

Profilaktyka zajęcia ośrodkowego układu nerwowego u chorych na chłoniaka rozlanego z dużych komórek B. Rekomendacje Polskiej Grupy Badawczej Chłoniaków (PLRG)

Sebastian Giebel¹, Jan Walewski², Elżbieta Nowara¹,
Jarosław Nieckula¹, Beata Ostrowska², Grzegorz Rymkiewicz³, Krzysztof Warzocha⁴,
Beata Stella-Hołowiecka⁵, Janusz Meder², Jerzy Hołowiecki¹

Chłoniak rozlany z dużych komórek B (DLBCL) jest najczęściej występującym podtypem chłoniaka. U około 5% chorych z tym rozpoznaniem dochodzi do nawrotu lub progresji w obrębie ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Szczególnie duże ryzyko dotyczy chorych z podwyższoną wyjściową aktywnością LDH w surowicy oraz obecnością co najmniej dwóch zmian pozawęzłowych. Zajęcie OUN występuje zazwyczaj w pierwszych miesiącach od rozpoznania, niezależnie od odpowiedzi na leczenie systemowe. Badania z zastosowaniem cytometrii przepływowej wskazują, że u chorych, u których dochodzi do wznowy w OUN, komórki nowotworowe są często obecne w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) już w momencie rozpoznania DLBCL. Uzasadnia to wykonywanie przesiewowych badań PMR z wykorzystaniem cytometrii przepływowej u chorych z obecnością czynników ryzyka i wdrożenie wyprzedzającego leczenia w przypadku wykrycia zajęcia OUN na poziomie subklinicznym.

Prophylaxis of Central Nervous System Involvement in Patients with Diffuse Large B-cell Lymphoma. Recommendations of the Polish Lymphoma Research Group

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most commonly diagnosed non-Hodgkin's lymphoma. Results of large retrospective studies indicate the risk of relapse within the central nervous system (CNS) at a level of approximately 5%, with elevated serum LDH and the presence of at least two extranodal sites being the major risk factors. Relapses in the CNS usually occur over the first few months after diagnosis, independently of the systemic response. Evaluation of cerebrospinal fluid with the use of flow cytometry has provided evidence that in a group of patients tumor cells may already be present at diagnosis, which predicts subsequent progression. These observations justify the use of flow cytometry as a screening test in patients at high risk of CNS relapse and implementation of preemptive treatment in all cases with subclinical CNS involvement.

Słowa kluczowe: chłoniak rozlany z dużych komórek B, ośrodkowy układ nerwowy, profilaktyka

Key words: diffuse large B cell lymphoma, central nervous system, prophylaxis

W przebiegu nowotworów układu chłonnego może dojść do pierwotnego lub wtórnego zajęcia ośrodkowego układu nerwowego (OUN), ze zmianami o charakterze opornym, miększowym lub mieszanym. Pierwotne, jawne klinicznie zajęcie OUN jest zjawiskiem sporadycznym,

podczas gdy częstość nawrotów w tej lokalizacji może dochodzić do 50% i zależy od histopatologicznego podtypu choroby. W przypadku najbardziej agresywnych rozrostów, takich jak białaczka limfoblastyczna (ALL)/ chłoniak limfoblastyczny (*lymphoblastic lymphoma* – LBL), czy chłoniak Burkitta (*Burkitt lymphoma* – BL), częstość nawrotów w OUN jest na tyle duża, że wymusza konieczność stosowania odpowiedniej profilaktyki [1]. Z kolei w przypadku chłoniaków indolentnych do zajęcia OUN dochodzi bardzo rzadko i tego typu postępowanie nie ma uzasadnienia. Kwestią sporną pozostają wskazania do profilaktyki nawrotu w OUN w przebiegu pozostałych rozrostów układu chłonnego, z których najczęstszy jest chłoniak rozlany z dużych komórek B – bliżej nieokreślony (*diffuse large B cell lymphoma* – *not otherwise specified*,

¹ Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach

² Klinika Nowotworów Układu Chłonnego

³ Zakład Patologii Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁴ Klinika Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

⁵ Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice

DLBCL-NOS). Według danych Polskiego Rejestru Chłoniaków DLBCL stanowi 22% nowych rozpoznanych chłoniaków, co oznacza około 1000 zachorowań rocznie w Polsce [2]. Raportowana w literaturze na przestrzeni ostatnich 15 lat częstość wznów w OUN w przebiegu DLBCL wynosi około 5% (2,1-10,4%), a rokowanie w przypadku takich nawrotów jest jednoznacznie złe [3-12]. Dane te uzasadniają podjęcie odpowiedniej profilaktyki, przy czym racjonalne podejście powinno zmierzać do wyselekcjonowania chorych, u których ryzyko nawrotu w OUN jest największe. W niniejszym opracowaniu przedstawiono dane epidemiologiczne, zasady rozpoznawania zajęcia OUN, czynniki ryzyka, a także opartą o przegląd literatury i opinie ekspertów Polskiej Grupy Badawczej Chłoniaków (PLRG) propozycję postępowania u chorych na DLBCL.

Występowanie nawrotów w OUN w przebiegu DLBCL – dane epidemiologiczne

Częstość nawrotów w OUN u chorych na DLBCL była przedmiotem kilkunastu retrospektywnych opracowań. Większość z nich obejmowała jednak grupy pacjentów definiowane na podstawie historycznych klasyfikacji histopatologicznych, takich jak: „Klasyfikacja Robocza” („Working Formulation”, WF), czy klasyfikacja Kilońska, w związku z czym precyzyjne odniesienie raportowanych danych do współcześnie obowiązującej klasyfikacji WHO jest trudne. Do części analiz włączano wszystkie chłoniaki agresywne, w tym LBL i BL, co mogło istotnie zaburzać interpretację danych epidemiologicznych. Dodatkową trudność w ocenie częstości zajęcia OUN stanowi fakt, że pacjenci byli leczeni według zróżnicowanych protokołów, z których część zawierała elementy profilaktyki nawrotu w OUN. Także diagnostyka zajęcia OUN nie była ujednolicona, co odnosi się zarówno do metod, jak i czasu, w którym były one stosowane.

W największym opracowaniu, pochodzącym z lat 80. XX wieku, w którym poddano analizie 592 pacjentów z „histiocytarnym, rozlanym, słabo zróżnicowanym chłoniakiem limfocytowym”, częstość nawrotów w OUN oszacowano na 6% [13]. W pracy Keldsen i wsp. z 1996 r., która obejmowała pacjentów z chłoniakami agresywnymi, w tym LBL i BL, wznowy w OUN stwierdzono u 5,4% spośród 498 chorych [3]. Jednorodna populacja 399 pacjentów z DLBCL, u których nie stosowano profilaktyki ukierunkowanej na zajęcie OUN, była przedmiotem analizy Feugier i wsp. [10]. Częstość nawrotów w OUN oszacowano na 5%. Podobne występowanie wznów w OUN (4,8%) raportowano w badaniu Boehme i wsp. u 1217 chorych na chłoniaki agresywne, w wieku powyżej 60 lat [11]. Istotnie większą częstość nawrotów w tej lokalizacji (10,4%) stwierdzono natomiast wśród 403 pacjentów z DLBCL w populacji japońskiej [12]. Z kolei mniejszą częstość (2,1%) raportowała Niemiecka Grupa Badawcza Agresywnych Chłoniaków Nie-Hodgkina (DSHNHL) [8]. Wyniki największych analiz retrospektywnych zestawiono w Tabeli I.

Rozpoznawanie zajęcia OUN w przebiegu DLBCL

Pierwotne lub wtórne zajęcie OUN może przebiegać w postaci mięsistej lub w obrębie opon mózgowo-rdzeniowych. Zmiany w tych lokalizacjach wiążą się zazwyczaj z obecnością objawów neurologicznych, z których najczęstsze to: zaburzenia zachowania, ból głowy, objawy porażenia nerwów czaszkowych, objawy obwodowej neuropatii czuciowej lub ruchowej, zaburzenia równowagi, drgawki i śpiączka [4]. W każdym wypadku należy dążyć do wykonania punkcji lędźwiowej, z oceną osadu płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR). Wykazanie w nim obecności komórek chłoniakowych jest podstawą rozpoznania. W przypadku obecności wyłącznie zmian mięsistych badanie PMR może dać wynik negatywny. W takiej sytuacji należy wykonać obrazowanie jądrowym rezonansem magnetycznym (NMR) i w razie stwierdzenia zmian budzących podejrzenie nacieku chłoniaka – dążyć do potwierdzenia histopatologicznego z materiału uzyskanego drogą biopsji stereotaktycznej. Obecność typowych objawów neurologicznych w skojarzeniu z obrazem NMR jest jednak przez niektórych autorów uznawana za wystarczającą. W wyjątkowych przypadkach rozpoznanie zajęcia OUN bywa stawiane wyłącznie w oparciu o symptomatologię.

Badanie cytologiczne PMR, będące podstawą diagnostyki zajęcia OUN w przebiegu NHL, jest metodą swoistą, cechuje się jednak ograniczoną czułością. Czułość badania może być zwiększona poprzez zastosowanie immunofenotypizacji komórek PMR z użyciem cytometrii przepływowej. W badaniu Hegde i wsp., w wyselekcjonowanej grupie pacjentów z agresywnymi chłoniakami z dużym ryzykiem zajęcia OUN, PMR poddawano równolegle ocenie cytologicznej i immunofenotypowej [14]. W momencie rozpoznania chłoniaka obecność komórek nowotworowych w PMR wykazano za pomocą cytometrii przepływowej u 11 chorych, spośród których tylko u jednego stwierdzono zajęcie OUN na podstawie oceny cytologicznej. Częstość jawnych klinicznie nawrotów w tej lokalizacji u chorych z dodatnim i ujemnym wynikiem cytometrycznym wyniosła odpowiednio 45% i 8%. Powyższe dane wskazują, że w momencie rozpoznania u części pacjentów z DLBCL w zajęcie OUN może mieć charakter subkliniczny. Cytometria przepływowa wydaje się w tych przypadkach najczulszą metodą diagnostyczną, o dużej wartości prognostycznej. Poniżej przedstawiono szczegóły techniczne, dotyczące zabezpieczenia PMR do badania cytometrycznego.

Badanie cytometryczne PMR powinno być wykonywane równolegle do badania cytologicznego w pracowni cytometrii przepływowej, współpracującej z kliniką. Nieskrwawiony PMR o objętości od 1,2 do 5 ml powinien być pobrany do jałowej próbówki i niezwłocznie dostarczony w temperaturze pokojowej do pracowni. W przypadku skrwawienia PMR, materiał należy pobrać do próbówki zawierającej K2EDTA (do badań cytometrycznych nie należy stosować heparyny jako antykoagulantu). Komórki DLBCL w PMR są bardzo wrażliwe i szybko giną (po 30 min. ginie 50% komórek, a po 1,5 godz. – 90%).

Tab. I. Badania retrospektywne dotyczące częstości występowania nawrotów w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu chłoniaków agresywnych, ze szczególnym uwzględnieniem chłoniaka rozlanego z dużych komórek B

Badanie	N	Populacja badana	Leczenie	Nawroty w OUN (%)	Czynniki ryzyka
Keldsen i wsp. (1996) [3]	498	Chłoniaki agresywne	Różne protokoły	5,4	LBL, BL Wiek <35 lat Objawy B Stadium IV Zajęcie jąder Zajęcie szpiku
van Besien i wsp. (1998) [4]	605	Chłoniaki agresywne	Różne protokoły	4,5	↑LDH ≥2 zmiany pozawęzłowe
Haioun i wsp. (2000) [5]	974	Chłoniaki agresywne	Różne protokoły	2,2	↑LDH ≥2 zmiany pozawęzłowe
Hollender i wsp. (2002) [6]	1120	Chłoniaki agresywne	CHOP lub MACOP-B	4,3	≥2 zmiany pozawęzłowe Wiek >60 lat Albuminy <35 g/l ↑LDH Zajęcie węzłów pozaotrzewnowych
Bernstein i wsp. (2009) [7]	899	Chłoniaki agresywne	Różne protokoły	2,8	≥2 zmiany pozawęzłowe IPI ≥3
Boehme i wsp. (2007) [8]	905	dlbcl	CHOP lub CHOEP	2,1	↑LDH* ≥2 zmiany pozawęzłowe
Tilly i wsp. (2003) [9]	501	dlbcl, wiek 61-69 lat	CHOP ACVBP	5,6	nie analizowano
Feugier i wsp. (2004) [10]	399	dlbcl, wiek 60-80 lat	CHOP +/- rituksymab	5,0	zły wyjściowy stan kliniczny ↑LDH
Boehme i wsp. (2009) [11]	1217	dlbcl	CHOP +/- rituksymab	4,8	≥2 zmiany pozawęzłowe objawy b
Shimazu i wsp. (2009) [12]	403	dlbcl	różne protokoły +/- rituksymab	10,4	wiek >60 lat ≥2 zmiany pozawęzłowe zajęcie szpiku ↑LDH

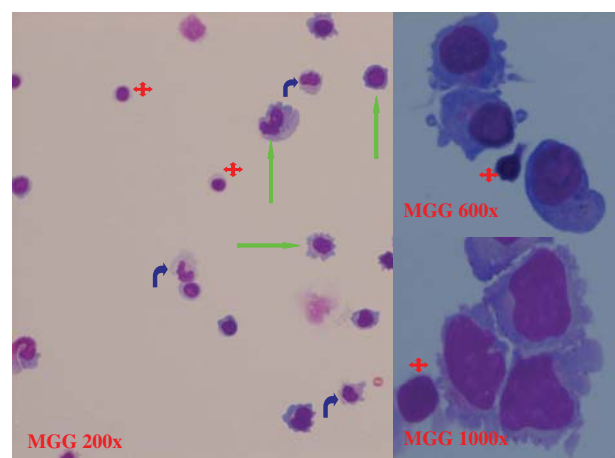
*analiza czynników ryzyka obejmowała szerszą populację 1711 pacjentów z chłoniakami agresywnymi

Można zastosować stabilizator PMR, umożliwiający transport PMR do innego laboratorium (Transfix, Immunostep SL).

Przygotowanie PMR do badania cytometrycznego różni się od standardowego znakowania komórek.

1. Do próbki z PMR należy dodać, natychmiast po jej otrzymaniu, PBS 2 ml i odwirować (1200 obr./min. przez 1-2 min). Dłuższe wirowanie uszkadza wrażliwe komórki chłoniaka, a pozostawia prawidłowe limfocyty T.
2. Pozostawia się 0,2-0,5 ml zagęszczonego PMR na dnie próbki do znakowania.
3. W celu oceny liczby komórek, do 10 μ L zagęszczonego PMR dodaje się 50 μ L rozcieńczonego błękitu trypanu w stosunku 1:5 w soli fizjologicznej i ocenia się mikroskopowo obecność komórek w komorze Bürker'a lub w komorze Fuchs Rosenthal'a. Od liczby komórek wybarwionych błękitem trypanu uzależniona jest ilość prób z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych.
4. Z około 50 μ l zagęszczonego w cytowirówce PMR wykonuje się badanie cytologiczne (komórki z osadu zagęszczonego PMR barwimy metodą May-Grünwald-Giemsa – preparat cytospinowy) (Ryc. 1).

Przykładową analizę cytometryczną komórek DLBCL w PRM zilustrowano na Rycinie 2.



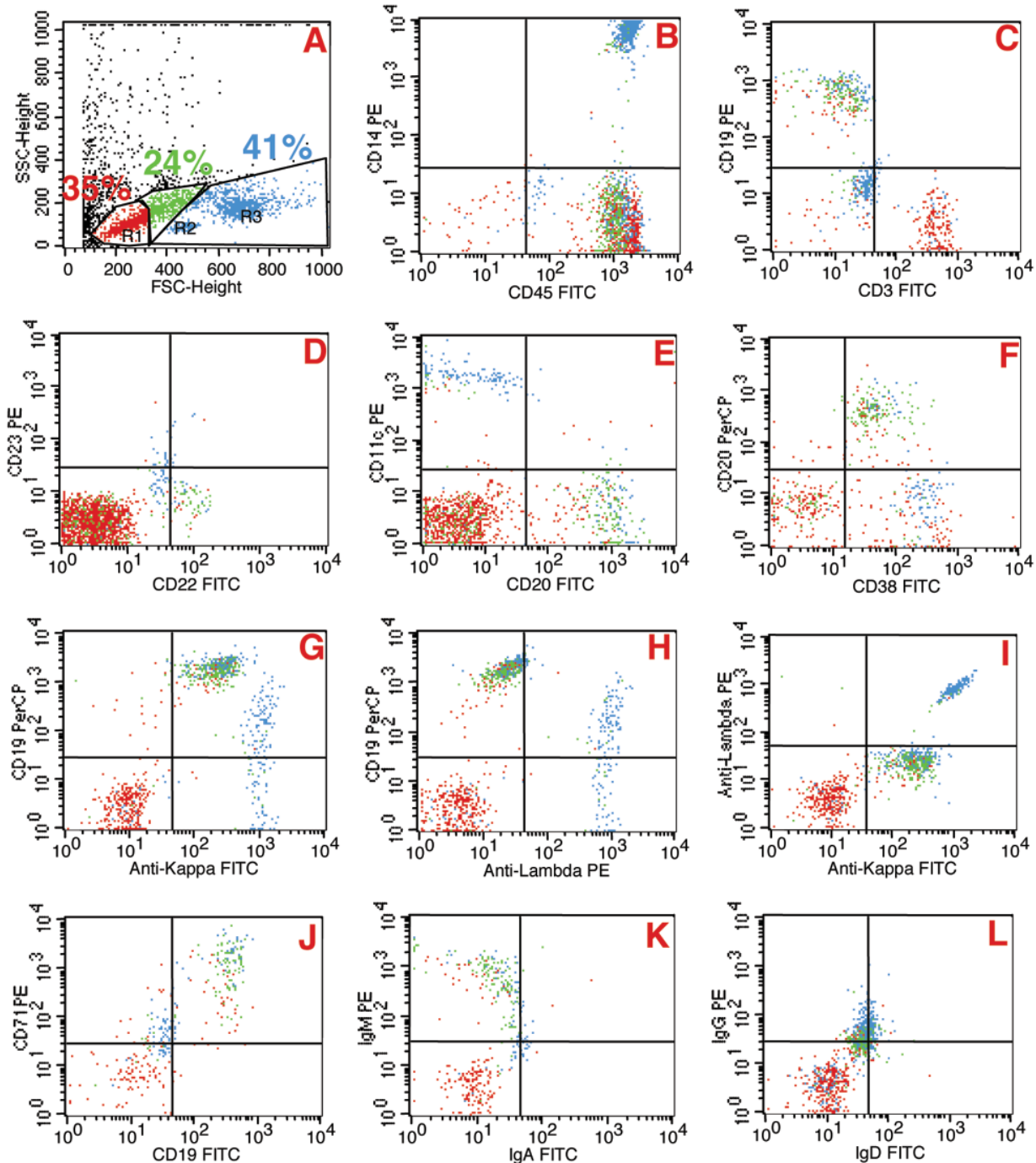
Ryc. 1. Preparat cytospinowy. Chłoniak DLBCL w osadzie zagęszczonego PMR. Na powiększeniu 200x widoczne komórki DLBCL (oznaczone zielonymi strzałkami), prawidłowe limfocyty T (oznaczone czerwonymi krzyżykami) i makrofagi (oznaczone zagiętymi niebieskimi strzałkami). Na powiększeniu 600x i 1000x widoczne duże komórki limfoidalne DLBCL o równomiernie rozproszonej chromatynie, wyraźnych jąderkach i obfitej niebiesko-szarej cytoplazmie. Widoczne wypustki cytoplazmatyczne i ziarnistości w pojedynczych komórkach. Dla porównania wielkości komórek i struktury chromatyny w obu powiększeniach (600x i 1000x) widoczny prawidłowy limfocyt T oznaczony czerwonym krzyżykiem (barwienie MGG 200x, 600x i 1000x)

Czynniki ryzyka występowania nawrotów w OUN w przebiegu DLBCL

Wpływ charakterystyki klinicznej w momencie rozpoznania

Nawroty w OUN w przebiegu DLBCL występują u stosunkowo niewielkiego odsetka pacjentów. Kluczowe jest

zatem określenie czynników prognostycznych celem zdefiniowania populacji, w której stosowanie odpowiedniej profilaktyki miałyby uzasadnienie. W szeregu prac, których przedmiotem była analiza czynników rokowniczych zajęcia OUN, brano pod uwagę międzynarodowy wskaźnik prognostyczny (*International Prognostic Index, IPI*) oraz poszczególne jego składowe, tj. wiek, stan kliniczny w momencie rozpoznania, aktywność dehydroge-



Ryc. 2. Analiza cytometryczna komórek chłoniaka typu DLBCL (kk. Neo.), prawidłowych limfocytów T (kk. T.) i makrofagów (M.) z PMR. A) Obraz FSS/SSC – widoczne są 3 grupy komórek różniących się między sobą wielkością: małe (czerwone, stanowiące 35%) – to kk. T.; średnie (zielone, stanowiące 24%) – to kk. Neo.; duże (niebieskie, stanowiące 41%) – to M.; B) CD45 vs CD14, kk. Neo. z nieco niższą ekspresją CD45+weaker niż kk. T. Makrofagi są CD45+/CD14+; C) CD19 vs CD3, kk. Neo. są CD19+, kk. T. są CD3+, a M. są CD19-/CD3-, zwraca uwagę wysoka wartość autofluorescencji M.; D) CD22 vs CD23 Kk. Neo. są CD22+/CD23-; E) CD20 vs CD11c, kk. Neo. są CD20+/CD11c-, M. są CD11c+/CD20-, a kk. T. są CD20-/CD11c-; F) CD20 vs CD38, kk. Neo. są CD20+/CD38+ weaker, M. są CD38+higher/CD20-, a kk. T. są CD38-/CD20-; G-I) kappa vs lambda vs CD19, kk. Neo. są CD19+/kappa+/lambda-, a M. łączą się w sposób nieswoisty z przeciwciałem anty-kappa i lambda; J) CD71 vs CD19, kk. Neo. są CD19+/CD71+higher (100% kk. Neo. jest CD71+), a M. są CD19-/CD71+weaker; K-L) IgM vs IgA vs IgD vs IgG, kk. Neo. są IgM+

nazy mleczanowej (LDH) w surowicy, stadium kliniczne według klasyfikacji z Ann Arbor oraz liczbę zmian pozawęzłowych. Przedmiotem poszczególnych analiz była też płeć, lokalizacja zmian chorobowych, parametry morfologii krwi oraz obecność objawów ogólnych.

We wszystkich publikowanych badaniach większa częstość nawrotów była skojarzona z występowaniem uznanych czynników ryzyka wznowy układowej, przy czym tylko w pracy Bernstein i wsp. wartość IPI ≥ 3 miała niezależne znaczenie prognostyczne w konfrontacji z poszczególnymi składowymi tego systemu (Tab. I) [3-8, 10-12]. Spośród wskaźników aktywności choroby najczęściej raportowanym czynnikiem ryzyka była aktywność LDH powyżej górnej granicy normy [4-6, 8, 10-12]. W analizie van Besien i wsp. czynnik ten był związany z prawdopodobieństwem nawrotu w OUN 9,8% wobec 1,1% przy prawidłowej aktywności LDH [4]. W badaniu Hollander i wsp. częstości te wynosiły odpowiednio 9,1% i 2,4% [6]. Spośród innych zmiennych związanych z zaawansowaniem chłoniaka, w pojedynczym badaniu wykazano znaczenie stadium klinicznego IV [3], a w dwóch pracach – obecności objawów ogólnych [3, 11]. Wyniki powyższych analiz wskazują, że nawrót w obrębie OUN może być konsekwencją dużej wyjściowej aktywności choroby, niekoniecznie jest więc sam w sobie cechą charakterystyczną, związaną z biologią chłoniaka.

Z drugiej strony, niezależnie od klinicznego zaawansowania choroby, istotny wpływ na częstość nawrotów w OUN miała lokalizacja zmian chłoniakowych. Wyniki prawie wszystkich analiz retrospektywnych wskazywały na obecność co najmniej dwóch zmian pozawęzłowych jako niezależny czynnik ryzyka [4-8, 11, 12] (Tab. I). Przy jego występowaniu prawdopodobieństwo wznowy w OUN sięgało 12,1% w analizie Hollander i wsp. [6], czy 13,3% w badaniu van Besien i wsp. [4]. Na częstość zajęcia OUN wpływała też lokalizacja anatomiczna zmian pozawęzłowych. Już w latach 80. raportowano prawdopodobne skojarzenie zajęcia OUN z pierwotnym umiejscowieniem chłoniaka w jądrze [15]. Obserwacje te zostały potwierdzone przez Keldsen i wsp., którzy w retrospektywnej analizie wielowariantowej wykazali znaczenie prognostyczne zajęcia jąder dla nawrotów w OUN [3]. Największą do tej pory grupę badaną przedstawili Zucca i wsp. w imieniu Międzynarodowej Grupy Badawczej Chłoniaków Pozawęzłowych [16]. W populacji 373 pacjentów z chłoniakiem jądra, obejmującej różne podtypy histopatologiczne, spośród których 255 otrzymywało leczenie obejmujące stosowanie antracyklin, nawroty w OUN rozpoznano u 56 (15%) chorych. Autorzy stwierdzili ponadto, że w tej grupie pacjentów zajęcie OUN dotyczy względnie częściej mięszu niż opon mózgowo-rdzeniowych [16]. Do innych rzadkich lokalizacji DLBCL, kojarzonych z nawrotem w OUN, należą zatoki przynosowe, okolica oczodołowa, gruczoł piersiowy i przestrzeń nadtwardówkowa [17]. W tych wypadkach związek z zajęciem OUN jest jednak znacznie słabiej udokumentowany. Wczesne raporty wskazywały na zajęcie szpiku jako czynnik ryzyka nawrotu w OUN [3, 13, 18, 19]. W analizach tych nie uwzględniano jednak

poziomu LDH. Wydaje się więc, że lokalizacja szpikowa była w tym wypadku raczej ogólnym wykładnikiem stopnia zaawansowania choroby, a nie czynnikiem swoiście predysponującym do zajęcia OUN. Lee i wsp. przeprowadzili wybiórczą analizę pacjentów z DLBCL z pierwotną lokalizacją szpikową [20]. W grupie 88 chorych, podwyższona aktywność LDH okazała się jedynym niezależnym czynnikiem ryzyka nawrotu w OUN.

Podsumowując, w przebiegu DLBCL ryzyko nawrotu w OUN jest zależne od wyjściowej aktywności choroby, której najlepszym wykładnikiem jest poziom LDH w surowicy, oraz skłonności chłoniaka do zajmowania umiejscowień pozawęzłowych, ze szczególnym uwzględnieniem jądra.

Wpływ leczenia systemowego

Przedmiotem kilku opracowań było określenie wpływu stosowanej terapii systemowej na częstość występowania nawrotów w obrębie OUN. W badaniu DSHNHL retrospektywnie analizowano częstość nawrotów w OUN u pacjentów leczonych w ramach prospektywnego badania, porównującego skuteczność CHOP (cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna, prednizon) i CHOEP (CHOP + etopozyd), podawanych w rytmie 14- lub 21-dniowym [8]. Stwierdzono, że stosowanie etopozydu, bez względu na gęstość dawki, wiąże się z mniejszym ryzykiem wznowy w OUN (współczynnik ryzyka = 0,4; zakres 0,2-0,9), co jednak nie przekładało się na prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia. W retrospektywnym badaniu van Besien i wsp. stosowanie CHOP w skojarzeniu z bleomycyną naprzemiennie z kursami OPEN (winkrystyna, prednizon, etopozyd, mitoksantron) skutkowało mniejszą częstością nawrotów w OUN (1,5%), w porównaniu z innymi metodami leczenia (6,5%) [4].

Współczesny standard leczenia DLBCL uwzględnia immunochemioterapię z zastosowaniem przeciwciała monoklonalnego anty-CD20 – rituksymabu [21]. W analizie Francuskiej Grupy Badawczej Chłoniaków u Dorosłych (GELA) nie stwierdzono istotnych różnic częstości wznów w OUN, zależnych od stosowania rituksymabu w skojarzeniu z chemioterapią CHOP u chorych w wieku 60-80 lat [22]. Z drugiej strony w badaniu grupy niemieckiej, obejmującym populację 1217 pacjentów leczonych w ramach badania klinicznego RICOVER-60, wykazano znamienne mniejszą częstość nawrotów w OUN u chorych leczonych programem R-CHOP-14 (4,1%), w porównaniu z ramieniem CHOP-14 (6,9%), nie uwzględniającym stosowania rituksymabu [11]. Wydaje się więc, że bardziej intensywne leczenie systemowe, w tym wprowadzenie przeciwciał monoklonalnych, może przyczynić się do mniejszego ryzyka wtórnego zajęcia OUN. Wynika to jednak prawdopodobnie z lepszej całościowej kontroli choroby, a niekoniecznie z bezpośredniego oddziaływania leków w obrębie ośrodkowego układu nerwowego.

Wpływ profilaktyki ukierunkowanej na ośrodkowy układ nerwowy

Profilaktyka wtórnego zajęcia OUN może obejmować dokanałowe stosowanie cytostatyków, dożylnie podawanie leków przekraczających barierę krew-mózg, a zwłaszcza odpowiednio dużych dawek metotreksatu lub cytarabiny, oraz napromienianie. W praktyce klinicznej u chorych na NHL w ramach profilaktyki stosowane są głównie pierwsze dwie opcje. Najczęściej stosowanymi lekami dokanałowymi są: metotreksat, cytarabina i glikokortkosteroidy (deksametazon, prednizolon, lub hydrokortyzon).

Grupa GELA przeprowadziła prospektywne badanie, porównujące protokół ACVBP (doksorubicyna, cyklofosfamid, windezyna, bleomycyna, prednizon) z CHOP u chorych na agresywne chłoniaki nieziarnicze, z grupy wysokiego ryzyka, w wieku 61-69 lat [9]. W ramieniu ACVBP po 4 kursach indukcji, skojarzonych z dokanałowym stosowaniem metotreksatu (15 mg), pacjenci otrzymywali 2 cykle metotreksatu dożylnie w dawce 3 g/m² i 4 kursy etopozydu w skojarzeniu z ifosfamidem. Częstość nawrotów u chorych leczonych ACVBP wyniosła 2,7% wobec 8,3% w grupie CHOP. Znamienne różnice stwierdzono też w odniesieniu do 5-letniego prawdopodobieństwa przeżycia wolnego od choroby (62% vs 44%) i całkowitego przeżycia (46% vs 38%) [9]. Wyniki te wskazują, że stosowanie bardziej intensywnych protokołów terapii systemowej, zawierających duże dawki leków penetrujących do OUN, w skojarzeniu z profilaktyką dokanałową, może przyczynić się do zmniejszenia ryzyka nawrotu w tej lokalizacji.

W retrospektywnym badaniu Arkenau i wsp. 51 pacjentów z grupy wysokiego ryzyka (zajęcie szpiku, jąder, zatok przynosowych, oczodołów lub kości) spośród populacji 259 chorych (19,7%) na DLBCL otrzymywało profilaktykę dokanałową, głównie w formie monoterapii metotreksatem 12,5 mg [23]. Łączna liczba iniekcji wyniosła 3 (zakres 1-7). Pomimo stosunkowo niewielkiej intensywności stosowanej profilaktyki prawdopodobieństwo nawrotu w OUN w całej grupie wyniosło zaledwie 1,1%. Rola profilaktyki dokanałowej była też przedmiotem badania grupy japońskiej, w jakim porównano wyniki leczenia 29 pacjentów, którzy w ramach profilaktyki otrzymywali dokanałowo metotreksat 15 mg/m² i hydrokortyzon 10 mg/m² (łącznie 4 iniekcje) z 39 chorymi, u których nie stosowano cytostatyków dokanałowo [24]. Częstość nawrotów w OUN w obu grupach wyniosła odpowiednio 0% i 15%. Z kolei w analizie retrospektywnej badania RICOVER-60 stosowanie dokanałowe metotreksatu u chorych z grupy wysokiego ryzyka wiązało się ze zmniejszeniem częstości nawrotów w OUN z 4,4% do 2,5% [11]. Efekt ten był jednak obserwowany wyłącznie w ramieniu CHOP-14, a nie wśród pacjentów leczonych R-CHOP-14. Powyższe dane wskazują, że dokanałowe podawanie cytostatyków u chorych w wybranej grupie wysokiego ryzyka może być skuteczną metodą zapobiegania nawrotom w OUN w przebiegu DLBCL. Dane te nie pozwalają jednak na jednoznaczne określenie opty-

malnego protokołu profilaktyki u chorych poddanych systemowej, intensywnej immunochemioterapii.

Badanie amerykańskiej Południowo-Zachodniej Grupy Onkologicznej (SWOG 8516) zakładało randomizację do jednego z czterech ramion terapeutycznych: CHOP, MACOP-B, ProMACE-CytaBOM lub m-BACOD [7]. Chorzy w dwóch ostatnich grupach, u których stwierdzano pierwotne zajęcie szpiku, po 4 kursach chemioterapii systemowej otrzymywali napromienianie całego mózgowia w dawce 24 Gy. Analiza statystyczna nie wykazała wpływu rodzaju protokołu cytostatycznego ani profilaktycznej radioterapii na częstość nawrotów w OUN. Jako że większość nawrotów następowała wcześniej (mediana 5,4 miesiąca od rozpoznania), wydaje się, że profilaktyka w tej formie jest niewłaściwa, co może się odnosić zarówno do metody, jak i czasu jej stosowania.

Przebieg kliniczny u chorych z nawrotem w OUN

Wyniki badań retrospektywnych wskazują, że w przypadku braku odpowiedniej profilaktyki, nawroty chłoniaka w obrębie OUN następują we wczesnym okresie choroby, często jeszcze w trakcie leczenia systemowego pierwszej linii. W analizie badania SWOG 8516, mediana czasu od rozpoznania do wystąpienia wznowy w OUN wyniosła 5,4 miesiące (zakres 0,6-18,3 miesięcy) [7]. U ponad połowy pacjentów nawrót stwierdzono jeszcze w czasie trwania chemioterapii dożylniej, przy czym jego wystąpienie było niezależne od dobrej ogólnoustrojowej odpowiedzi na leczenie. W analizie van Besien i wsp. mediana czasu do wznowy w OUN wyniosła 6 miesięcy (maksymalnie 13 miesięcy) [4]. W badaniu Tilly i wsp. 77% nawrotów w OUN wystąpiło w okresie stosowania chemioterapii systemowej, przy czym 71% miało charakter izolowany, przy dobrej układowej odpowiedzi na leczenie [9]. W 60% przypadków nawrót miał charakter oponowy, w 23% – miąższowy, a w pozostałych 17% przypadków – mieszany. Wczesne występowanie nawrotów w OUN sugeruje, że zajęcie tego narządu w formie subklinicznej może być obecne już w momencie rozpoznania, co w istocie potwierdzają badania z wykorzystaniem cytometrii przepływową [14].

Leczenie nawrotu w OUN może obejmować dokanałowe stosowanie cytostatyków, chemioterapię układową i napromienianie ośrodkowego układu nerwowego, przy czym wybór strategii powinien uwzględniać lokalizację zmian. Jednak, bez względu na rodzaj stosowanego leczenia, rokowanie pacjentów z nawrotem w OUN jest złe. W analizie badania SWOG 8516, które obejmowało pacjentów leczonych w latach 1986-1991, mediana przeżycia chorych od stwierdzenia nawrotu w OUN wyniosła 2,2 miesiąca, a szacowane prawdopodobieństwo przeżycia po dwóch latach – 0% [7]. W badaniu grupy niemieckiej, odnoszącym się do pacjentów leczonych w latach 1990-2000, mediana przeżycia wyniosła 4,4 miesiące, a trzyletnie prawdopodobieństwo przeżycia – 11% [8]. W obu cytowanych analizach rokowanie pacjentów z nawrotem w obrębie OUN było znamienne gorzej, w porównaniu

z chorymi z pierwotną opornością lub wznową w innych lokalizacjach.

Leczenie systemowe w skojarzeniu z napromienianiem OUN jest metodą z wyboru w przypadku wystąpienia zmian mięszkowych, jakkolwiek jest też stosowane w przypadku zajęcia opon mózgowo-rdzeniowych. Najczęściej stosuje się napromienianie całego mózgowia w dawce 40-50 Gy.

Strategia zapobiegania nawrotom w obrębie OUN

W obliczu złych wyników leczenia chorych na DLBCL, u których doszło do wznowy w obrębie OUN, istotne wydaje się wdrożenie odpowiednich procedur zapobiegawczych. Jako że częstość nawrotów w OUN jest stosunkowo niewielka, a populacja pacjentów z DLBCL duża, ze względów praktycznych i ekonomicznych program profilaktyki powinien dotyczyć wybranej grupy ryzyka. Van Besien i wsp. zaproponowali model uwzględniający dwa najczęściej raportowane czynniki: podwyższoną aktywność LDH (stwierdzaną u 50% chorych) i obecność co najmniej 2 zmian pozawęzłowych (stwierdzaną u 20% pacjentów) [4]. Oba czynniki występowały jednocześnie u 15,4% chorych, co wiązało się z 20% prawdopodobieństwem wznowy w OUN. Stosowanie profilaktyki w tej grupie chorych jest więc w pełni uzasadnione. Z drugiej strony, w analizowanym materiale klinicznym spośród 24 nawrotów w OUN, tylko 11 wystąpiło w tak zdefiniowanej grupie chorych. A zatem profilaktyka ograniczona do pacjentów z obecnością obu czynników ryzyka nie objęłaby połowy chorych narażonych na wystąpienie nawrotów w OUN. Z kolei, gdyby profilaktykę stosować u wszystkich pacjentów z obecnością co najmniej jednego czynnika ryzyka, programem trzeba by objąć większość z łącznej populacji chorych na DLBCL [4].

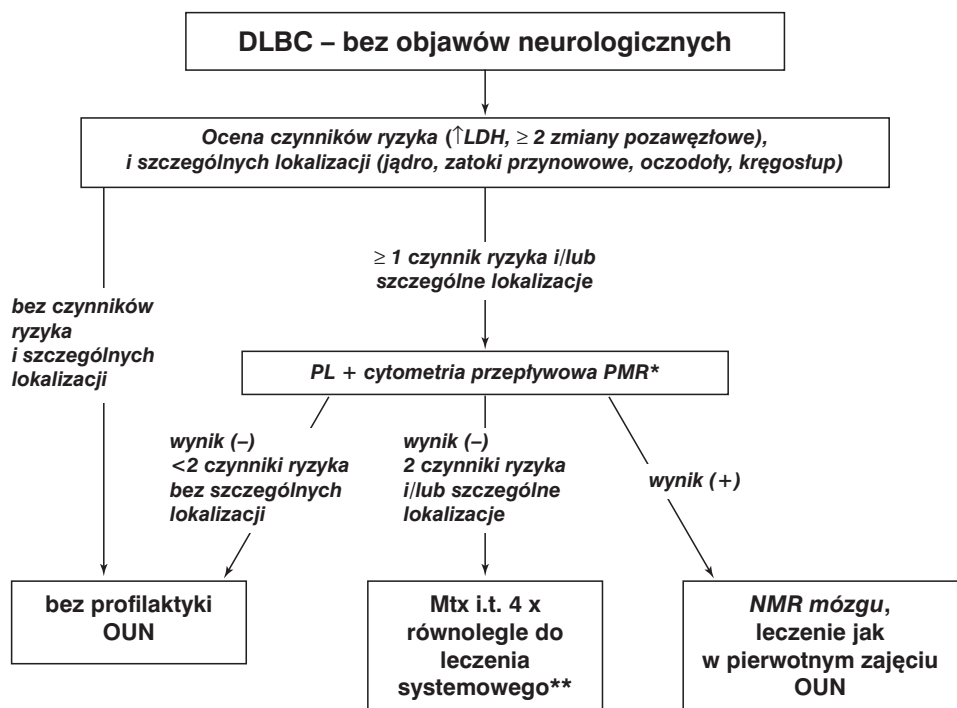
Wobec braku systemu prognostycznego, który cechowałby się jednocześnie dużą czułością i swoistością, racjonalną alternatywą wydaje się strategia postępowania wyprzedzającego, zmierzającego do wykrycia zajęcia OUN na poziomie subklinicznym. Właściwym dla tego celu narzędziem jest cytometria przepływową, cechująca się znacznie większą czułością w porównaniu z tradycyjnym badaniem cytologicznym. W opinii ekspertów PLRG pierwsze badanie PMR z analizą cytometryczną powinno być wykonane przed rozpoczęciem leczenia systemowego i dotyczyć szerokiej grupy chorych (podwyższony poziom LDH i/lub zajęcie co najmniej dwóch obszarów pozawęzłowych i/lub obecność choroby w szczególnych lokalizacjach, takich jak jądra, zatoki przynosowe, oczodoły). Metodyka tego badania została przedstawiona w Załączniku. W przypadku wykrycia komórek nowotworowych w PMR konieczne jest wykonanie NMR mózgu w celu wykluczenia jednoczesnej obecności zmian mięszkowych. W badaniu Hedge i wsp. dodatni wynik cytometrii PMR wiązał się z 45% ryzykiem progresji w obrębie OUN, pomimo stosowania profilaktyki dokanałowej (metotreksat +/- cytarabina) [14]. Terapia chorych z tej grupy powinna być zatem znacznie bardziej intensywna, analogicznie jak w przypadku leczenia pierwotnych chłoniaków

OUN. Jej forma musi uwzględniać lokalizację zmian, wiek i stan kliniczny chorych.

W przypadku zajęcia opon mózgowo-rdzeniowych zasadniczym sposobem jest terapia dokanałowa. Powinna ona być prowadzona z odpowiednią intensywnością, zarówno co do dawki, jak i częstości iniekcji. W tradycyjnym ujęciu stosuje się jednocześnie trzy cytostatyki: metotreksat (15 mg), cytarabinę (40 mg) i deksametazon (4 mg) z częstością około 2x w tygodniu. Leczenie prowadzi się do uzyskania ujemnego wyniku badania cytologicznego osadu PMR, z kontynuacją (minimum 2 dodatkowe iniekcje) w formie konsolidacji. Alternatywą dla leczenia trójlekowego jest stosowanie liposomalnej cytarabiny o przedłużonym działaniu (DepoCyte, Mundipharma, UK). Preparat ten osiąga większe stężenie w PMR na poziomie mózgowia, w porównaniu z postacią wolną cytarabiny. Cechuje się też korzystną farmakokinetyką, pozwalającą utrzymać stężenie terapeutyczne leku powyżej średniego stężenia hamującego dla komórek nowotworowych przez co najmniej 2 tygodnie [25, 26]. W randomizowanym badaniu Glantz i wsp., u chorych na chłoniaki nie-Hodgkina z zajęciem OUN stosowanie liposomalnej cytarabiny pozwoliło na uzyskanie całkowitej remisji u 71% pacjentów, w porównaniu z 15% w przypadku stosowania natywnej formy leku [26]. Różnice te przekładały się na czas przeżycia, przy porównywalnej tolerancji terapii. DepoCyte stosowano w odstępach 2-tygodniowych i plan leczenia zrealizowano u wszystkich chorych, w porównaniu z 53% w przypadku podawania natywnej postaci cytarabiny. Podobne wyniki uzyskano w retrospektywnej analizie Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych, gdzie w populacji 17 chorych z chłoniakami i ALL, odsetek całkowitych remisji wyniósł 82% [27]. Wydaje się więc, że stosowanie liposomalnej cytarabiny może zwiększyć skuteczność leczenia przy mniejszej liczbie koniecznych punkcji lędźwiowych. Możliwość kojarzenia DepoCyte z innymi lekami dokanałowymi nie została dotąd określona.

Uzupełnieniem leczenia dokanałowego powinno być stosowanie chemioterapii systemowej z uwzględnieniem dużych dawek metotreksatu i/lub cytarabiny. W przypadku metotreksatu uważa się, że minimalna dawka zapewniająca penetrację do OUN to 1,0 g/m², a dla cytarabiny 2,0 g/m². Leki te mogą być stosowane w skojarzeniu z innymi cytostatykami oraz rituksymabem, równoległe do prowadzonej terapii dokanałowej. W przypadku dokanałowego stosowania DepoCyte należy jednak zachować ostrożność, ze względu na długi czas półtrwania i możliwą kumulację toksyczności [28]. Konieczny odstęp to co najmniej 48 godzin po dożylniej cytarabinie i 14 dni przed kolejną dawką [1].

W razie współistnienia zmian mięszkowych uzasadnione może być leczenie z użyciem napromieniania całego mózgowia. Opcja ta wydaje się jednak trudna do zrealizowania we wczesnej fazie choroby, ze względu na dużą dynamikę DLBCL i konieczność prowadzenia intensywnej terapii systemowej. W uzasadnionych przypadkach napromienianie można rozważyć po zakończeniu protokołu chemioterapii.



Ryc. 3. Proponowany sposób postępowania u pacjentów z DLBCL

* U chorych z obecnością czynników ryzyka, pomimo że pierwsza punkcja łądźwiowa ma cel głównie diagnostyczny, uzasadnione jest podanie dokanałowe metotreksatu w dawce 15 mg

** Kontynuacja profilaktyki polega na zastosowaniu dodatkowych 3 iniekcji dokanałowych metotreksatu 15 mg w dniu 1. kolejnych kurów terapii systemowej. Alternatywą może być dwukrotne podanie liposomalnej cytarabiny w dawce 50 mg dokanałowo

U pacjentów z grupy wysokiego ryzyka (jednoczesna obecność dwóch czynników ryzyka i/lub specyficzna lokalizacja zmian chłoniakowych), u których w momencie rozpoznania nie stwierdza się w badaniu cytometrycznym komórek nowotworowych w PMR, wystarczającym postępowaniem jest profilaktyka dokanałowa w formie monoterapii. W przypadku stosowania metotreksatu punkcje łądźwiowe mogą być wykonywane z częstotnością odpowiadającą rytmowi terapii systemowej, w łącznej liczbie 4. Jako alternatywę można rozważyć 2 podania liposomalnej cytarabiny.

Pacjenci z DLBCL, u których w momencie rozpoznania nie stwierdza się żadnego z czynników ryzyka nawrotu w OUN lub też obecny jest jeden czynnik, ale wyjściowy wynik badania cytometrycznego PMR był ujemny, nie wymagają żadnej formy profilaktyki.

Strategię postępowania proponowaną przez ekspertów PLRG przedstawiono na Rycinie 3.

Podsumowanie

1. Wtórne zajęcie OUN występuje u około 5% chorych na DLBCL. Rokowanie w tych przypadkach jest złe.
2. Główne czynniki ryzyka wtórnego zajęcia OUN to podwyższona aktywność LDH w surowicy i obecność co najmniej dwóch zmian pozawęzłowych, a w szczególności pierwotne zajęcie jądra. System prognostyczny oparty o te czynniki nie pozwala jed-

nak na szacowanie prawdopodobieństwa nawrotu z wystarczającą czułością i swoistością.

3. W świetle dostępnej wiedzy optymalne wydaje się postępowanie wyprzedzające, oparte na wczesnym wykrywaniu zagrażającego nawrotu/progresji w OUN za pomocą badania cytologicznego z cytometrią przepływową płynu mózgowo-rdzeniowego. Badania przesiewowe powinny objąć szeroką populację chorych z obecnością co najmniej jednego czynnika ryzyka.

Dr hab. n. med. Sebastian Giebel

Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej
Pododdział Transplantacji Szpiku i Leczenia Chłoniaków
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Gliwicach
ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice
e.mail: sgiebel@io.gliwice.pl

Piśmiennictwo

1. Giebel S, Krawczyk-Kuliś M, Adameczyk-Cioch M i wsp. Profilaktyka i leczenie zmian w ośrodkowym układzie nerwowym w przebiegu ostrej białaczki limfoblastycznej u dorosłych. Rekomendacje Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych. *Pol Arch Med Wewn* 2008; 118: 356-61.
2. Gałązka K, Szpor J, Maryniak R i wsp. Incidence of lymphomas in Poland. The National Register Data for 2006. *Pol J Pathol* 2007; 58, 3: 199-206.

3. Keldsen N, Michalski W, Benzen SM i wsp. Risk factors for central nervous system involvement in non-Hodgkins-lymphoma a multivariate analysis. *Acta Oncol* 1996; 35: 703-8.
4. van Besien K, Ha CS, Murphy S i wsp. Risk factors, treatment, and outcome of central nervous system recurrence in adults with intermediate-grade and immunoblastic lymphoma. *Blood* 1998; 91: 1178-84.
5. Haioun C, Besson C, Lepage E i wsp. Incidence and risk factors of central nervous system relapse in histologically aggressive non-Hodgkin's lymphoma uniformly treated and receiving intrathecal central nervous system prophylaxis: a GELA study on 974 patients. Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Ann Oncol* 2000; 11: 685-90.
6. Hollender A, Kvaloy S, Nome O i wsp. Central nervous system involvement following diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma: a risk model. *Ann Oncol* 2002; 13: 1099-107.
7. Bernstein SH, Unger JM, Leblanc M i wsp. Natural history of CNS relapse in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a 20-year follow-up analysis of SWOG 8516 – the Southwest Oncology Group. *J Clin Oncol* 2009; 27: 114-9.
8. Boehme V, Zeynalova S, Kloess M i wsp. Incidence and risk factors of central nervous system recurrence in aggressive lymphoma – a survey of 1693 patients treated in protocols of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Ann Oncol* 2007; 18: 149-57.
9. Tilly H, Lepage E, Coiffier B. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102: 4284-9.
10. Feugier P, Virion JM, Tilly H i wsp. Incidence and risk factors for central nervous system occurrence in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma: influence of rituximab. *Ann Oncol* 2004; 15: 129-33.
11. Boehme V, Schmitz N, Zeynalova S i wsp. CNS events in elderly patients with aggressive lymphoma treated with modern chemotherapy (CHOP-14) with or without rituximab: an analysis of patients treated in the RICOVER-60 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Blood* 2009; 113: 3896-902.
12. Shimazu Y, Notohara K, Ueda Y i wsp. Diffuse large B-cell lymphoma with central nervous system relapse: prognosis and risk factors according to retrospective analysis from a single-center experience. *Int J Hematol* 2009; 89: 577-83.
13. Levitt L, Dawson DM, Rosenthal DS i wsp. CNS involvement in the non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer* 1980; 45: 545-552.
14. Hegde U, Filie A, Little RF i wsp. High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas at risk for central nervous system involvement: the role of flow cytometry versus cytology. *Blood* 2005; 105: 496-502.
15. MacKintosh FR, Colby TV, Podolsky WJ i wsp. Central nervous system involvement in non-Hodgkin's lymphoma: an analysis of 105 cases. *Cancer* 1982; 49: 586-95.
16. Zucca E, Conconi A, Mughal TI i wsp. Patterns of outcome and prognostic factors in primary large-cell lymphoma of the testis in a survey by the International Extranodal Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21: 20-7.
17. McMillan A. Central nervous system-directed preventative therapy in adults with lymphoma. *Br J Haematol* 2005; 131: 13-21.
18. Cetto GL, Iannucci A, Tummarello D i wsp. Involvement of the central nervous system in non-Hodgkin's lymphoma. *Tumori* 1981; 67: 39-44.
19. Wolf MM, Olver IN, Ding JC i wsp. Non-Hodgkin's lymphoma involving the central nervous system. *Aust N Z J Med* 1985; 15: 16-21.
20. Lee KW, Yi J, Choi IS i wsp. Risk factors for poor treatment outcome and central nervous system relapse in diffuse large B-cell lymphoma with bone marrow involvement *Ann Hematol* 2009; 88: 829-38.
21. Coiffier B. Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene* 2007; 26: 3603-13.
22. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C i wsp. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4117-26.
23. Arkenau HT, Chong G, Cunningham D i wsp. The role of intrathecal chemotherapy prophylaxis in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Oncol* 2007; 18: 541-55.
24. Tomita N, Kodama F, Kanamori H i wsp. Prophylactic intrathecal methotrexate and hydrocortisone reduces central nervous system recurrence and improves survival in aggressive non-hodgkin lymphoma. *Cancer* 2002; 95: 576-80.
25. Bleyer WA. Intrathecal depot cytarabine therapy: a welcome addition to a limited armamentarium. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 3349-51.
26. Glantz MJ, Jaeckle KA, Chamberlain MC i wsp. A randomized controlled trial comparing intrathecal sustained-release cytarabine (DepoCyt) to intrathecal methotrexate in patients with neoplastic meningitis from solid tumors. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 3394-3402.
27. Holowiecka-Goral A, Holowiecki J, Giebel S i wsp. Liposomal cytarabine in advanced-stage acute lymphoblastic leukemia and aggressive lymphoma with central nervous system involvement: experience of the Polish Acute Leukemia Group. *Leuk Lymphoma* 2009; 50: 478-480.
28. Pui CH. Toward optimal use of intrathecal liposomal cytarabine. *Leuk Lymphoma* 2007; 48: 1672-1673.

Otrzymano i przyjęto do druku: 22 grudnia 2009 r.