

RADIOPROTEKTIVNÍ LÁTKA WR 2721: OD VOJENSKÉHO VÝZKUMU KE KLINICKÉMU VYUŽITÍ 2. část

Doc. MUDr. Pavel PETÝREK, CSc., doc. RNDr. Jiřina VÁVROVÁ, CSc.
Ústav radiobiologie a imunologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové
(rektor: plk. doc. MUDr. Svatopluk Býma, CSc.)

Farmakokinetické vlastnosti

Farmakokinetické vlastnosti WR 2721 byly sledovány na zvířecích modelech a ve velmi malém rozsahu i u lidí. Rozsáhle byly použity kapalinná chromatografie (12, 38) a scintilační techniky (10, 54) k detekci WR 2721 jeho metabolitů v plazmě nebo v moči. WR 2721 byl obvykle aplikován i. v. lidem a i. v. nebo i. p. zvířatům. WR 2721 není orálně aktivní.

Absorpce a distribuce

Distribuce WR 2721 u lidí nebyla adekvátně studována. U zvířat se WR 2721 a jeho metabolity vážou na proteiny plazmy (12, 43). Radioaktivně značený WR 2721 byl odpovídajícím způsobem vázán na plazmatické proteiny (asi 4 %) u 13 pacientů s ca. U myši max. tkáňové koncentrace aktivního metabolitu WR 1065 jsou dosaženy během 15 min po i. v. aplikaci WR 2721 (47). Ačkoli některé studie ukázaly, že vstup WR 1065 do normálních tkání je aktivní mechanismus (31, 53), jiné ukázaly, že je to pasivní proces (19, 40). Vstup je různý do různých tkání; je větší do ledvin, slinných žláz, střevní mukózy, jater a plic než do jiných tkání, je významně nižší do mozku a kosterního svalstva (2, 36, 46, 47, 50, 53).

Získané výsledky svědčí o tom, že intraduodenální aplikace neznačeného WR 2721 vede k získání velmi malých nebo neměřitelných plazmatických koncentrací nezměněné látky a jen velmi nízkým hodnotám volného a celkového WR 1065.

Tyto výsledky mohou být způsobeny:

1. nemožností WR 2721 přejít přes intestinální epitel,
2. degradací nebo metabolizováním v lumen GIT,
3. metabolizováním intestinálním epitelem,
4. extrakcí a metabolizováním při průchodu játry,
5. extrakcí a metabolizováním plicemi a jinými tkáněmi,
6. degradací v krvi.

Výsledky času plazmatické koncentrace po i. v. aplikaci WR 2721 svědčí o tom, že nedochází k jeho metabolizování plicemi, tkáněmi, kterými prochází, a krví.

Takže výsledky této studie odpovídají tomu, že:

1. Špatná membránová permeabilita a metabolizování střevním traktem a játry se pravděpodobně podílejí na ztrátě dostupnosti WR 2721 při perorální aplikaci.
2. Velká frakce intraduodenálně podaného WR 2721 dosáhne systémové cirkulace ve formě jiné, než je WR 2721, WR 1065 nebo disulfidové konjugáty WR 1065.
3. Jaterní extrakce WR 2721 vyjadřuje kinetiku nasycení.
4. Existuje komplex vztahů mezi systémovou dostupností WR 2721 a WR 1065 (28).

Hodnoty značeného WR 2721, které zjistil Yuhas (52) v séru za 5-10 min po i. p. aplikaci v dávce 200 mg/kg byly významně vyšší než ve výsledcích, kdy byla aplikovaná vyšší dávka 300 mg/kg i. p. Význam má zřejmě způsob odběru vzorků krve (11).

Po i. v. aplikaci WR 2721 (120-150 mg/kg) opicím *M. rhesus* plazmatické koncentrace nezměněné látky v rozsahu od 477 $\mu\text{g/mL}$ (2,23 mM) na zjiitelné minimum analytické metody (0,05 $\mu\text{g/mL}$, 2,23 μM) se snížily během 2-3 h po infuzi. Clearance v průměru $43,5 \pm 13,4 \text{ mL min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ a poločasem 20-60 min po infuzi byla 8-15 min (42).

Výsledky, které získali Utley aj. (47), jsou prvním přímým důkazem, že po aplikaci WR 2721 dochází ke vstupu WR 1065 do buněk, a dále dokazují, že vysoké hodnoty WR 1065 se objevují velmi brzy po i. v. aplikaci.

Defosforylace WR 2721 na WR 1065 je následována rychlou facilitovanou difuzí do buněk normálních tkání. Normální chráněné tkáně jsou kostní dřeň, ledviny, nervová tkáň, srdce, buňky střevních krypt a plicní tkáň (7).

Byla sledovaná i rychlost vstupu různých aminothiolů do savčích buněk pasivní difuzí. Ke vstupu aminothiolů majících tři a více ionizovaných aminoskupin nedochází pasivní difuzí. Studie importu WR 1065 do buněk čínské křečka V79-171 v mikromolárních hodnotách nemůže být vysvětlena pasivní difuzí (33).

Koncentrace látky byla největší v submandibulární žláze (47). Ačkoli koncentrace látky se zvyšuje rychle v dříve uvedených tkáních, pomalé zvyšování bylo zaznamenáno v srdci. Tkáňové koncentrace WR-1065 se také mění různou rychlostí v různých tkáních; koncentrace se rychle snižuje během

prvních 30 min v plicích (47) a kůži a velmi pomalu v játrech, přičemž koncentrace zůstávají vysoké po dobu až 3 h v slinných žlázách.

U zvířat je distribuce WR 2721 také heterogenní podle tkání; např. v kůži je mnoho absorbované látky zjišťováno v kritické germinální vrstvě. A dále relativní množství volné a nenavázané látky je různé v různých tkáních (54). Zdravé tkáně, kromě ledviny, zpočátku obsahují méně WR 2721 než sérum, ale jeho koncentrace jsou vyšší než v séru za (faktor 1,5-2,0) 15 min po aplikaci látky. Tkáňové koncentrace WR 2721 se rovnoměrně zvyšují s tím, jak se snižují koncentrace v séru.

U potkanů WR 2721 rychle prochází přes placentální bariéru a vstupuje do embrya (10). Koncentrace WR 2721 se zvyšují stejně jako v plazmě.

Radioprotektivní koxaláty intracelulárních koncentrací WR 1065 dosahují plató svědčící o tom, že část radioterapií vyvolaného poškození nemůže být ovlivněna WR 1065 (40).

WR 2721 a WR 1065 velmi rychle přecházejí z plazmy do buněk. Nebylo prokázáno, že by ascites nebo jiný třetí prostor mohl významně měnit jejich farmakokinetiku (24).

Farmakokinetika jedné i. v. dávky WR 2721 150 mg/m² byla sledována u 13 pacientů s karcinomem (36). Střední maximální koncentrace WR 2721 v krvi 12,5 μmol/L byla dosažena za 2 min u 3 pacientů. Nejvyšší maximum plazmatické koncentrace WR 2721 (0,100 a 0,235 mmol/L) bylo zjištěno u pacientů s karcinomem, kterým byla aplikována 15 min infuze 740 nebo 910 mg/m². Nemetabolizovaný WR 2721 měl malý objem distribuce při vyrovnaném stavu, což svědčí o tom, že látka je většinou udržována v krevním oběhu (primárně v plazmě) (37). WR 2721 byl rychle odstraněn z plazmy (průměrná clearance 2,17 L/min), jak ukázal krátký distribuční poločas (0,88 min) a pozorování, že méně než 10 % látky zůstává v tomto kompartmentu za 6 min po jednorázové aplikaci. Distribuční fáze odstranění WR 2721 z plazmy byla rychlá a reprezentuje převažující chování látky, přičemž eliminační fáze byla méně důležitá a nebyla přítomna u dvou pacientů. Stejný průměrný distribuční poločas (0,85 min) a rychlá clearance látky z plazmy (méně než 10 % aplikované dávky zůstává v plazmě za 6 min po ukončení infuze) byly pozorovány u 10 pacientů, kterým byla aplikována 15 min infuze WR 2721 740 mg/m² (38).

Metabolismus a eliminace

Existují údaje o metabolismu WR 2721 u lidí. Patří sem i výsledky in vitro studií, i když metabolismus WR 2721 u pacientů může být odlišný od toho, který je zde uveden. WR 2721 má eliminační poločas 1,5 a 2,7 min při aplikaci dávky 740 a 910 mg/m². In vitro analýzy ukázaly, že WR 2721 je metabolizován alkalickou fosfatázou tak, že je produkován aktivní metabolit WR 1065 a anorganický fosfát (6,

40). Intracelulárně je WR 1065 metabolizován na cysteamin a disulfidové formy, které jsou převážně WR 3378 a směs disulfidů, WR 1065 s cysteaminem, WR 1065 s cysteinem (6) a WR-1065 s glutathionem (37).

U pacientů bylo jen malé množství WR 2721 a jeho metabolitů vyloučeno ledvinami. Po jednorázové aplikaci WR 2721 v dávce 150 mg/m² močí bylo vyloučeno jako WR 2721 0,69 %, jako WR 1065 2,64 % a jako WR 33278 2,22 % (37). Stejně 1,05, 1,38 a 4,2 % těchto látek bylo vyloučeno močí u pacientů, kteří dostali 740 mg/m² WR 2721 v 15minutové infuzi (36). V této studii nebyl proveden dlouhodobý sběr moči a exkrece zbývajících 93 až 94 % aplikované dávky nebyla sledována.

Terapeutický potenciál

Ionizující záření působí bezprostřední poškození tkání tvořených z populací rychle se dělících buněk, jako je kostní dřev, kůže, epitel GIT. Toto poškození se manifestuje nepříznivými účinky, jako je pancytopenie, stomatitida, epilace, nauzea a zvracení.

Na modelu u psů bylo prokázáno, že WR 2721 stimuluje po jednorázové aplikaci krvetvorbu, což se projevuje zvýšením počtu leukocytů, destiček, retikulocytů a hematokritu. K průkazu tohoto stimulačního účinku byla provedena studie, kdy 4 skupinám pacientů s myelodysplastickým syndromem byl aplikován WR 2721 i. v. v dávkách 100, 200 a 400 mg/m² 3krát týdně nebo v dávce 740 mg/m² 1krát týdně po dobu 3 týdnů. U pacientů, kteří pozitivně reagovali na léčbu, byla léčba provedena v následujících týdnech celkem 6krát. Pozitivní odpověď byla pozorována u pacientů, kterým byly všechny dávky aplikovány 3krát týdně. Naproti tomu pozitivní odpověď nebyla pozorována po aplikaci nejvyšší dávky 1krát týdně. Při klonogenním testu bylo prokázáno, že WR 2721 je účinná stimulační látka multipotentních a erytroidních progenitorů, menší stimulace byla prokázána pro myeloidní progenitory. Aplikace WR 2721 byla dobře tolerována v dávkách menších než 400 mg/m², přičemž nauzea a zvracení byly limitující při aplikaci vyšších dávek a u většiny pacientů musely být dávky WR 2721 sníženy. Takže výsledky svědčí o tom, že i. v. aplikace WR 2721 v dávkách menších než 400 mg/m² 3krát týdně je dobře tolerována a stimuluje krvetvorbu u pacientů s myelodysplastickým syndromem (25).

Radioprotektivní potenciál

WR 2721 byl původně vyvinut k ochraně buněk před zářením u zdravých lidí, ale následně byl sledován i jeho radioprotektivní potenciál u pacientů s ca. Na základě výsledků získaných u pacientů, je možné extrapolovat některé poznatky do situací, kdy by byl WR 2721 použit za podmínek použití jaderných zbraní, ev. při haváriích jaderných energetických zařízení.

Účinnost WR 2721 při ochraně normálních tkání před radiačním poškozením při radioterapii byla sledována podle poškození krvinek (8, 9), normálních tkání pánve (26), poškození sliznice, funkce slinných žláz (29), rekurence nádoru a/nebo přežití (32).

WR 2721 také chrání před poškozením krvinek (9). Závažnost a frekvence poškození krvinek (hodnoceno podle počtu leukocytů a trombocytů) je větší, podle retrospektivní studie u pacientů s metastázujícím ca, kteří nedostali WR 2721, a těmi, kterým byl WR 2721 aplikován (55 vs 28 %), a tyto rozdíly byly větší (významné, $p < 0,01$) u pacientů, kteří byli ozáření dávkou 700 cGy. Radiační poškození krvinek zkracující život se projevilo jen u 2 pacientů bez WR 2721. Střední snížení počtů leukocytů a trombocytů z výchozích hodnot na nejnižší hodnoty nebylo mezi 2 skupinami významně rozdílné, ačkoli nejnižší hodnoty leukocytů byly dosaženy u pacientů s WR 2721 (během 1. vs 2. týdne) a normalizovaly se během 4 týdnů (100 vs 61 % výchozích hodnot před ozářením). Tyto výsledky snad svědčí o lepším přežití kmenových buněk krvinek u léčených než u neléčených pacientů. Větší dávky WR 2721 (750-900 mg/m²) chrání leukocyty a trombocyty ve větším rozsahu než WR 2721 600 mg/m², a to bez významných nepříznivých účinků.

Další poznatek o jeho účinnosti vyplývá z práce McDonalda a spol. (29). Ačkoli šlo jen o 9 pacientů, stimulované slinění se obnovilo na 27 % výchozí hodnoty, při poklesu na 11 % výchozí hodnoty po ≥ 45 Gy (1,8-2 Gy 5krát týdně) na velké slinné žlázy, u 8 pacientů, kterým byl aplikován WR 2721 100 mg/m² před ozářením. To ve srovnání s 0 ml/min a bez úpravy u zbyvajících pacienta, kterému nemohl být WR 2721 aplikován pro vznik hypotenze, nízký stupeň úpravy byl popsán i u dřívějších kontrol. Funkce gl. parotis se významně upravila na 54 % výchozí hodnoty za 18 měsíců po léčbě u příjemců WR 2721. Aplikace WR 2721 si v této oblasti zaslouží základní studii, protože WR 2721 se akumuluje ve slinných žlázách.

Ačkoli tyto studie ukázaly, že i. v. aplikace WR 2721 má protektivní účinek, existují jiné, které to nepotvrdily. Účinnost nebyla potvrzena u jedné malé studie se 7 pacienty s non-Hodgkinovými lymfomy nebo chronickou lymfocytární leukémií. WR 2721 v dávce 740 nebo 910 mg/m² byl aplikován 30 min před celotělovým ozářením dávkou 15 cGy 2krát týdně do celkové dávky 150 cGy. Ačkoli nedošlo ke zkrácení života nebo fatálnímu poškození krvinek, WR 2721 nezabránil vývoji 3. stupně poškození krvinek projevujícím se depresí počtu trombocytů u 4 z 5 pacientů s chronickou lymfatickou leukémií; tento efekt se neprojevil u 2 pacientů s non-Hodgkinovým lymfomem. Přínos aplikace WR 2721 proti samotnému ozáření nebyl pozorován při retrospektivní analýze u 83 pacientek s ca děložního čípku (32). Pětileté přežití, rekurence ná-

doru a incidence komplikací z rekta nebo močového měchýře vedoucích ke krvácení nebo vzniku fistuly byly stejné u 37 pacientek po aplikaci WR 2721 a 46 pacientek, které byly jen ozářeny. To, že aplikace WR 2721 neměla významný účinek na rekurenci nádoru nebo přežití u této skupiny a údaje, které uvádějí Liu a spol. (27), svědčí o tom, že WR 2721 nechrání tumory.

Kombinovaný radioprotektivní a chemoprotektivní potenciál

WR 2721 v dávce 400 mg/kg i. p. je účinná radioprotektivní látka chránící před radiačním poškozením sliznici myšího střeva vyvolaného kombinovaným působením ionizujícího záření a cis-diamminodichloroplatinou II (cis-DDP). Bylo prokázáno, že WR 2721 má nižší protektivní účinek při nižších než při vyšších dávkách ozáření. Výsledky prokázaly, že poškození sliznice vyvolané kombinací ozáření a cis-DDP může být pomocí WR 2721 redukováno, ale redukce se týká jen poškození vyvolaného zářením. Z toho vyplývá, že WR 2721 musí být aplikován před ozářením (21).

Sto pacientů s adenokarcinomem rekta bylo ozářováno s nebo bez WR 2721. WR 2721 byl aplikován v dávce 340 mg/m² 15 min před ozářením 4 dny v týdnu po dobu 5 týdnů. Vnitřní pánev byla ozářována dávkou 2,25 Gy na frakci do celkové dávky 45 Gy. Nebyla prokázána protekce nádoru po aplikaci WR 2721. Šedesát procent pacientů ze skupiny, které byl aplikován WR 2721, mělo úplnou odpověď ve srovnání s 10 % pacientů ze skupiny, která byla jen ozářována. Stav 12 pacientů ze 100 byl takový, že mohli být operováni, a u 8 byla operace provedena. U 7 pacientů se nádor neobnovil (27).

Existuje několik klinických studií o účinnosti WR 2721 u pacientů s chemoterapií a radioterapií. V jedné studii maximální tolerovaná dávka WR 2721 byla 825 mg/m² u 19 žen s ca děložního čípku, kterým byla aplikovaná cisplatina, externí ozáření a brachyterapie (49). Cisplatina byla aplikována v dávce 20 mg/m² denně po 5 dní každé tři týdny v kombinaci se zevním ozářením v dávce 39,6 Gy a pak v dávce 100 mg/m² po brachyterapii jako strategie zlepšení lokální účinnosti ozáření a snížení pozdního poškození léčbou. WR 2721 v dávce 340-910 mg/m² byl aplikován 15 min bezprostředně před infuzí cisplatin. Při srovnání s historickými kontrolami WR 2721 redukuje výskyt poškození krvinek, zářením vyvolané poškození sliznic a cisplatinou vyvolanou ototoxicitu, ale ne nefrotoxicitu.

Byl studován protektivní účinek WR 2721 aplikovaného i. p. a WR 151327 [S-3- (3-methylamino)propylphosphorothioic acid] aplikovaného per os před poškozením normálních tkání cytotoxickými látkami (např. mitomycin C, cis-DDP aj.). Výsledky svědčí o tom, že protekce před cytotoxickým účinkem byla stejná u obou látek i při rozdílném způsobu aplikace jak z hlediska myelotoxi-

city, tak z hlediska letality. Výsledky podporují vývoj WR 151327, tak aby tato látka mohla být využívána k perorálnímu podání v klinice (18).

Pacientům léčeným radiochemoterapií (2 Gy/den 5krát týdně do dávky 60 Gy a carboplatina 70 mg/m² 1.-5. den a 21.-25. den) byl aplikován WR 2721 v dávce 500 mg před léčbou carboplatinou. U pacientů, kterým byl aplikován WR 2721 došlo k významné redukci mukositivity, xerostomie a trombocytopenie (5).

Zhoršení funkce slinných žláz je významnou komplikací léčby vysokými dávkami radiojodu. Jako radioprotektivní látka byl králikům aplikován WR 2721 v dávce 200 mg/kg před aplikací radiojodu. WR 2721 byl aplikován i pacientům s ca štítné žlázy v dávce 500 mg před aplikací 6 Gbq ¹³¹I. Výsledky získané u laboratorních zvířat i u pacientů potvrdily, že po aplikaci WR 2721 došlo k významnému snížení poškození parenchymálních funkcí slinných žláz, což vede ke zlepšení kvality života pacientů po léčbě (4).

Byl studován radioprotektivní a chemoprotektivní účinek WR 2721 při chemoterapii a radioterapii neresekovatelného nemalobuněčného karcinomu plic. Pacientům byl WR 2721 aplikován v dávce 740 nebo 910 mg/m² před aplikací cisplatinou (120 mg/m²) 1. a 29. den. Před aplikací vinblastinu v dávce 120 mg/m² 1krát týdně po dobu 5 týdnů WR 2721 nebyl aplikován. Po chemoterapii byl WR 2721 v dávce 340 mg/m² aplikován 4krát v týdnu po 5 týdnů nebo 200 mg/m² 5 dnů v týdnu po dobu 6 týdnů 15 min před ozařováním hrudníku do celkové dávky 60 Gy za 6 týdnů. Získané výsledky svědčí o tom, že WR 2721 může být v uvedeném léčebném schématu aplikován bez nebezpečí, že zhorší odpověď na léčbu. Aplikace WR 2721 snižuje nefrotoxicitu vyvolanou cisplatinou a postradiální ezofagitidu (44).

Vysokodávková chemoterapie a radioterapie, i když je teoreticky účinnější, je spojena s poškozením normálních tkání a buněk. WR 2721 může chránit normální tkáně před těmito následky. Bylo prokázáno, že WR 2721 významně snižuje hematologickou, slizniční a renální toxicitu stejně jako poškození nervových tkání. To vede k tomu, že se významně zkracuje frekvence hospitalizace, střední doba hospitalizace a počet dnů, kdy je třeba podávat antibiotika (51).

Tolerance

Tolerance jednotlivých a opakovaných dávek WR 2721 aplikovaných 15-30 min před radioterapií byla sledována v řadě nekomparativních studií. Turrisi a spol. (45) popsali časté nepříznivé účinky WR 2721, jako jsou zvracení, hypotenze, spavost a kýchání u 201 pacientů, kteří obdrželi jednu dávku látky. Nepříznivé účinky nebyly popsány u dávek nižších než 250 mg/m², žádná pozdní orgánová toxicita nebyla pozorována u dávek 50-1330 mg/m²

a nedošlo k žádnému úmrtí ve vztahu k léčebnému použití WR 2721. Incidence zvracení nebo hypotenze byla významně větší u 122 pacientů, kterým byl aplikován WR 2721 konstantní rychlostí asi 14 až 20 mg/m²/min (doba infuze 5-120 min) ve srovnání se 79 pacienty, kterým byl WR 2721 aplikován během 15 min (57 vs 28 % a 23 vs 3 % pacientů). Větší dávky látky byly významně spojeny se zvýšením incidence zvracení a hypotenze. Hypotenze byla obvykle asymptomatická. Incidence WR 2721 vyvolaného zvracení může být redukována aplikací antiemetik dexametazonu a ondasetronu, jednak samotných, jednak v kombinaci. Byly aplikovány v mnoha pozdějších studiích s WR 2721. Např. 3. nebo 4. stupeň nauzey nebo zvracení se neprojevil během léčby paclitaxelem 135-270 mg/m² plus WR 2721 910 mg/m² plus dexametazon, ondasetron a lorazepam.

Je několik skupin pacientů, u kterých je vyšší incidence nepříznivých účinků. Zvracení se vyskytovalo významně častěji u žen (70 %) než u mužů (49 %), kterým byl aplikován WR 2721 v konstantní infuzi, ačkoli obě pohlaví obdržela stejné dávky látky (45). Dále pacienti s ca hlavy, krku, ezofagu či plic nebo ti, kterým byl krk předtím ozařován, s onemocněním a. carotis nebo hyperkalcémií měli větší riziko vývoje hypotenze (17). Somnolence byla významně vyšší u vyšších dávek WR 2721 u žen než u mužů (36 vs 18 % pacientů) a u černých a orientálních pacientů ve srovnání s bílými (41 vs 18 % infuzí). Kýchání se také vyskytovalo více u vyšších dávek WR 2721 u pacientů, kterým byla aplikována konstantní infuze látky (45).

Tolerance opakovaných dávek WR 2721 100 až 450 mg/m² aplikovaných během 5-9 min, 15-30 min před frakcionovanou radioterapií po 3-6 týdnů byla zjištěna u 84 pacientů (22). Jako ve studiích s jednorázovou aplikací zvracení (33 %), hypotenze (31 %), somnolence (13 %) a kýchání (17 %) byly nejčastější společně nepříznivé účinky. 24 % pacientů nedostalo pro nepříznivé účinky celé předpokládané schéma aplikací WR 2721. Všichni 4 pacienti, kteří obdrželi WR 2721 v dávce 450 mg/m² 4krát týdně po 5 týdnů měli těžkou hypotenzí a jen 1 ukončil celý kurz léčby. Z 15 pacientů, kteří měli dostat 340 mg/m² WR 2721 4krát týdně po dobu 3-5 týdnů, 14 % neukončilo léčbu pro nepříznivé účinky.

Profil nepříznivých účinků léčby popsany u dětí a mladých dospělých ve věku 3 až 24 let (průměr 15) byl stejný jako u dospělých (1).

Aplikace WR 2721 vyvolává hypotenzí asi u 20 % pacientů. V pokusech na potkanech bylo prokázáno, že WR 1065, ale ne WR 2721, vyvolává relaxaci izolovaného prstence aorty. Takže hypotenze po aplikaci WR 2721 je vyvolána WR 1065 a je výsledkem přímé relaxace hladké svaloviny aorty. Aplikace efedrinu, účinného adrenergního agonisty, ruší hypotenzí vyvolanou WR 2721 u anestetizovaných potkanů a může být využita k ovlivnění hy-

potenze u pacientů, která vzniká po aplikaci WR 2721 (35).

U všech klinických studií, které nebyly provedeny v Japonsku, WR 2721 působil hypotenzi, která trvala 5 min nebo se upravila po skončení infuze. Hypotenze vznikla u 0,3-67 % studií s WR 2721. Nausea a zvracení byly také často popsány a projevily se u 19 až 100 % pacientů a 54-82 % studií s WR 2721.

Ačkoli se tyto nepříznivé účinky často projevují u pacientů s cytostatickou léčbou, jejich incidence se zvyšovala také u pacientů léčených jen WR 2721. Například po WR 2721 a mitomycinu zvracelo 73 procent pacientů ve srovnání s 15 % pacientů, kteří zvraceli jen po WR 2721 (34). V některých studiích 17 až 35 % pacientů začalo kýchat v reakci na aplikaci WR 2721 (13-17). Jiné, méně významné společné účinky spojené s aplikací WR 2721 v těchto studiích zahrnovaly pocit chuti kovu (9, 22, 23), zčervenání v obličeji, které se obvykle objevuje při ukončení infuze (13-15), idiosynkratické reakce zahrnující horečku a/nebo vyrážku (22, 27), ochablost (22), somnolenci (13, 16, 34), škytavku (34) a pocit chladu. Byla také popsána hypokalcémie (13, 22, 49), která u jednoho pacienta vedla ke vzniku tetanie (49).

Dávkování a aplikace

Na základě dosud získaných výsledků je možno doporučit dávkování WR 2721 tak, aby byl iniciálně aplikován během 15 min v dávce 910 mg/m². WR 2721 by měl být aplikován 30 min před zahájením ozařování, ev. aplikaci cytotoxických látek v krátkodobé infuzi. Protože WR 2721 může působit hypotenzi, pacienti by měli být před začátkem léčby adekvátně hydratováni, arteriální krevní tlak by měl být během infuze monitorován a aplikace WR 2721 by měla být přerušena při poklesu tlaku z výchozí hodnoty. Léčba by měla pokračovat do celé dávky, pokud se tlak vrátí během 5 min na výchozí hodnotu a pacient je asymptomatický. Pokud nemohla být aplikována celá dávka WR 2721, pak by v následujícím léčebném cyklu měla být aplikována dávka 740 mg/m².

Antiemetická léčba by měla být aplikována před a s WR 2721. Protože bylo popsáno, že WR 2721 působí u některých pacientů hypokalcémií, pak by měla být monitorována i hladina sérového Ca u pacientů s rizikem jejího vzniku a u pacientů, kteří jsou pro hypokalcémií léčení. Pokud je to nezbytné, je možno provádět suplementaci Ca.

V nedávné studii u 19 dětí a mladých dospělých (3-24 let) bylo prokázáno, že mohou tolerovat významně vyšší (3krát) dávky WR 2721 než dospělí pacienti (1). Ačkoli maximálně tolerovaná dávka nebyla stanovena, pacienti obdrželi až 2700 mg/m² WR 2721: dávka WR 2721 doporučená pro budoucí studie u dětí byla 1650 mg/m². WR 2721 nebyl stejným způsobem sledován u starých pacientů ne-

bo u pacientů s renálním nebo jaterním onemocněním, protože pro tyto pacienty není doporučen.

Vedlejší účinky aplikace WR 2721 myšim jsou závislé na aplikované dávce. Dávka 200 mg/kg je relativně netoxická, i když byla pozorována hypotermie (48).

Místo WR 2721 v ovlivnění protinádorové terapie

Mnoho nepříznivých účinků navozených protinádorovou léčbou je léčeno tehdy, až se objeví. Např. infekce jsou léčeny antibiotiky a krevními transfuzemi k náhradě ztráty buněk krve. Zpoždění mezi ozářeními a výsledkem radiačního poškození vede k tomu, že jsou potřebné látky, které preventivně zabrání vzniku těchto nepříznivých následků. Krvetvorné růstové faktory, včetně erythropoetinu a GM-CSF, zrychlují úpravu kmenových buněk krvetvorby po ozáření. Ačkoli se tento příznivý efekt týká jen vybrané buněčné populace GM-CSF, má tendenci ztrácet účinnost při opakovaných léčebných cyklech (3, 20). Radiosenzibilizační látky, jako je misonidazol nebo kyslík, zvyšují citlivost nádoru k poškozujícímu vlivu radioterapie. Naproti tomu WR 2721 byl vyvinut k ochraně normálních tkání před poškozujícím vlivem radioterapie. WR 2721 také snižoval vznik záření navozeného vývoje sekundárních ca v preklinické studii.

Mnoho klinických studií s WR 2721 ukazuje ve srovnání s léčbou bez protekce, že WR 2721 redukoval výskyt záření vyvolaných poškození normálních tkání, včetně závažnosti a frekvence hematologických poškození, která mohou ohrozit život. Snižování vzniku pozdních radiačních poškození bylo také popsáno při použití WR 2721. WR 2721 snižuje výskyt všech komplikací vyvolaných cytotoxickými látkami. WR 2721 je účinný také u pacientů léčených cytotoxickými látkami a zářeními. Nikdy nebyla zjištěna protekce nádoru.

Protektivní efekt WR 2721 před poškozením krvetvorby cytotoxickými látkami byl studován jako přístup pro zlepšení přijetí kmenových buněk krvetvorby u pacientů s akutní lymfatickou leukémií nebo ca potřebujících transplantaci buněk kostní dřeně (30, 39, 41). To reprezentuje prostor pro budoucí využití WR 2721 jako adjuvantní léčby při léčení ca.

Hlavním dávkou limitujícím nepříznivým účinkem WR 2721 je hypotenze, i když je obvykle asymptomatická. Hypokalcémie vyžaduje u některých pacientů suplementaci kalciumem. Nausea a zvracení, nevítané a potenciálně limitující účinky, jsou také vyvolané WR 2721, i když mohou být kontrolovány antiemetiky, např. vysokými dávkami dexametazonu a ondasetronu. Malé dávky WR 2721, jejichž nepříznivým účinkem je horečka, mohou účinně chránit normální tkáň, když jsou kombinovány se stimulanty krvetvorby nebo jinými radiosenzitizery, jak je vidět z preklinických studií.

Závěr

WR 2721 se jeví jako slibný prostředek adjuvantní léčby pacientů léčených zářením. Redukuje výskyt poškození krevetvorby a některé jiné toxicity (neurotoxicitu, nefrotoxicitu) spojené s protinádorovou terapií.

Souhrn

WR 2721 byl původně vyvinut jako radioprotektivní látka pro vojenské použití v armádě USA. U lidí a zvířat chrání normální tkáně před radiačním poškozením. Protekce nádorů je obecně, ve srovnání s normálními tkáněmi, menší. WR 2721 snižuje poškození normálních tkání při radioterapii. Redukce radiačního poškození se manifestuje snížením výskytu a závažností infekčních komplikací a s neutropenií spojenou s horečkou a sepsí. Také počet dnů, kdy je nutná aplikace antibiotik, a délka hospitalizace se po aplikaci WR 2721 zkracují. Nepříznivé účinky spojené s aplikací WR 2721 jsou hypotenze, nauzea a zvracení, somnolence a kýchání.

U zvířecích modelů je WR 2721 selektivně defosforylován na WR 1065, který je absorbován buňkami normálních tkání. Aplikace WR 2721 chrání před časným i pozdním radiačním poškozením. Protekce normálních tkání byla největší, když byl WR 2721 aplikován 30 až 60 min před ozářením. Úroveň ochrany je různá u různých tkání a u mnoha tkání je snížena při nízkých dávkách ozáření nebo frakcionovaném ozáření. Po aplikaci WR 2721 dochází ke snížení mortality po celotělovém ozáření.

Ve srovnání s aplikací jen WR 2721 je radioprotekce zvýšena, když je WR 2721 aplikován s jinými látkami, včetně rekombinantního G-CSF. U pokusných zvířat WR 2721 také redukuje incidenci post-radiační karcinogeneze nebo mutagenese.

WR 2721 aplikovaný p. o. nemá radioprotektivní účinek. Po i. v. aplikaci jednorázově nebo v 15minutové infuzi je rychle (s poločasem asi 0,9 min) vychytáván z plazmy. WR 2721 se neváže na proteiny a u lidí i pokusných zvířat se rozděluje v různých tkáních heterogenně.

In vitro analýzy ukázaly, že WR 2721 je rychle metabolizován alkalickou fosfatázou na aktivní metabolit WR 1065 a neorganické fosfáty. Výsledkem metabolismu WR 2721 je skutečnost, že jen malá část (celkově asi 6 %) je vyloučena ledvinami jako nezměněná látka nebo její metabolity.

Literatura

- ADAMSON, PC., et al.: A phase I trial of amifostine (WR 2721) and melphalon in children with refractory cancer. *Cancer Res.*, 1995, vol. 55, p. 4069-4072.
- AFZAL, SMJ. - AINSWORTH, EJ.: Radioprotection of mouse colony forming units-spleen against heavy-charged particle damage by WR 2721. *Radiat. Res.*, 1987, vol. 109, p. 118-126.
- BAJORIN, DF., et al.: Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as an adjunct to conventional-dose ifosfamide-based chemotherapy for patients with advanced or relapsed germ cell tumors: a randomized study. *J. Clin. Oncol.*, 1995, vol. 13, no. 1, p. 79-86.
- BOGUSLAVIZKI, KH., et al.: Radioprotection of salivary glands by amifostine in high-dose radioiodine therapy. *J. Nucl. Med.*, 1998, vol. 39, p. 1237-1242.
- BUNTZEL, J., et al.: Radiochemotherapy eight amifostine cytoprotection for head and neck cancer. 1998, vol. 6, p. 155-160.
- CALABRO-JONES, PM., et al.: The limits to radioprotection of Chinese hamster V79 cells by WR-1065 under aerobic conditions. *Radiat. Res.*, 1998, vol. 149, p. 550-559.
- CAPIZZI, RL.: The preclinical basis for broad-spectrum-selective cytoprotection of normal tissues from cytotoxic therapies by amifostine (Ethyol). *Eur. J. Cancer*, 1996, pl 4, p. S5-16.
- COIA, LR., et al.: WR 2721 as cytotoxic and radioprotective agent in treatment of murine lymphoma with total body irradiation. *NCI Monogr.*, 1988, vol. 6, p. 235-239.
- CONSTANTINE, LS., et al.: Protection by WR 2721 of human bone marrow function following irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1986, vol. 12, p. 1505-1508.
- DAVIS, ME., et al.: Transplacental uptake of WR 2721 by rat embryo. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1987, vol. 13, p. 575-578.
- FAHEY, RC. - NEWTON, GL.: Measurement of WR-2721, WR-1065, and WR-33278 in plasma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1985, vol. 11, p. 1193-1197.
- GEARY, RS., et al.: Intraduodenal administration of ethiofos (WR 2721): dose proportionality study in the rhesus monkey. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1989, vol. 65, p. 147-159.
- GLOVER, D., et al.: Hypocalcemia and inhibition of parathyroid hormone secretion after administration of WR 2721 (a radioprotective and chemoprotective agent). *N. Eng. J. Med.*, 1983, vol. 309, p. 1137-1141.
- GLOVER, D., et al.: Phase I/II trials of WR 2721 and cisplatin. *Int. J. Oncol. Biol. Phys.*, 1986, vol. 12, p. 1509-1512.
- GLOVER, D., et al.: WR 2721 protect against the hematologic toxicity of cyclophosphamide: a controlled phase II trial. *J. Clin. Oncol.*, 1986, vol. 4, p. 584-588.
- GLOVER, D., et al.: WR 2721 and high-dose cisplatin: an active combination in the treatment of metastatic melanoma. *J. Clin. Oncol.*, 1987, vol. 5, p. 574-578.
- GLOVER, D., et al.: Clinical trials of WR 2721 and cisplatin. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1989, vol. 16, p. 1201-1204.
- GREEN, D., et al.: Preclinical evaluation of WR-15327: an orally active chemotherapy protector. *Cancer Res.*, 1994, vol. 54, p. 738-741.
- HARRIS, JW. - PHILLIPS, TL.: Radiobiological and biochemical studies of thiophosphate radioprotective compounds related to cysteamine. *Radiat. Res.*, 1971, vol. 46, p. 362-379.
- HOEKMAN, K., et al.: Effects of recombinant granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on myelosuppression induced by multiple cycles of high-dose chemotherapy in patients with advanced breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1991, vol. 83, p. 1546-1553.
- ITO, H., et al.: Protection by WR 2721 against radiation plus cis-diamminedichloroplatinum II caused injury colonic epithelium in mice. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1994, vol. 28, p. 899-903.
- KLIGERMAN, MM., et al.: Toxicity of WR 2721 administered in single and multiple doses. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, vol. 10, p. 1773-1776.
- KLIGERMAN, MM., et al.: Final report on phase I trial of WR 2721 before protracted fractionated radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1988, vol. 14, p. 1119-1122.
- KORST, AE., et al.: Pharmacokinetics of amifostine and its

- metabolites in the plasma and ascites of cancer patient. *Cancer. Chemother. Pharmacol.*, 1996, vol. 39, p. 162-166.
25. LIST, AF., et al.: Stimulation of hematopoiesis by amifostine in patients the myelodysplastic syndrome. *Blood*, 1997, vol. 90, p. 3364-3369.
26. LIU, T., et al.: Use of radiation with or without WR 2721 in advanced rectal cancer. *Cancer*, 1992, vol. 69, p. 2820-2825.
27. LIU, SC., et al.: Repression of c-myc gene expression by the thiol and disulphide forms of the cytoprotector amifostine. *Carcinogenesis*, 1997, vol. 18, p. 2457-2459.
28. MANGOLD, DJ., et al.: Disposition of the radioprotector ethiofos in the Rhesus monkey. Influence of route of administration. *Drug Metab. Dispos.*, 1989, vol. 17, no. 3, p. 304-400.
29. McDONALD, S., et al.: Preliminary results of a pilot study using WR 2721 before fractionated irradiation of the head and neck to reduce salivary gland dysfunction. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1994, vol. 29, p. 747-754.
30. MEAGHER, RC., et al.: Purging of small cell lung cancer cells from human bone marrow using ethiofos (WR 2721) and light-activated merocyanine 540 phototreatment. *Cancer Res.*, 1989, vol. 49, p. 3637-3641.
31. MILLAR, JL., et al.: The modification of melphalan toxicity in tumor bearing mice by S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid (WR 2721). *Am. J. Clin. Oncol. (CCT)*, 1982, vol. 5, p. 321-328.
32. MITSUHASHI, N., et al.: Clinical study of radioprotective effects of amifostine (YM-08310, WR 2721) on long-term outcome for patients with cervical cancer. *Int. J. Radiat. Biol. Phys.*, 1993, vol. 26, p. 407-411.
33. NEWTON, GL., et al.: Transport of aminothiols radioprotectors into mammalian cells: passive diffusion versus mediated uptake. *Radiat. Res.*, 1996, vol. 146, p. 206-215.
34. POPLIN, EA., et al.: Randomized clinical trial of mitomycin-C with or without pretreatment with WR 2721 in patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 1994, vol. 33, p. 415-419.
35. RYAN, SV., et al.: Hypotensive mechanisms of amifostine. *J. Clin. Pharmacol.*, 1996, vol. 36, p. 365-373.
36. SHAW, LM., et al.: Pharmacokinetics of WR 2721. *Pharmacol. Ther.*, 1988, vol. 39, p. 195-201.
37. SHAW, LM., et al.: Human pharmacokinetics of WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1986, vol. 12, p. 1501-1504.
38. SHAW, LM., et al.: Metabolic pathways of WR 2721 (ethylol, amifostine) in the Balb/c mouse. *Drug. Metab. Dispos.*, 1994, vol. 22, p. 895-902.
39. SHAPALL, E.J., et al.: Aminofostine (WR 2721) shortens the engraftment period of 4-hydroperoxycyclophosphamide-purged bone marrow in breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy with autologous bone marrow support. *Blood*, 1994, vol. 11, p. 3132-3137.
40. SMOLUK, GD., et al.: Radioprotection of cells in culture by WR 2721 and derivatives: form of the drug responsible for protection. *Cancer Res.*, 1988, vol. 48, p. 3641-3647.
41. SKALA, JP., et al.: Effects of ethiofos on cytotoxicity of pharmacological purging protocols used for autologous marrow grafts in acute lymphoblastic leukemia. *Prog. Clin. Biol. Res.*, 1992, vol. 377, p. 57-62.
42. SWYNNERTON, NF., et al.: A method for the combined measurement of ethiofos and WR-1065 in plasma: application to pharmacokinetic experiments with ethiofos and its metabolites. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1986, vol. 12, p. 1495-1499.
43. TABACHNIK, NF., et al.: Protein binding of N-2-mercaptoethyl-1,3-diaminopropane via mixed disulphide formation after oral administration of WR 2721. *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 1982, vol. 220, p. 243-246.
44. TANNEHILL, SP., et al.: Effect of amifostine on toxicities associated with sequential chemotherapy and radiation therapy for inresectable non-small-cell lung cancer: results of a phase II trial. *J. Clin. Oncol.*, 1997, vol. 15, p. 2850-2857.
45. TURRISI, AT., et al.: Final report of the phase I trial of single-dose WR 2721 [S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid]. *Cancer Treat. Rep.*, 1986, vol. 70, p. 1389-1393.
46. UTLEY, JF., et al.: Distribution of ³⁵S-labeled WR 2721 in normal and malignant tissues of the mouse. *Radiat. Res.*, 1976, vol. 68, p. 284-291.
47. UTLEY, JF., et al.: Pharmacokinetics of WR 1065 in mouse tissue following treatment with WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, vol. 10, p. 1525-1528.
48. Van der VIJGH, WJ. - PETERS, GJ.: Protection of normal tissues from the cytotoxic effects of chemotherapy and radiation by amifostine (Ethiol): preclinical aspect. *Semin. Oncol.*, 1994, vol. 21, pl 11, p. 2-7.
49. WALDER, S., et al.: Management of hypocalcemia effects of WR 2721 administered on a daily times five schedule with cisplatin and radiation therapy. *J. Clin. Oncol.*, 1993, vol. 11, p. 1517-1522.
50. WASHBURN, LC., et al.: Distribution of WR 2721 in normal and malignant tissues of mice and rats bearing solid tumors: dependence on tumor type, drug dose and species. *Radiat. Res.*, 1974, vol. 59, p. 475-483.
51. WREMBEL WARGOCKA, J., et al.: Kliniczne zastosowanie Amifostine (WR-2721) jako preparatu chroniacego zdrowe tkanki przed uszkodzeniami wywołanymi chemioterapia i radioterapia. *Przegl. Lek.*, 1996, vol. 53, p. 820-825.
52. YUHAS, JM., et al.: The role of WR 2721 in radiotherapy and/or chemotherapy. *Cancer Clin. Trials*, 1980, vol. 3, p. 211-216.
53. YUHAS, JM.: Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissues by S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid. *Cancer Res.*, 1980, vol. 40, p. 1519-1524.
54. YUHAS, JM., et al.: Variation in normal tissue responsiveness to WR 2721. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 1984, vol. 10, p. 1537-1539.

Klíčová slova: Ionizující záření; Radiační poškození; Radioprotekce; WR 2721; WR 1065; Amifostine; Kombinace radioprotektivních látek; Člověk; Laboratorní zvířata; Normální tkáně; Nádory; Radioterapie; Farmakodynamika; Monoterapie; Cytokiny; Hypokalcémie; In vitro.

Do redakce došlo 1. 6. 1999