Jpn J Clin Oncol.* 2015; 45(4): 381. **(IF 1,889)**
2. **Kubeček O**, Trojanová P, Molnarová V, Kopecký J. Microsatellite instability as a predictive factor for immunotherapy in malignant melanoma. *Med Hypotheses.* 2016; 93: 74–6. **(IF 1,066)**
3. **Kubeček O**, Kopecký J. Microsatellite instability in melanoma: a comprehensive review. *Melanoma Res.* 2016; 26(6): 545–550. **(IF 2,615)**
4. Filip S, **Kubeček O**, Špaček J, Martínková J, Bláha, M. Extracorporeal apheresis system – A nanoparticle drugs' elimination method to enhance the benefit of cytostatic therapy in cancer patients. *J Appl Biomed.* 2016; 14(2): 91–96. **(IF 1,433)**

5. **Kubeček O**, Soukup T, Paulík A, Kopecký J. Dermatomyositis with anti-TIF-1 γ antibodies as a presenting symptom of underlying triple-negative breast cancer: a case report. *BMC Cancer*. 2016; 16(1): 684. **(IF 3,288)**
6. **Kubeček O**, Laco J, Špaček J, Petera J, Kopecký J, Kubečková A, Filip S. The pathogenesis, diagnosis, and management of metastatic tumors to the ovary: a comprehensive review. *Clin Exp Metastasis*. 2017; 34(5): 295–307. **(IF 3,455)**
7. Filip S, Vymetálková V, Petera J, Vodičková L, **Kubeček O**, John S, Čečka F, Krůpová M, Manethová M, Červená K, Vodička P. Distant Metastasis in Colorectal Cancer Patients- Do We Have New Predicting Clinicopathological and Molecular Biomarkers? A Comprehensive Review. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(15): 5255. **(IF 5,923)**
8. Filip S, **Kubeček O**, Špaček J, Lánská M, Bláha M, Martínková J. Therapeutic Apheresis, Circulating PLD, and Mucocutaneous Toxicity: Our Clinical Experience through Four Years. *Pharmaceutics*. 2020; 12(10): 940. **(IF 6,321)**
9. Vošmik M, Kopecký J, John S, **Kubeček O**, Lochman P, Banni AM, Hruška L, Sirák I. Combined Therapy of Locally Advanced Oesophageal and Gastro–Oesophageal Junction Adenocarcinomas: State of the Art and Aspects of Predictive Factors. *Cancers*. 2021; 13(18): 4591. **(IF 6,639)**
10. **Kubeček O**, Paterová P, Novosadová M. Risk Factors for Infections, Antibiotic Therapy, and Its Impact on Cancer Therapy Outcomes for Patients with Solid Tumors. *Life (Basel)*. 2021; 11(12): 1387. **(IF 3,817)**

Původní vědecké práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise

1. Kopecký J, Slováček L, Slováčková B, Šinkorová Z, Knížek J, Filip S, Trojanová P, **Kubeček O**, Kopecký O. Effect of Depressive Mood on NK Cells in Patients with Pancreatic Tumor – Pilot Study. *BJMMR*. 2016; 14(11): 1–8.

Ostatní práce v recenzovaném neimpaktovaném časopise

1. **Kubeček O**. Kazuistika: Výskyt grade IV neutropenie a febrilní neutropenie u pacientky s generalizovaným karcinomem prsu léčené paliativní chemoterapií cyklofosfamid/ Myocet. *Klin Onkol*. 2013; 26(2): 135–139.
2. Kubečková A, **Kubeček O**, Špaček J. Papilomavirové infekce v gynekologii. *Actual Gyn*. 2013; 5: 58–64.
3. Kopecký J, **Kubeček O**, Trojanová P, Kubala E, Kopecký O. Nežádoucí účinky novodobé léčby maligního melanomu a jejich léčba/management. *Klin Onkol*. 2014; 27(6): 393–400.
4. **Kubeček O**, Bláha M, Diaz-Garcia D, Filip S. Extracorporeal Elimination of Circulating Pegylated Liposomal Doxorubicin (PLD) to Enhance the Benefit of Cytostatic Therapy in Platinum-resistant ovarian Cancer Patients. *Acta Medica*. 2015; 58(1): 3–8.
5. Kopecký J, **Kubeček O**, Gabalec F, Hoffmann P, Sviliás I. Možná úskalí léčby ipilimumabem u maligního melanomu – kazuistika. *Klin Onkol*. 2015; 28(6): 444–9.

6. Kopecký J, Priester P, Molnárová V1, Trojanová P, **Kubeček O**, Slováček L, Kopecký O. Pohled klinického onkologa na pacienta s nádorem tlustého střeva ve vyšším věku. *Geri a Gero*. 2016; 5(2): 65–69.
7. Kopecký J, **Kubeček O**. Role BRAF/ MEK inhibice u metastazujícího maligního melanomu – kazuistika. *Klin Onkol*. 2016; 29(2): 133-8.
8. **Kubeček O**. Palbociklib v kombinaci s fulvestrantem prodlužuje přežití bez progresu u pacientek s hormonálně dependentním, HER2 negativním metastatickým karcinomem prsu po progresi na předchozí hormonální terapii – komentář ke studii PALOMA-3. *Klin Onkol*. 2017; 30(2): 137–140.
9. Kyllarová A, **Kubeček O**, Trojanová P, Molnárová V, Priester P, Kopecký J. Toxicita imunoterapie. *Onkologie*. 2017; 11(2): 83–87.
10. Kyllarová A, **Kubeček O**, Kopecký J. Nežádoucí účinky spojené s imunoterapií. *Onkologická revue*. 2017; 11: 58–62.
11. Kopecký J, **Kubeček O**. Pembrolizumab u předléčeného pacienta. *Farmakoterapie*. 2018; 14: 195–198.
12. **Kubeček O**. Palbociklib v léčbě karcinomu prsu. *Remedia*. 2018; 28: 353–356.
13. Kopecký J, **Kubeček O**. Současné možnosti imunoterapie maligního melanomu. *Onkologická revue*. 2018; 3: 45–53.
14. Kopecký J, **Kubeček O**, Žiaran M. Kompletní remise generalizovaného maligního melanomu léčeného nivolumebem, komplikovaná plicní toxicitou. *Farmakoterapie*. 2018; 14: 437–442.
15. Kopecký J, **Kubeček O**, Geryk T, Slováčková B, Hoffmann P, Žiaran M, Priester P. Nivolumab induced encephalopathy in a man with metastatic renal cell cancer: a case report. *J Med Case Rep*. 2018; 12(1): 262.
16. Kopecký J, **Kubeček O**, Geryk T, Podhola M, Žiaran M, Priester P, Hanisova M, Borilova S. Hepatic Injury Induced by a Single Dose of Nivolumab - a Case Report and Literature Review. *Klin Onkol*. 2019; 32(2): 133–138.
17. Kopecký J, **Kubeček O**. Jak zvládnout nežádoucí účinky imunoterapie. *Onkologie*. 2020; 14(Suppl. C): 6–12.
18. **Kubeček O**, Kopecký J. Reálně dostupné novinky v imunoterapii pohledem klinického onkologa pracujícího v ČR. *Onkologie*. 2020. 4(5): 199–204.

Kapitoly v monografiích

1. Louda M, Kovář T, **Kubeček O**, Vachata S, Špaček J. Radikální cystektomie, možnosti léčby, kvalita života. In: Matoušková M, Svoboda T (ed.) *Multimodální přístup k nádorům močového měchýře a prostaty*. Olomouc: Solen; 2017. s.76–84. ISBN 978-80-7471-216-6.
2. **Kubeček O**, Matoušková V. Paraneoplastické syndromy. In: Stěpanov A, Studnička J. (ed.) *Oční projevy systémových onemocnění*. Praha: Grada; 2021. s.194–198. ISBN 978-80-271-1683-6.

Přednášky na konferencích

1. **Kubeček O.** Case Report: Management of Localized Gastric Cancer. Brněnské onkologické dny, Brno, 10.–12. dubna 2019.

Plakátová sdělení

1. **Kubeček O**, Martínková J, Bláha M, Filip S. Plasma Filtration (PF) Effectively Removes Circulating Pegylated Liposomal Doxorubicin (PLD) and Modifies Chemotherapy-related Toxicity in Metastatic Ovarian Cancer. 25th Global Meet on Cancer Research and Oncology, Řím, Itálie, 20.–21.05.2019.
2. Kopecký J, **Kubeček O**, Priester P, Vošmiková H, Čermáková E. Prognostic value of blood cell count-derived ratios in BRAF mutated metastatic melanoma. 17th EADO Congress & 10th World Congress of Melanoma Interactive Virtual Meeting, Berlín, Německo, 15.17.4.2021.