

**Univerzita Karlova v Praze**

**Lékařská fakulta v Plzni**

**DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**Klinicko-patologický korelát komplikací intenzivně léčených  
hemato-onkologických pacientů s cíleným zaměřením na  
postižení dutiny ústní a případ raritní sekundární neoplázie.**

**MUDr. Samuel Vokurka**

**Plzeň 2008**

**Univerzita Karlova v Praze**

**Lékařská fakulta v Plzni**



## **DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**Klinicko-patologický korelát komplikací intenzivně léčených  
hemato-onkologických pacientů s cíleným zaměřením na  
postižení dutiny ústní a případ raritní sekundární neoplázie.**

**MUDr. Samuel Vokurka**

**Plzeň 2008**

**Dizertační práce doktorandského studia**

**Obor: patologie**

**Školitel: Doc.MUDr.Ludmila Boudová, Ph.D.**

**Histopatologická část této dizertační práce byla z části podpořena  
grantem IGA NR 9453-3/2007.**

## - Obsah -

1. Předmluva .....	4
2. Postižení sliznice dutiny ústní v rámci toxické mukozitidy a reakce štěpu proti hostiteli u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk s užším zaměřením na protokol předtransplantační přípravy FLU/MEL.	
2.1. Přehled o současném stavu problematiky .....	5
2.1.1. Mukozitida dutiny ústní (MDU)	
2.1.1.1. Úvod a definice pojmu .....	5
2.1.1.2. Patofyziologie MDU .....	5
2.1.1.3. Klinický obraz a souvislosti při MDU .....	6
2.1.1.4. Výskyt MDU .....	8
2.1.1.5. Rizikové faktory MDU .....	8
2.1.2. Reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) v dutině ústní .....	9
2.1.2.1. Úvod a definice pojmu GVHD .....	9
2.1.2.2. Patofyziologie GVHD .....	9
2.1.2.3. Klasifikace GVHD .....	10
2.1.2.4. Klinický obraz GVHD dutiny ústní .....	10
2.1.2.5. Histologický nálezn při GVHD v dutině ústní a v kůži .....	11
2.1.2.6. Výskyt GVHD .....	12
2.1.3. Přípravné režimy alogenních transplantací krvetvorných buněk .....	13
2.1.3.1. Konvenční a redukované režimy .....	13
2.1.3.2. Přípravný režim FLU/MEL .....	13
2.2. Cíl práce .....	14
2.3. Metodika zpracování .....	14
2.3.1. Soubor pacientů a léčba .....	14
2.3.2. Protokoly předtransplantační přípravy .....	14
2.3.3. Péče o dutinu ústní .....	14
2.3.4. GVHD profylaxe .....	15
2.3.5. Antimikrobiální profylaxe .....	15
2.3.6. Další podpůrná léčba .....	16
2.3.7. Monitorace, hodnocení a definice .....	16
2.3.8. Odběr histologických vzorků .....	16
2.3.9. Statistické zpracování .....	17
2.4. Výsledky .....	17
2.4.1. MDU v rámci celého souboru .....	18
2.4.2. MDU v rámci FLU/MEL vs. Bu/CY2 .....	19
2.4.3. Statistická analýza potenciálních rizikových faktorů MDU .....	23
2.4.4. Akutní GVHD a postižení dutiny ústní u FLU/MEL .....	24
2.4.5. Chronická GVHD a postižení dutiny ústní u FLU/MEL .....	24
2.4.6. Vztah MDU a GVHD .....	27
2.4.7. Histologické nálezy .....	27
2.5. Diskuze .....	31
2.6. Závěry .....	36
2.7. Seznam použité literatury .....	36
3. Kaposiho sarkom po alogenní transplantaci periferních krvetvorných buněk – raritní sekundární neoplázie. ....	43
3.1. Přehled o současném stavu problematiky .....	43
3.2. Cíl práce .....	44
3.3. Metodika zpracování .....	44
3.4. Výsledky .....	44
3.5. Diskuze .....	48
3.6. Závěry .....	49
3.7. Seznam použité literatury .....	49
4. Seznam zkratk .....	51
5. Přílohy – vzdělávací a vědecké aktivity autora ve vztahu k tématu dizertace	52

## 1. Předmluva

Základní a nenahraditelnou doménou spolupráce klinické hemato-onkologie a patologie je nesporně diagnostika malignit. Bez povšimnutí by však neměly zůstat ani situace, při kterých se klinik obrací na patologa s žádostí o ověření některých stavů, které mohou jako komplikace doprovázet intenzivní léčbu hemato-onkologických pacientů.

Léčba hematologických malignit představuje zásadní zátěž pro pacienta, obzvláště jedná-li se o vysokodávkovanou chemoterapií zajištěnou autologní transplantací krvetvorných buněk nebo přímo o transplantaci alogenní. Ve většině těchto případů jsou pacientům podávána cytostatika v dávkách, které kromě případné specifické orgánové toxicity navozují těžký útlum krvetvorby, poškození sliznic v oblasti zažívacího traktu a imunodeficienci s vysokým rizikem infekcí. V budoucnu jsou pak pacienti po intenzivní chemoterapii ohroženi rovněž vyšším rizikem sekundárních malignit. V případě alogenní transplantace krvetvorných buněk je pak specifickou problematikou také reakce štěpu proti hostiteli (GVHD).

Tato práce se zabývá problematikou postižení sliznic dutiny ústní při toxické mukozitidě a při reakci štěpu proti hostiteli z pohledu klinika a patologa. Součástí práce je i popis případu vzácného rozvoje Kaposiho sarkomu jako sekundární neoplázie po alogenní transplantaci krvetvorných buněk.

Rád bych zároveň poděkoval všem, kdo mi pomohli realizovat postgraduální doktorandské studium a tuto dizertační práci:

prof. MUDr. Michal Michal, prof. MUDr. Alena Skálová CSc., Doc. MUDr. Ludmila Boudová Ph.D., prim. MUDr. Vladimír Koza, prim. MUDr. Petr Mukenšabl, MUDr. Kateřina Steinerová, Jana Škardová, Doc. MUDr. Dmitry V. Kazakov CSc.

## **2. Postižení sliznice dutiny ústní v rámci toxické mukozitidy a reakce štěpu proti hostiteli u pacientů po alogenní transplantaci krevetvorných buněk s užším zaměřením na protokol předtransplantační přípravy FLU/MEL**

### **2.1. Přehled o současném stavu problematiky:**

#### **2.1.1. Mukozitida dutiny ústní**

##### **2.1.1.1. Úvod a definice pojmu**

Mukozitida dutiny ústní (MDU) reprezentuje charakteristický typ lokálního postižení sliznic a podslizniční tkáně vzniklý v souvislosti s chemoterapií nebo aktinoterapií. Synonymem pro MDU může být i výraz stomatitida, nicméně ten se spíše používá u případů postižení dutiny ústní jiné etiologie (1). MDU, která postihuje celosvětově tisíce onkologických pacientů ročně, představuje významnou komplikaci s nemalými následky, obzvláště pak při vysokodávkované chemoterapii. Omezuje perorální příjem, zvyšuje incidenci infekcí, vede k prodloužení hospitalizace a vyšším celkovým nákladům na léčbu pacienta (2). Zřetelně negativně ovlivňuje průběh onkologické léčby. Pacienty podstupujícími transplantaci krevetvorných buněk je vnímána jako nejvíce vyčerpávající a zneschopňující komplikace (3).

##### **2.1.1.2. Patofyziologie MDU**

Procesy, které podmiňují rozvoj a průběh MDU, jsou komplexní a zdaleka neodpovídají původním představám o této komplikaci, jako následku pouhé dočasné zástavy regenerace bazální vrstvy epitelu vlivem působení cytostatik nebo radiace. Ukazuje se, že vedle epiteliálního poškození se velice podstatné změny odehrávají zároveň v submukóze, kde dochází k poškození fibroblastů a endotelií spolu s agregací trombocytů v kapilárách. Vývoj mukozitidy je dynamický proces, u kterého je v současnosti podle S. Sonise (4) definováno pět fází průběhu:

**1) Iniclace:** prakticky ihned v okamžiku aplikace cytostatika nebo radiace dochází k přímému poškození DNA, následné apoptóze epitelii v bazální vrstvě sliznice a také apoptóze endotelií a fibroblastů v submukóze. Uvolňují se volné kyslíkové radikály, které pak navozují další apoptózu buněk. Klinicky nejsou na sliznici patrné žádné změny.

**2) „Up-regulace“:** působením cytostatik, radiace a kyslíkových radikálů dochází v epitelu a submukóze k aktivaci nukleárního faktoru kappa B (NF-kappaB), který zvyšuje aktivitu desítek dalších mediátorů, což vede k nadprodukcí prozánětlivých cytokinů (např. TNF-alfa, interleukin IL-1beta a IL-6), které jsou zodpovědné za pokračující poškození tkáně. Rovněž je aktivována sfingomyelináza a ceramid-syntetáza hydrolyzující sfingomyelin buněčných membrán.

**3) Amplifikace:** dominuje zvýraznění biologických změn v epitelu a submukóze díky pozitivní zpětné vazbě zvyšující nadále produkci cytokinů - např. TNF-alfa zpětně dále aktivuje NF-kappaB a rovněž sfingomyelinázu. V této fázi ještě není celistvost sliznice porušena, ale může se již objevovat např. erytém.

**4) Ulcerace:** poškození tkáně dosahuje maxima. Nastává ztráta integrity sliznice, vznikají defekty obnažující submukózu, která již není chráněna před invazí mikroorganismů. Zvyšuje se riziko systémových infekcí, narůstají hladiny cirkulujících endotoxinů a dochází ke stimulaci další produkce cytokinů, zánětu, apoptózy a tak nadále k destrukci tkáně. Řada defektů bývá na povrchu kryta fibrinovou pablánou.

**5) Hojení:** s odstupem několika dní od iniciace klesá produkce cytokinů a vlivem signálů ze submukózy dochází ke stimulaci migrace, proliferace a diferenciaci epitelii vedoucí v konečném efektu k vyhojení defektů (4).

### **2.1.1.3. Klinický obraz a souvislosti při MDU**

Třebaže na buněčné úrovni se poškození epitelu a submukózy rozvíjí okamžitě po působení cytostatik, makroskopické změny na sliznici jsou patrné s odstupem několika dní, nejčastěji v den 4 až 8 po chemoterapii, a přetrvávat mohou podle tíže poškození zhruba 7 až 14 dní. V úvodu lze klinicky v dutině ústní pozorovat prosáknutí sliznic, které mívají bělavý kolorit, obzvláště pak na bukální sliznici a po okraji jazyka v místech, kde se může případně objevit žebrování způsobené otisky zubů (tzv. scalloping). Dále mohou být přítomny

oblasti erytému, atrofie (dobře patrná na jazyku s vyhlazením papil) a různě rozsáhlé a hluboké defekty kryté většinou bělavou, či žlutavou pablánou, která se v průběhu dalších dní postupně od okrajů odhojuje. V případě těžkých MDU se mohou objevovat krvácivé projevy, obzvláště v období trombocytopenie.

Poškozená slizniční bariéra usnadňuje průnik patogenům a zvyšuje tak incidenci bakteriémie viridujících (alfa-hemolytických) streptokoků, jako je např. *Streptococcus mitis* (7,8). Pronikat však mohou i jiné mikroorganismy: např. *Candida* sp., anaerobní *Fusobacterium*, koaguláza-negativní stafylokoky (*S.epidermidis*) nebo G- tyčky *Leptotrichia buccalis*, *Klebsiella pneumoniae*, či *Pseudomonas aeruginosa* (9).

MDU bývá nezdědká doprovázena dyskomfortem až bolestivostí, která může případně vyžadovat i aplikaci silných analgetik včetně opiátů (10). Pacienti dále mohou pociťovat poruchu vnímání chuti, trpět sníženou salivací a v celém kontextu pak také omezením perorálního příjmu potravy a případně i tekutin.



**Obr. č. 1:** Mukositida dutiny ústní v oblasti bukální sliznice, vpravo difúzní erytém a defekt krytý pablánou, na tvrdém patře nevitální epitelie (nejedná se mykotickou infekcí), den +10 po alogenní transplantaci krvetvorných buněk po přípravě Bu/CY2/±ATG (foto autor).

V souvislosti s alogenní transplantací krvetvorných buněk nelze pominout ani možný význam mukozitidy v patogenezi akutní reakce štěpu proti hostiteli (GVHD), která je predisponována vyššími hladinami prozánětlivých cytokinů vyplavovanými rovněž při mukozitidě, a dále také vlivem střevní mikroflóry a průnikem bakteriálních toxinů (6, 12, 13). Na druhé straně akutní GVHD může

příspět k modifikaci průběhu MDU po alogenní transplantaci krvetvorných buněk ve smyslu delšího přetrvávání postižení dutiny ústní (14).

#### **2.1.1.4. Výskyt MDU**

Výskyt MDU je variabilní v závislosti na intenzitě a typu chemoterapie. V případě intenzivních vysokodávkovaných režimů zajištěných autologní nebo alogenní transplantací krvetvorných buněk se objevuje u většiny, respektive u 60-100% pacientů, s ohledem na typ předtransplantační přípravy (11, 14). Při běžné chemoterapii s cytostatiky jako jsou např. antracykliny, ara-C, melfalan, metotrexát, bleomycin, cyklofosamid nebo ifosfamid je výskyt MDU přibližně do 15%, u irinotecanu více než 20% a po léčbě 5-fluorouracilem až u 40% pacientů (11, 15). Průběh a výskyt MDU není při shodných režimech chemoterapie stejný, ale má individuální odlišnosti s ohledem na přítomnost dalších faktorů.

#### **2.1.1.5. Rizikové faktory MDU**

Odhlédneme-li od jednoznačného, všeobecně akceptovaného a ověřeného faktoru onkologické léčby, kdy s nárůstem intenzity chemoterapie a s ohledem na typ cytostatika narůstá také incidence a tíže MDU (viz výše), zbývá kategorie faktorů individuálních. Mezi ně bývá v teoretické rovině zahrnována celá řada proměnných, z nichž však bohužel zatím naprostá většina zůstává neověřená nebo sporná. Zodpovědně zatím nelze definitivně a obecně potvrdit, zda lze za rizikové považovat např. ženské pohlaví, do jaké míry ovlivňuje průběh MDU pacientův věk, hodnota body mass indexu (BMI), vstupní počet neutrofilů nebo obsah CD34+ buněk v autologním štěpu periferních krvetvorných buněk (10, 19-26). Opakovaně však nebylo prokázáno, že by kuřáctví cigaret mělo nezávislý negativně prognostický vliv (20, 22, 23, 27).

Významnou roli ve vnímavosti vůči cytostatikům hrají genetické predispozice, jak lze dokládat např. polymorfismem enzymů zodpovědných za degradaci 5-fluorouracilu a metotrexátu a s tím souvisejícím vyšším rizikem toxicity u pacientů s defekty funkce (16, 17). Genetické vlivy se uplatňují nejspíše u pacientů s psoriázou, u kterých lze pozorovat nižší riziko MDU nejspíše i z důvodu nižší tendence buněk k apoptóze (18).



## **2.1.2. Reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) v dutině ústní**

### **2.1.2.1. Úvod a definice pojmu**

K jinému typu poškození orální sliznice v potransplantačním období může docházet v souvislosti s rozvojem reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host disease, GVHD), která je projevem imunitního poškození tkáně příjemce dárcovskými T-lymfocyty přenesenými štěpem.

### **2.1.2.2. Patofyziologie GVHD**

GvHD postižení vzniká následkem četných interakcí mezi dárcovskými T-lymfocyty přenesenými štěpem a antigen-prezentujícími buňkami příjemce-pacienta. V případě patofyziologie GVHD je úvodním krokem celého děje vyplavení velkého množství prozánětlivých cytokinů, jako jsou např. TNF-alfa (tumor necrosis factor alfa), IL-1 (interleukin-1), které se uvolní na základě tkáňového poškození vlivem předtransplantační přípravy (chemoterapie, aktinoterapie), přestupem lipopolysacharidů přes poškozenou střevní sliznici a také vlivem základního hematologického onemocnění. Tato tzv. „cytokinová bouře“ navozuje aktivaci příjemcových antigen-prezentujících buněk (antigen presenting cells, APC). V další fázi reagují transplantované dárcovské naivní T-lymfocyty s APC, aktivují se a dochází k uvolnění dalšího množství cytokinů TNF-alfa, IL-2 a INF-gama (interferon-gama). Vrcholem kaskády je pak zapojení NK-buněk (natural killer cells), LGL lymfocytů (large granular lymphocytes) a rozvoj vlastního tkáňového poškození (28). Projevem akutní formy GVHD postihující dominantně oblasti bazální vrstvy epidermis, střevního epitelu a žlučových cest, kde dochází k apoptóze buněk s obrazem tzv. „satelitních“ nekrotických epitelie s lymfocytárním doprovodem), je pak kožní erytém, buly i deskvamace (v těžkých případech poškození), vodnaté průjmy a vzestup hladin bilirubinu. Chronická GVHD se naopak klinicky prezentuje ve formě připomínající spíše autoimunitní postižení typu sklerodermie, Sjögrenova syndromu, primární biliární cirhózy, obliterující bronchiolitidy atp.

### 2.1.2.3. Klasifikace GVHD

Podle aktuálních doporučení National Institutes of Health (NIH) Consensus Conference, které jsou akceptovány v rámci Evropské společnosti pro transplantaci krve a kostní dřeně - EBMT (The European Group for Blood and Marrow Transplantation), je pro rozlišení mezi akutní nebo chronickou formou GVHD rozhodující klinický obraz, nikoliv doba nástupu komplikace po transplantaci. Navíc je rozlišen tzv. overlap syndrom, při kterém jsou přítomny projevy jak akutní, tak i chronické GVHD. Původní členění na akutní GVHD v případě rozvoje komplikace do dne 100 po transplantaci, respektive chronickou GVHD v případě komplikací od dne 100, již není aktuální (41, 28).

Projevem akutní formy GVHD postihující dominantně oblasti bazální vrstvy epidermis, střevního epitelu a žlučových cest je kožní erytém, buly i deskvamace (v těžkých případech poškození), vodnaté průjmy a vzestup hladin bilirubinu. Chronická GVHD se naopak klinicky prezentuje ve formě připomínající spíše autoimunitní postižení typu sklerodermie, Sjögrenova syndromu, primární biliární cirhózy, obliterující bronchiolitidy atp.

<b>Příklady základních klinických projevů GVHD</b>	
<b>akutní GVHD</b>	<b>chronická GVHD</b>
<b>kůže:</b> makulo-papulární exantém, buly, deskvamace <b>játra:</b> cholestatická hepatopatie <b>GIT:</b> nauzea, zvracení, zelenavé vodnaté průjmy	<b>kůže:</b> sklerodermie, lichenoidní exantém, despigmentace, dystrofie nehtů, alopecie <b>oči:</b> keratokonjunktivitida sicca, blepharitis <b>GIT:</b> striktury esofagu, <b>pohybový aparát:</b> myositida, fasciitida <b>příce:</b> bronchiolitis obliterans

### 2.1.2.4. Klinický obraz GVHD v dutině ústní

Klinický obraz při akutním i chronickém postižení může svými projevy připomínat v různé intenzitě klasickou toxickou MDU s přítomností erytému, atrofie, ulcerací a bolesti. V případě chronické GVHD jsou jako typické udávány

především lichenoidní změny sliznice a také hyperkeratóza. Postižení slinných žláz se projevuje sníženou tvorbou slin a pocitem suchosti sliznice (41).

#### **2.1.2.5. Histologický nálezn při GVHD v dutině ústní a v kůži**

Histopatologické literatury o GVHD v ústní dutině je málo (48). Mikroskopická kritéria pro hodnocení GVHD nejsou speciálně v této lokalizaci pevně stanovena a jsou analyzována pouze v ojedinělých studiích. Vzácné jsou zejména histologické informace o akutní formě GVHD (48). V praxi se proto běžně používají podobná kritéria jako pro hodnocení GVHD v kůži.

V kůži se v případě akutní GVHD kombinují tyto nálezy: zánětlivý lymfocytární infiltrát na rozhraní epidermis a dermis („interface dermatitis“) s vakuolizací (hydropickou změnou) bazální vrstvy epidermis, apoptotická tělíska (neboli cytoidní tělíska, Civatta bodies) a satelitní nekrózy. Satelitní nekróza je apoptotická epiteliální buňka doprovázená lymfocyty. Dále bývá přítomna exocytóza lymfocytů. V cévách může být patrný edém endotelií a lymfocytární infiltrace v cévní stěně i okolí. Kombinace těchto nálezů však nejsou pro GVHD patognomické, neboť jsou přítomny také u toxických či alergických lékových reakcí a virových infekcí. Histologicky přichází v diferenciální diagnóze v úvahu dále také lichen planus a erythema multiforme.

Chronická kožní GVHD mívá lichenoidní charakter, může vypadat velmi podobně jako idiopatický lichen planus. V časně fázi chronické GVHD - stejně jako u akutní GVHD - nacházíme „interface dermatitis“ – čili převážně lymfocytární infiltrát v dermoepiteliální junkci, apoptotická cytoidní tělíska a satelitní nekrózy, dále může být akantóza, hypergranulóza a inkontinence pigmentu. V pozdní fázi chronické GVHD dochází k atrofii epidermis s vyhlazením dermálních papil a k fibróze povrchové i hluboké dermis, napodobující morfeu nebo systémovou sklerózu, přičemž znaky popsané u časnějších stadií mohou a nemusí být zároveň přítomny (56).

Histologické nálezy akutní GVHD v ústní dutině nejsou dosud podrobněji charakterizovány. U chronické GVHD se v ústech popisují v dosud největší klinickopatologické studii tyto znaky: hydropické změny epitelii v bazální vrstvě, apoptotická tělíska, lymfocytární infiltrace a fokální či totální odštěpení epitelu od subepiteliálního pojiva (tzv. „cleavage“) (48). Diferenciálně diagnosticky

přichází v úvahu lichen ruber planus, lichenoidní reakce na protézu a samozřejmě i lékový nebo virový původ.

Ve slinných žlázkách (hodnocených obvykle v labiální sliznici) bývá lymfocytární infiltrát, atrofie acinů a mírná intersticiální fibrotizace (48). Lymfocytární infiltrát je převážně T-povahy; může jít především o CD8- nebo CD4-pozitivní lymfocyty nebo o jejich směs. (48, 49, 50). B-lymfocyty prakticky chybí, ale plasmocyty a makrofágy bývají přítomny (48, 51). Soares et al (48) zdůrazňují význam hodnocení labiálních slinných žlázek, neboť v nich našli histologické známky GVHD až u 100% pacientů, na rozdíl od 77% vzorků se znaky GVHD, které tvořila ústní sliznice bez slinných žlázek.

#### **2.1.2.6. Výskyt GVHD**

Incidence kolísá mezi 10-80% podle přítomnosti rizikových faktorů, jak jsou HLA kompatibilita dárce a příjemce, typ předtransplantační přípravy a prevence GVHD, věk příjemce, štěp periferních krvetvorných buněk a dárkyně po opakovaném těhotenství (28). Sliznice dutiny ústní bývá postižena jak v rámci akutní, tak především při chronické GVHD, kdy tento problém má 38% - 46% transplantovaných, respektive 54 - 80% pacientů s chronickou GVHD (29-32).



**Obrázek č.2:** *postižení dutiny ústní chronickou GVHD, 11 měsíců po alogenní transplantaci periferních krvetvorných buněk po přípravě FLU/MEL, lichenoidní postižení difúzně, bukálně pak atrofie a defekt sliznice (foto autor).*

### **2.1.3. Přípravné režimy alotransplantací krevetvorných buněk**

#### **2.1.3.1 Konvenční a redukované režimy**

Alogenní transplantace krevetvorných buněk jsou zásadním léčebným postupem u pacientů s hematologickými malignitami a těžkou aplastickou anémií. Nadále narůstající počet transplantací svědčí o jejich významu - v rámci registru EBMT (The European Group for Blood and Marrow Transplantation) bylo v roce 2000 evidováno 6404 transplantací a v roce 2006 již celkem 9661 (33, 34).

Mezi konvenční a dlouhodobě zavedené standardní protokoly předtransplantační přípravy patří režim Bu/CY2/±ATG zahrnující vysocedávkovaný busulfan s cyklofosfamidem. Nezpochybnitelný přínos a zastoupení však mají i transplantace s tzv. redukovanou intenzitou přípravy, které jsou alternativou pro starší a předléčené pacienty, u kterých by transplantace s klasickou standardní přípravou nebyla proveditelná z důvodu rizika výrazné celkové toxicity (35).

#### **2.1.3.2. Režim FLU/MEL**

Mezi protokoly s redukovanou intenzitou přípravy patří např. režimy FLU/CY s kombinací fludarabinu a cyklofosfamidu nebo FLU/MEL s fludarabinem v celkové dávce 125-150mg/m<sup>2</sup> a melfalanem v dávce 140-180mg/m<sup>2</sup>. Režim FLU/MEL je dostatečně účinný v širokém spektru hematologických malignit, má imunoablativní potenciál zajišťující přihojení štěpu a je doprovázen minimem toxických fatálních komplikací (36, 37, 38, 39, 40). Nicméně i zde byla pozorována klinicky nezanedbatelná slizniční toxicita v oblasti dutiny ústní (37, 40). Publikované zkušenosti v případě protokolu FLU/MEL jsou však obecně více zaměřeny na sledování přihojení štěpu krevetvorných buněk, dobu do progresu nebo relapsu nemoci, celkové přežití a výskyt GVHD (36, 37, 38, 39, 40). Specifikace a bližší popis charakteru postižení dutiny ústní v rámci MDU a GVHD jsou v souvislosti s protokolem FLU/MEL nedostatečné.

## **2.2. Cíl práce:**

Charakterizovat klinické a morfologické rysy postižení dutiny ústní v rámci MDU a GVHD u pacientů po alogenní transplantaci krevetvorných buněk s ohledem na předtransplantační přípravu a především se zaměřením na režim FLU/MEL.

## **2.3. Metodika:**

### **2.3.1. Soubor pacientů a léčba**

V období 1/2005-12/2007 byli do prospektivního sledování na našem transplantačním centru Hematologicko-onkologického oddělení FN v Plzni zařazeni pacienti, u kterých byla zahájena příprava k alogenní transplantaci krevetvorných buněk s konvenční přípravou Bu/CY2/±ATG nebo s redukovanou imunoablativní přípravou podle protokolů FLU/MEL, FLU/CY, Bu/FLU/ATG nebo HD-CY/ATG. Pacienti podepsali s léčbou a sledováním informovaný souhlas. Sledování pacienta bylo ukončeno předčasně v případě úmrtí, podání nové chemoterapie, transplantace nebo infuze dárcovských lymfocytů.

### **2.3.2. Protokoly předtransplantační přípravy**

- Bu/CY2/±ATG: celková dávka busulfan 16mg/kg p.o. nebo 12.8 mg/kg i.v., cyklofosamid 120 mg/kg i.v., antitymocytární globulin (ATG) u nepříbuzenských nebo HLA neidentických transplantací 15 mg/kg i.v.
- FLU/MEL: celková dávka fludarabin 120 mg/m<sup>2</sup> i.v., melfalan 140mg/m<sup>2</sup>.
- FLU/CY: celková dávka fludarabin 75mg/m<sup>2</sup> i.v., cyklofosamid 140mg/m<sup>2</sup>/den.
- Bu/FLU/ATG: celková dávka busulfan 10mg/kg, fludarabin 180 mg/m<sup>2</sup> i.v., ATG 30mg/kg.
- HD-CY/ATG: celková dávka cyklofosamid 200mg/kg, ATG 30mg/kg.

### **2.3.3. Péče o dutinu ústní**

Péče o dutinu ústní byla zahájena prvním dnem předtransplantační přípravy. Pravidelné výplachy úst byly prováděny 4x denně, v případě rozvoje MDU i častěji. Roztoky byly voleny s ohledem na přání pacienta a standardně byly nabízeny přípravky s obsahem chlorhexidinu, benzydaminu, fyziologický roztok, roztok s obsahem lokálního anestetika (trimecain) nebo šalvějový roztok. Chrup

byl čištěn měkkými kartáčky po hlavním jídle. Při krvácivosti dásní nebo bolestivosti byly k čištění doporučeny pouze roztoky. Snímatelné zubní náhrady byly odkládány na noc, při péči o dutinu ústní a při rozvoji MDU. V případě GvHD postižení byly doporučeno výše uvedené ošetřování s doplněním výplachů roztoky s dexamethasonem 0,2-0,4% a viskózní přípravky s obsahem hyaluronátu. Amifostin, palifermin ani kryoterapie nebyly v rámci profylaxe MDU aplikovány.

#### **2.3.4. GVHD profylaxe**

V případě režimu Bu/CY2/±ATG byl podáván Cyklosporin A (CyA) od dne -1 s úpravou dávky dle hladin po dobu 6 měsíců v případě nepřítomnosti GVHD, a dále metotrexát (MTX) 15mg/m<sup>2</sup> i.v. v den + 1 a 10mg/m<sup>2</sup> v den + 3, + 6 (individuálně den +11) se zajištěním aplikace leukovorinu. Při nepřibuzenské nebo HLA neshodné transplantací byla doplněna „in vivo“ T-deplece s antitymocyárním globulinem (ATG).

V případě režimu FLU/MEL, FLU/CY, Bu/FLU/ATG, HD-CY/ATG byl podáván CyA od dne -1 před transplantací s úpravou dávky dle hladin s předpokladem podávání po dobu 3 měsíců a modifikací délky podávání s ohledem na rozvoj GVHD, stav malignity a stav chimérismu v kostní dřeni monitorovaný po transplantaci ve dnech +30, +60, +90 a dále. Doplněn byl dále MTX 10mg/m<sup>2</sup> i.v. v den + 1, + 3, + 6 (individuálně den +11) se zajištěním aplikace leukovorinu. V protokolu Bu/FLU/ATG, HD-CY/ATG byl navíc podáván ATG.

#### **2.3.5. Antimikrobiální profylaxe**

V rámci profylaxe bakteriálních infekcí byly do doby přihojení štěpu podávány chinolony (norfloxacin 800mg/den, ciprofloxacin 400mg/den) a dále pak do ukončení imunosuprese amoxicilin-klavulanát (1875mg/den) nebo cefuroxim (500mg/den), a trimethoprim-sulfomethoxazol (960mg/den, 3x týdně). Pacienti byli dále až do doby ukončení imunosupresivní léčby zajištěni profylakticky acyklovirem (800mg/den) a fluconazolem (200-400mg/den) nebo itrakonazolem (400mg/den). Byla uplatňována pre-emptivní léčba cytomegalovirové infekce ganciclovirem nebo případně foscarnetem.

### **2.3.6. Další podpůrná péče**

Pacienti podstupující alogenní transplantaci krvetvorných buněk byly umístěny na jednolůžkovém pokoji vybaveném účinnou filtrací vzduchu HEPA filtry a byly ošetřovány v režimu ochranné (reverzní) izolace. Transfuze erytrocytů a trombocytů byly vždy deleukotizované a ozářené v dávce 25Gy. Filgrastim v dávce 5 ug/kg/den byl aplikován v potransplantačním období v případech Bu/CY2/±ATG od dne +1 po transplantaci a v případě FLU/MEL, FLU/CY, Bu/FLU/ATG, HD-CY/ATG od dne +5.

### **2.3.7. Monitorace, hodnocení a definice**

Sledování stavu dutiny ústní v oblasti sliznic rtů, bukálně, na jazyku a patře probíhalo u hospitalizovaných pacientů denně od zahájení předtransplantační přípravy a následně pak v rámci pravidelných ambulantních kontrol v potransplantačním období.

Tíže MDU byla hodnocena podle kritérií WHO se stupni postižení 0 až 4 ( 0 = žádné, 1 = bolest a zarudnutí, 2 = defekty a možnost jíst tuhou potravu, 3= defekty a možnost pouze tekutin a kaší, 4= příjem nemožný pro MDU).

Diagnostika GVHD byla prováděna s ohledem na kritéria NIH - National Institutes of Health (41) akceptovaná rovněž v rámci EBMT (28). Celková tíže akutní GVHD byla hodnocena podle Glucksberga (42), chronická GVHD pak podle NIH kritérií (41).

Postižení dutiny ústní související s GVHD reakcí bylo hodnoceno podle kritérií NIH - National Institutes of Health (41) se stupni postižení 0-3 ( 0 = žádné obtíže a známky postižení, 1= mírné obtíže a projevy bez významného omezení orálního příjmu, 2= středně těžké obtíže a projevy s částečně omezeným orálním příjmem, 3= těžké postižení s významným omezením orálního příjmu).

### **2.3.8. Odběr a zpracování vzorku sliznice dutiny ústní**

Při podezření na rozvoj GVHD v oblasti dutiny ústní u pacientů léčených protokolem FLU/MEL a v případě souhlasu pacienta byly vzorky sliznice dutiny ústní k histologickému zpracování odebírány stomatologem v místní anestezii z oblasti bukální sliznice v místě postižení klinicky odpovídajícímu lichenoidním změnám. Vzorky ústní sliznice (max. průměru 4 -11 mm) byly zpracovány standardním postupem: fixovány v 10% pufovaném roztoku formolu a následně



zalaty do parafinových bloků. Řezy o tloušťce 2 µm byly barveny hematoxylinem-eozinem. Histologický odečet proběhl na Šiklově patologicko-anatomickém ústavu LF UK a FN v Plzni.

.

### **2.3.9. Statistické zpracování**

Porovnání charakteristik souborů bylo provedeno s využitím programu GraphPad InStat - Statistica Software a byly použity základní statistické testy Mann-Whitney, Fisher a t-test. Rozdíly mezi skupinami byly testovány na hladině významnosti 95% a hodnoty  $p < 0,05$  byly považovány za staticky vyznané rozdíly. Potenciální rizikové faktory MDU byly podrobeny multivariantní analýze. Logistická regrese byla použita k ověření závislosti vztahu výskytu MDU a akutní GVHD.

## **2.4. Výsledky:**

V období 1/2005-12/2007 bylo do prospektivního sledování zařazeno celkem 117 pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Medián doby sledování pacientů byl 357 (6-1230) dní. Medián věku transplantovaných pacientů byl 53 (20-68) let a zastoupení pohlaví bylo prakticky vyvážené (53% mužů). Režimy předtransplantační přípravy zahrnovaly konvenční protokol Bu/CY2/±ATG (26%) a protokoly s redukovanou intenzitou FLU/MEL (60%), FLU/CY (10%), Bu/FLU/ATG (2%) a HD-CY/ATG (2%).

Transplantací s HLA identickým dárcem a příjemcem bylo 78%, s dárcem sourozeneckým pak 35%. Medián obsahu krvetvorných CD34+ buněk v transplantovaném štěpu byl  $4,97 (1,6-22,8) \times 10^6/\text{kg}$ , přičemž v naprosté většině případů byly jako štěp použity periferní krvetvorné buňky. Renální funkce a funkce jater byly u pacientů v souboru uspokojivé s mediánem clearance kreatininu  $1,56 (0,4-3,8) \text{ ml/s}$  a mediánem hladiny bilirubinu  $12(6-52) \text{ umol/l}$ . Reparace granulopoézy po transplantaci s dosažením hodnot granulocytů nad  $1,0 \times 10^9/\text{l}$  nastala v mediánu den 14 (0-34) po převodu štěpu. Blíže viz tabulka č.1 na další straně (str.18).

**Tabulka č.1:**

**Charakteristiky pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk.**

<b>Charakteristika</b>	
<b>n=</b>	117
<b>délka sledování (dny)</b>	357 (6-1230)
<b>věk (roky)</b>	53 (20-68)
<b>pohlaví – muži : ženy</b>	53% : 47%
<b>diagnózy:</b>	
<i>AML – akutní myeloidní leukémie</i>	47 / 117 (40%)
<i>ALL – akutní lymfoblastická leukémie</i>	13
<i>NHL – nonhodgkinský lymfom</i>	13
<i>CLL – chronická lymfocytární leukémie</i>	12
<i>MDS – myelodysplastický syndrom</i>	7
<i>MM – mnohočetný myelom</i>	7
<i>CML – chronická myeloidní leukémie</i>	6
<i>HL – Hodgkinův lymfom</i>	5
<i>SAA – těžká aplastická anémie</i>	4
<i>OMF – osteomyelofibróza</i>	3
<b>předtransplantační příprava:</b>	
<i>FLU/MEL</i>	71 / 117 (60%)
<i>Bu/CY2/±ATG</i>	30 (26%)
<i>FLU/CY</i>	12 (10%)
<i>HD-CY/ATG</i>	2 ( 2%)
<i>Bu/FLU/ATG</i>	2 ( 2%)
<b>HLA identický dárce:</b>	92 / 117 (78%)
<b>Sourozenecký dárce:</b>	41 / 117 (35%)
<b>Štěp: periferní krvetvorné buňky / kostní dřeň</b>	90% / 10%
<b>Obsah CD34+ buněk ve štěpu (<math>\times 10^6/\text{kg}</math>), medián</b>	4,97 (1,6 - 22,8)
<b>Clearance kreatininu (ml/s), medián</b>	1,56 (0,4 – 3,8)
<b>Bilirubin (<math>\mu\text{mol/l}</math>), medián</b>	12 (6 - 52)
<b>Granulocyty nad <math>1 \times 10^9/\text{l}</math> po transplantaci od dne, medián</b>	14 (0 - 34)

**2.4.1. MDU v rámci celého souboru**

V rámci celé skupiny transplantovaných došlo k rozvoji MDU u 87/117 (74%) pacientů. Incidence se však výrazně lišila podle typu předtransplantační přípravy – v případě protokolu Bu/CY2/±ATG dosahovala 100%, při FLU/MEL 78% a jen minimálně se objevila při FLU/CY s postižením 9% pacientů ( $p=0,0046$ ). Těžká MDU st.3-4 dle WHO byla pozorována pouze po přípravě Bu/CY2/±ATG (43%) a FLU/MEL (38%). Protokoly Bu/FLU/ATG a HD-CY nebyly dále analyzovány s ohledem na minimální četnost.

K rozvoji MDU došlo v celém souboru mediánu od dne 5 (2-13) po transplantaci. Postižení přetrvávalo s mediánem 12 (1-34) dní. K ústupu komplikace docházelo v mediánu den 17 (9-37) po transplantaci. Viz také dále tabulka č.2, grafy č. 1, 2, 3, 4 a obrázek č.3 a 4 na následujících stranách.

**Tabulka č.2:**

**Charakteristiky mukozitidy dutiny ústní (MDU) u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk**

Charakteristika	
<b>n=</b>	117
<b>MDU incidence:</b>	
<i>v celém souboru</i>	87/117 (74%)
<i>Bu/CY2/±ATG</i>	30/30 (100%)
<i>FLU/MEL</i>	55/71 (78%)
<i>FLU/CY</i>	1/12 (9%)
<b>MDU st. 3-4 dle WHO, incidence:</b>	
<i>v celém souboru</i>	40/117 (34%)
<i>Bu/CY2/±ATG</i>	13/30 (43%)
<i>FLU/MEL</i>	27/71 (38%)
<i>FLU/CY</i>	0/12 (0%)
<b>MDU max. stupeň dle WHO, medián</b>	2 (1-4)
<b>MDU start, medián den po transplantaci</b>	5 (2-13)
<b>MDU trvání, medián dny</b>	12 (1-34)
<b>MDU ústup, medián den po transplantaci</b>	17 (9-37)

**2.4.2. MDU v rámci FLU/MEL vs. Bu/CY2**

Hodnoceno bylo 71 pacientů po přípravě FLU/MEL a 30 pacientů po Bu/CY2/±ATG. Nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi oběma skupinami v zastoupení pohlaví, sourozeneckých nebo HLA identických transplantací, obsahu CD34+ buněk ve štěpu a hodnot clearance kreatininu a hladin bilirubinu. Statisticky významné rozdíly byly zastiženy v četnějším zastoupení starších pacientů, štěpu periferních krvetvorných buněk a časnější reparační granulopoézy u FLU/MEL protokolu. Bližší údaje jsou v tabulce č. 3.

**Tabulka č.3:**

**Charakteristiky srovnávaných souborů FLU/MEL vs. Bu/CY2±ATG**

<b>Charakteristika</b>	<b>FLU/MEL</b>	<b>Bu/CY2/±ATG</b>	<b>p=</b>
<b>n=</b>	71	30	-
<b>věk</b> (roky), medián	56 (23-68)	35 (20-55)	< 0.0001
<b>pohlaví</b> - muži	51 %	57 %	NS
<b>dárce štěpu</b> – sourozenec	44 %	24 %	NS
<b>HLA identický dárce</b>	79 %	73 %	NS
<b>štěp:</b> periferní krvetvorné buňky	100 %	67 %	< 0.0001
<b>počet CD34+ ve štěpu</b> ( $\times 10^6/\text{kg}$ ), medián	4,95 (1,6-15,2)	5,05 (2,2-22,8)	NS
<b>clearance kreatininu</b> (ml/s), medián	1,5 (0,4-3,0)	1,8 (0,7-3,3)	NS
<b>bilirubin</b> (umol/l), medián	13 (6-52)	11 (6-38)	NS
<b>granulocyty</b> $> 1 \times 10^9/\text{l}$ po transplantaci od dne, medián	13 (0-26)	15 (11-34)	0.0007

Po přípravě FLU/MEL došlo k rozvoji MDU u 78% pacientů. U 38% bylo postižení těžké se stádii 3-4 dle WHO s perorálním příjmem vyloučeným nebo omezeným pouze na tekutiny a kaše. K rozvoji MDU došlo v mediánu od dne 6 (2-10) po transplantaci, postižení přetrvávalo celkem 12 (1-34) dní a k ústupu komplikace docházelo v mediánu den 18 (9-37) po transplantaci. Výsledky srovnání charakteristik se skupinou Bu/CY2/±ATG jsou uvedeny v tabulce č. 4 a v grafu 1 a 2. Viz také obrázky č. 3 a 4.

Tabulka č.4:

Charakteristiky MDU v souborech FLU/MEL vs. Bu/CY2

Charakteristika	FLU/MEL	Bu/CY2/±ATG	p=
n=	71	30	-
MDU incidence	78 %	100 %	0.004
MDU st. 3-4 dle WHO, incidence	38 %	43 %	NS
MDU max. stupeň dle WHO, medián	2 (1-4)	2 (1-4)	NS
MDU start od dne po transplantaci, medián	6 (2-10)	5 (2-13)	NS
MDU trvání dní, medián	12 (1-34)	11 (2-31)	NS
MDU ústup od dne po transplantaci, medián	18 (9-37)	16 (9-35)	NS

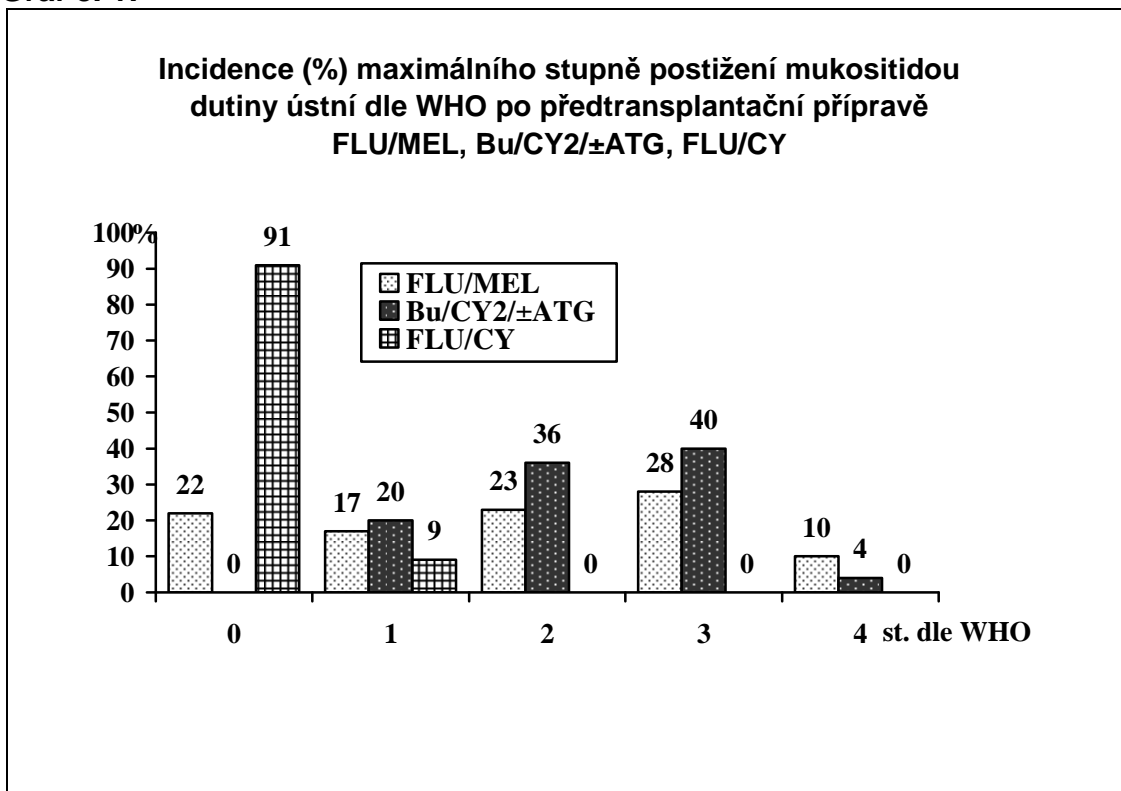


Obrázek č.3: Mukozitida dutiny ústní – v sublinguální oblasti přítomen erytém a centrálně defekt krytý pablánou, den +9 po alogenní transplantaci krevetvorných buněk po přípravě FLU/MEL (foto autor).

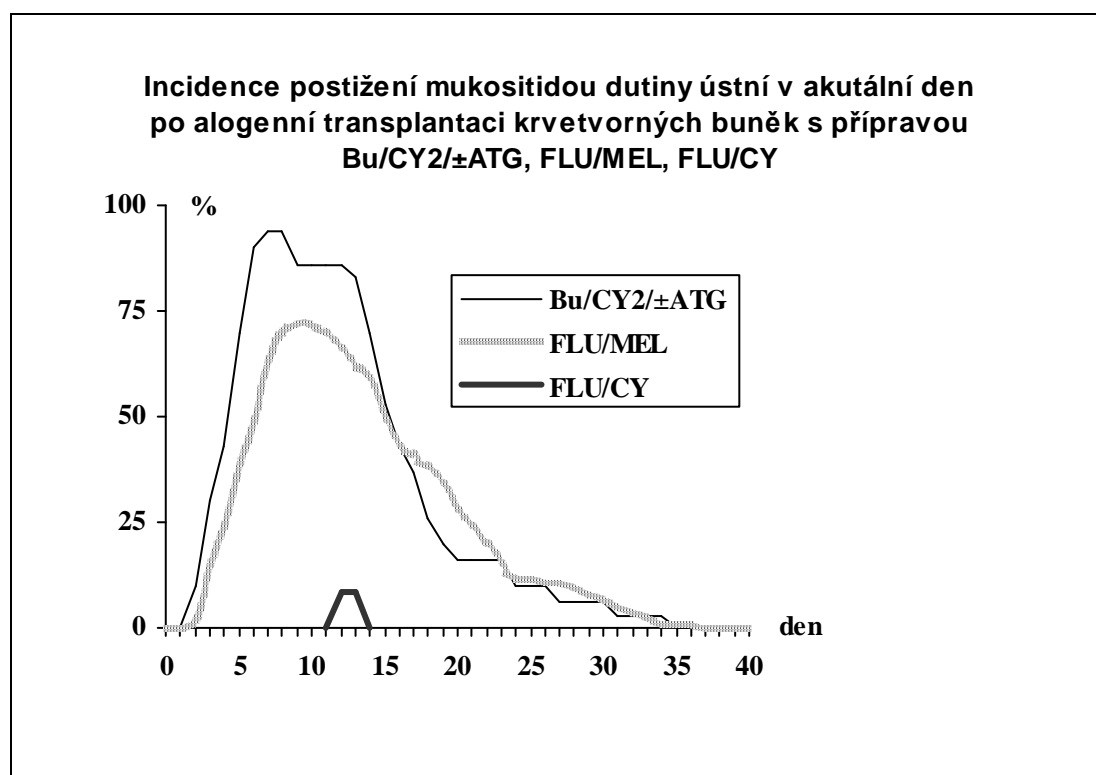


**Obrázek č. 4:** Mukozitida dutiny ústní – bukálně vlevo centrálně přítomen defekt krytý pablánou a v okolí erytém, den +12 po alogenní transplantaci krevetvorných buněk po přípravě FLU/MEL (foto autor).

**Graf č. 1:**



**Graf č. 2:**



#### **2.4.3. Statistická analýza potenciálních rizikových faktorů MDU**

V souboru FLU/MEL neprokázala univarianní analýza korelaci mezi výskytem MDU a věkem pacientů. Významně častěji byla MDU přítomna u žen (89% vs. 67%,  $p=0,045$ ), u pacientů s dávkou melfalanu  $\geq 3,5$ mg na kilogram hmotnosti pacienta (88% vs. 65%,  $p=0,037$ ) a dále u pacientů s nižším body mass indexem (BMI), kde s ohledem na rozložení mediánů hodnot a jejich rozptyl nešlo o klinicky zásadní a kvantitativně zřetelné vymezení (26 (14-39) vs. 28 (17-43),  $p=0,018$ ).

V multivarianní analýze celého souboru 117 pacientů byl jako nezávislý rizikový faktor pro incidenci a tíži MDU prokázán vliv přípravného předtransplantačního režimu - Bu/CY2 vs. FLU/MEL vs. FLU/CY ( $p=0,0001$ ). Nebyl prokázán vliv věku, pohlaví, body mass indexu, HLA kompatibility dárce a příjemce, typu štěpu, obsahu CD34+ buněk ve štěpu, hladiny bilirubinu, clearance kreatininu, počtu dní od poslední chemoterapie, anamnézy MDU v minulosti a přítomnosti zubních protéz nebo diabetu.

#### **2.4.4. Akutní GVHD a postižení dutiny ústní u FLU/MEL**

Akutní GVHD byla přítomna u 29/71 (41%) pacientů po předtransplantační přípravě FLU/MEL s mediánem nástupu reakce v den 25 (15-158) po transplantaci. Tíže GVHD dle Glucksberga (0-4) odpovídala st.1: 4%, st.2: 69%, st.3: 23%, st.4: 4% pacientů. Cílové orgány byly postiženy v četnosti: kůže 86%, gastrointestinální trakt 75% a játra 41%.

Postižení sliznic dutiny ústní bylo patrné u 6/71 (8%), respektive u 6/29 (21%) pacientů s akutní GVHD. Nebyl signifikantní rozdíl ve skupině FLU/MEL vs. Bu/CY2/±ATG (8% vs. 4%,  $p=0,67$ ). Nástup postižení dutiny ústní byl v mediánu dne 85 (40-140) po transplantaci, v délce trvání 24(7-54) dní a s ústupem v mediánu dne 113 (93-150) po transplantaci. U všech pacientů byla pro celkovou tíži GVHD větší než st. 2 dle Glucksberga zahájena systémová léčba s cyklosporinem A a metylprednisolonem.

#### **Četnost maximálního stupně postižení DÚ dle NIH (st. 0-3):**

*st.1 - 5/6 (83%), st.2 - 1/6 (17%), st.3 - 0*

#### **Subjektivní obtíže:**

*suchost sliznice 4/6 (67%), bolest 2/6 (33%), bez problémů 1/6 (17%).*

#### **Makroskopické změny:**

*lichenoidní změny 5/6 (83%), erytém 2/6 (33%), defekt-pseudomembrána 1/6 (17%), atrofie 1/6 (17%).*

#### **Četnost postižení regionů:**

*bukální oblast 6/6 (100%), jazyk 2/6 (33%), rty 1/6 (17%), patro 1/6 (17%).*

#### **2.4.5. Chronická GVHD a postižení dutiny ústní u FLU/MEL**

K rozvoji chronické GvHD po FLU/MEL přípravě došlo rovněž u 29/71 (41%) pacientů s mediánem nástupu reakce v den 225 (107-540) po transplantaci. Intenzita GvHD podle globálního skóringu NIH byla: mírná 10/29 (35%), střední 14/29 (48%), těžká 5/29 (17%). K postižení orgánů docházelo v četnosti: kůže 76%, játra 27%, oči 17%, gastrointestinální trakt 17% a plíce 10%. Izolovaná GvHD dutiny ústní byla přítomna u 5/29 (17%) pacientů.



Postižení sliznic dutiny ústní bylo patrné u 21/71 (29%), respektive u 21/29 (72%) pacientů s chronickou GVHD. Postižení nastupovalo v mediánu dne 230 (107-540) po transplantaci, přetrvávalo 135 (11-665) dní a ustupovalo v mediánu dne 362 (178-835). Nebyl signifikantní rozdíl v postižení u FLU/MEL vs. Bu/CY2/±ATG (29% vs. 20%,  $p=0,46$ ).

U 5/29 (17%) pacientů s izolovaným GVHD postižením dutiny ústní byla zajištěna lokální léčba s využitím roztoku s dexamethasonem, 18% pacientů bylo léčeno systémově monoterapií s cyklosporinem a 65% kombinovanou imunopresí s cyklosporinem a metylprednisolonem.

#### **Četnost maximálního stupně postižení DÚ dle NIH (st.0-3):**

*st.1 - 17/21 (80%), st.2 - 2/21 (10%), st.3 - 2/21 (10%).*

#### **Subjektivní obtíže:**

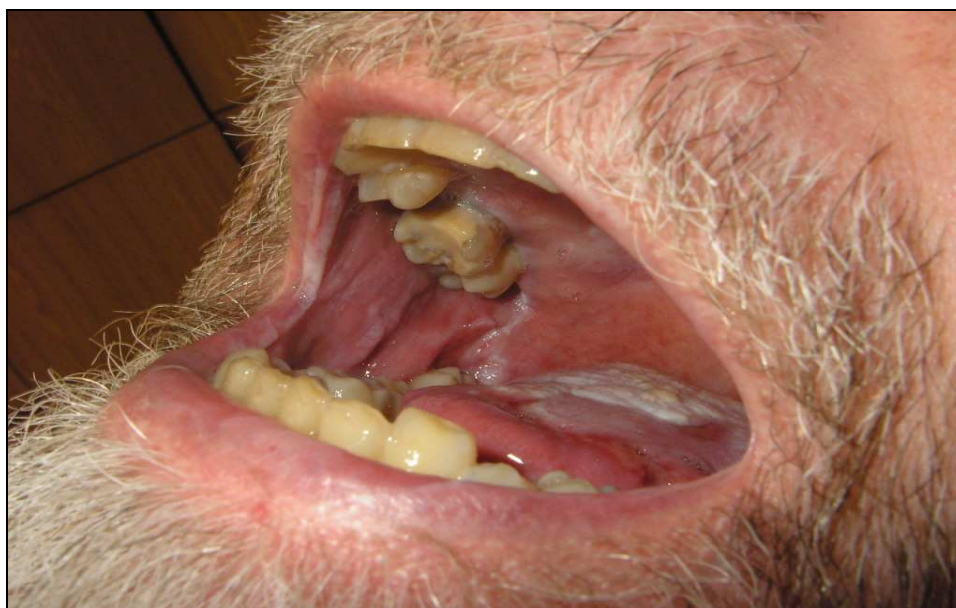
*suchost sliznic 15/21 (71%), bolest 11/21 (52%), dyskomfort 6/21 (29%), bez problémů 3/21 (14%).*

#### **Makroskopické změny sliznice:**

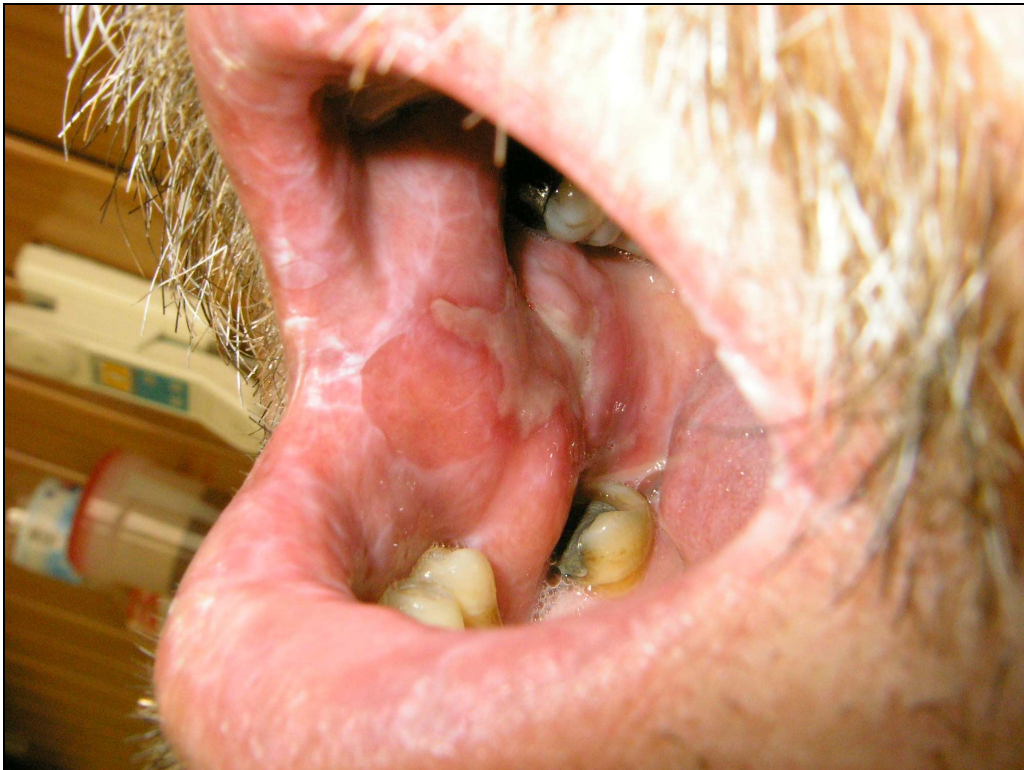
*lichenoidní změny 21/21 (100%), erytém 8/21 (38%), defekt-pseudomembrána 10/21 (48%), atrofie 3/21 (14%), hyperkeratóza 2/21 (9%)*

#### **Četnost postižených regionů:**

*bukální oblast 21/21 (100%), jazyk 9/21 (43%), rty 7/21 (33%), patro 7/21 (33%), současné postižení všech lokalit 4/21 (19%).*

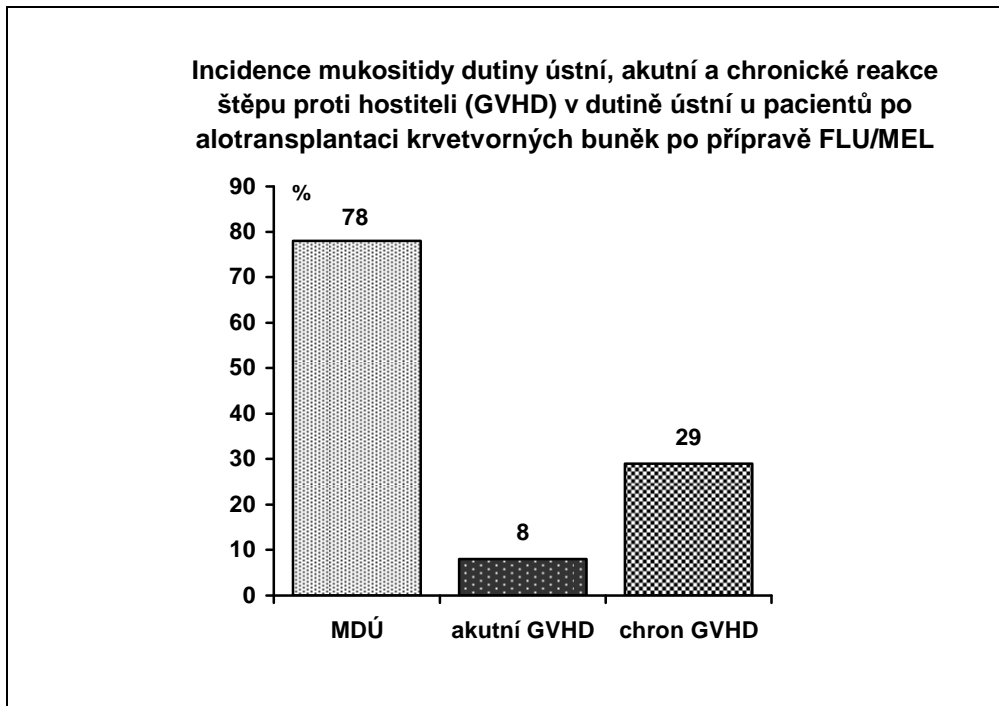


**Obrázek č. 5:** Chronická GVHD – lichenoidní změny na rtech, buukálně a na jazyku, atrofie sliznice vpředu na jazyku a dále pak hyperkeratóza, 18 měsíců po alogenní transplantaci krevetvorných buněk po přípravě FLU/MEL (foto autor).



**Obrázek č.6:** chronická GVHD, lichenoidní postižení sliznice difúzně, bukálně atrofie a defekt sliznice s lemem erytému, 11 měsíců po alogenní transplantaci periferních krvetvorných buněk po přípravě FLU/MEL (foto autor).

**Graf č. 3:**



#### **2.4.6. Vztah MDU a GVHD**

Stav, kdy došlo k rozvoji akutní GVHD u pacienta s ještě nezhojenou MDU byl v celém souboru transplantovaných pozorován u 50% (11/22) pacientů s MDU perzistující v den +21 a déle. Vedle toho pak byla u pacientů s takto protražovanou MDU také signifikantně zvýšena incidence akutní GVHD (68% vs. 32%,  $p=0,005$ ). Logistická regrese potvrdila významnou závislost akutní GVHD na tíži a protražovaném trvání MDU ( $p=0,044$ ,  $p=0,005$ ).

#### **2.4.7. Histologické nálezy:**

Histologické hodnocení bylo verifikováno u případů klinicky zřejmého GVHD postižení dutiny ústní po přípravě FLU/MEL. Z celkem 27 případů GVHD bylo na základě souhlasu 14 pacientů odebráno 14 vzorků bukalní sliznice. Dva vzorky byly zhmožděné odběrem a byly hodnoceny patologem jako nerepresentativní.

V celkem 12 vzorcích (4x pacient s klinicky akutní GVHD, 8x s klinicky chronickou GVHD) odebraných v mediánu dne 165 (78-420) po transplantaci bylo provedeno běžné histologické hodnocení v době diagnózy a dále byla později ještě provedena revize všech hodnotitelných vzorků.

Při revizi prováděné histopatologem šlo o „slepé hodnocení“, kdy jedinou informací u histologického preparátu byla klinická diagnóza GVHD (jako kritérium pro zařazení do studie), bez znalosti doby po transplantaci, makroskopického vzhledu a podobně. Byly hodnoceny znaky jako u GVHD v kůži (56) a rysy popsány v jediné obsáhlejší klinicko-histopatologické studii o GVHD v ústní dutině (Soares et al., 48). Tyto základní charakteristiky jsou uvedeny v tabulce č. 5, která uvádí současně výsledky hodnocení souboru histologických vzorků.

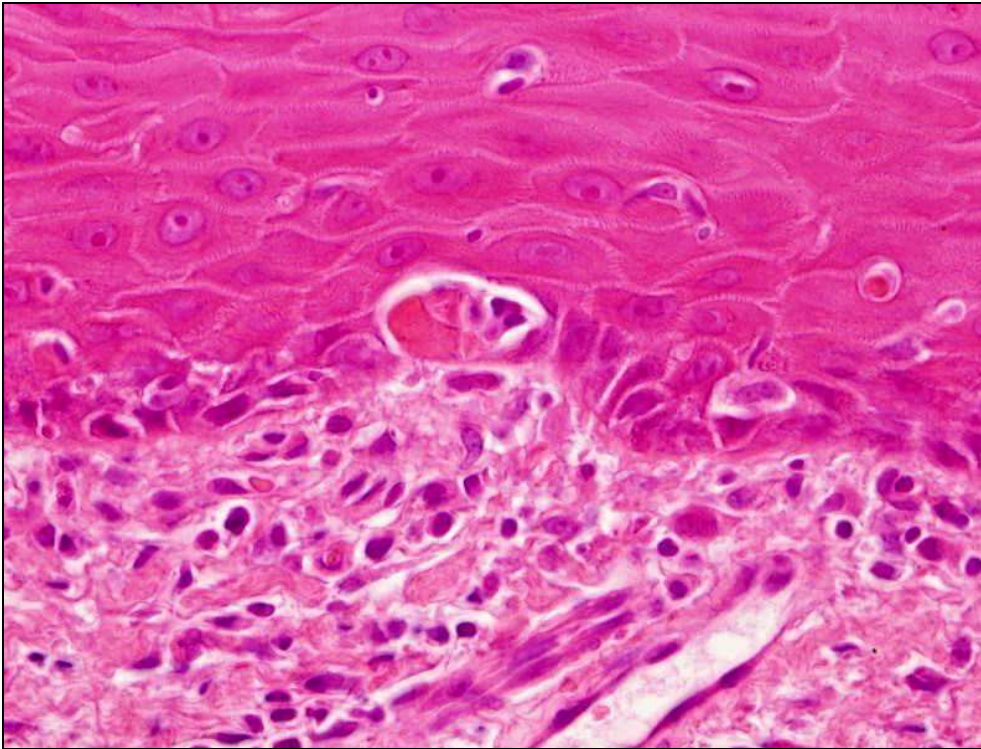
Tabulka č. 5:

**Histologické nálezy GVHD dutiny ústní u pacientů po alogenní  
transplantaci krvetvorných buněk po přípravě FLU/MEL.**

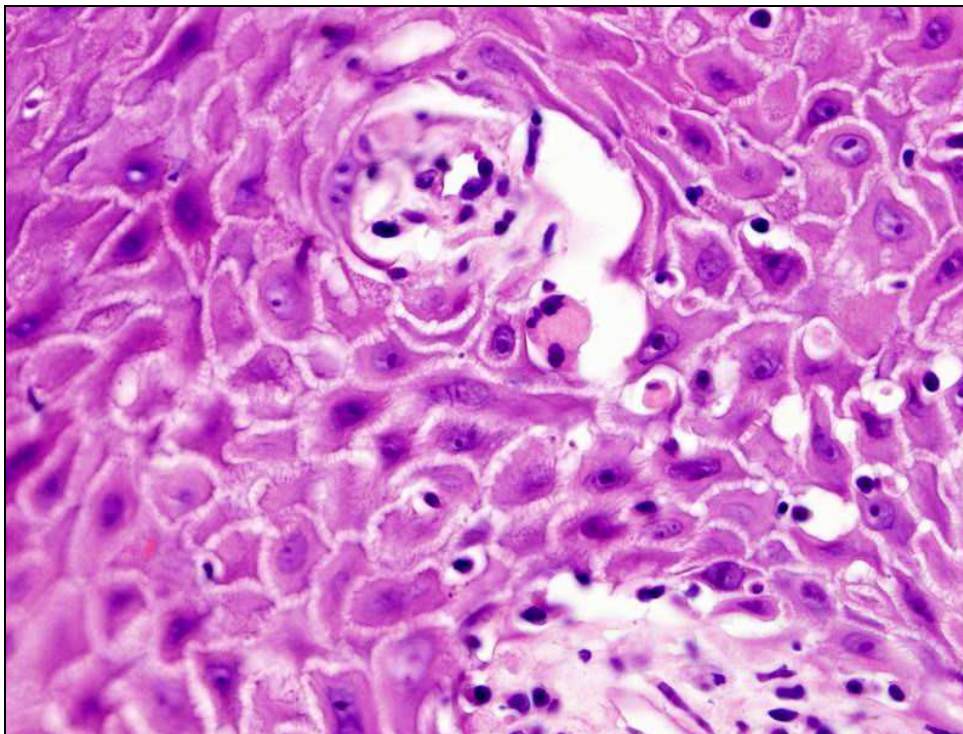
Znak	Počet případů GVHD (celkem: 12)	Případy aGVHD (4)	Případy cGVHD (8)
“Interface dermatitis“	12 (100%)	4 (100%)	8 (100%)
Hydropické změny bazální vrstvy epitelu	10 (83%)	4 (100%)	5 (63%)
Lymfocytární infiltrát v junkci	12	4 (100%)	8 (100%)
Apoptózy, satelit nekrózy	12 (100%)	4 (100%)	8 (100%)
Atrofie epitelu	3 (25%)	1 (25%)	2 (25%)
Akantóza	7 (58%)	3 (75%)	4 (50%)
Parakeratóza	3 (25%)	1	2 (25%)
Spongióza	2 (17%)	0	1 (12,5%)
Dysplazie keratinocytů	2 (17%)	0	2 (25%)
Eosinofily	6 (50%) (1 výrazné)	3 (75%)	3 (38%) (1 výrazné)
Cleavage	0	0	0
Fibróza stromatu	0	0	0
Edém pojiva	1 (8%)	0	1(12,5%)
Slinné žlázy	4 (33%)	1 (25%)	3 (38%)
Fibróza slinných žláz	3	1	2
Atrofie acinů	3	1	2
Zánětlivý infiltrát	4	1	3

**Poznámka:** Výraz “interface dermatitis“ používáme v ústní dutině jako terminus technicus převzatý z kůže, protože pregnantně popisuje mikroskopický nález a je v histopatologické praxi zažitý (s vědomím, že výraz dermatitis není v ústní dutině zcela na místě).

Na základě přítomnosti uvedených znaků, z nichž za nejdůležitější považujeme “interface dermatitis“ s apoptózami včetně satelitních nekróz ( viz obrázek č. 7 a 8), jsme stanovili, že nálezy jsou v souladu s klinickou diagnózou GVHD. Nebyly patrné histologické vlastnosti, které by umožnily mikroskopicky rozlišit akutní GVHD od chronické. U akutní GVHD jsme našli častěji eosinofily a akantózu, ale nepovažujeme to za diagnosticky signifikantní.

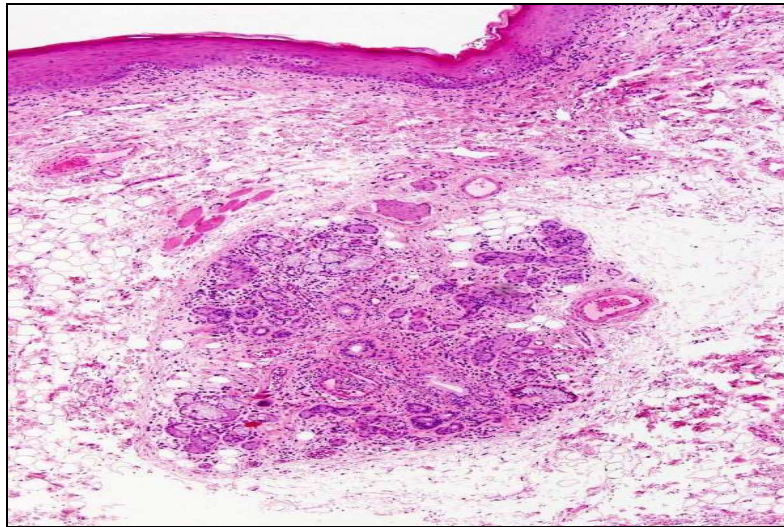


**Obr. č. 7:** Excize bukální sliznice (hematoxylin-eosin): uprostřed v bazální vrstvě epitelu satelitní nekróza. Subepiteliálně mírný, převážně lymfocytární infiltrát, ojediněle eozinofil a extravazace erytrocytů. Lehký edém pojiva a mírná spongióza (foto: P.Mukenšnabl).

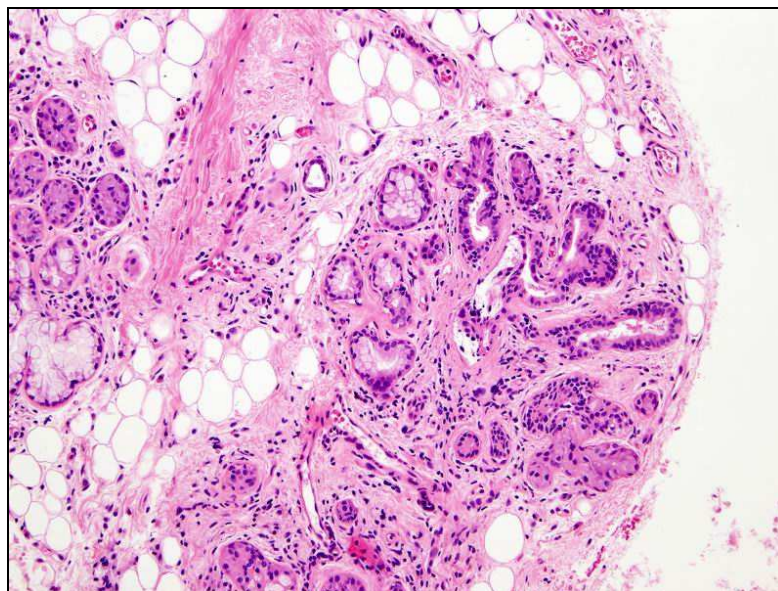


**Obr. č. 8:** Excize bukální sliznice (hematoxylin-eosin): uprostřed v epitelu prokrojená stromální papila, vedle ní satelitní nekróza. Spongióza. Lehce naznačeno odchlípení epitelu od subepiteliálního pojiva – cleavage (foto: P.Mukenšnabl).

Odštěpení epitelu od subepiteliálního pojiva (cleavage) jsme neprokázali – náznak tohoto jevu jsme pozorovali vzácně, je na fotografii č. 8, ale takovou to velmi drobnou změnu jsme hodnotili jako „negativní“. Cleavage v rámci zánětu by mělo být odlišeno od arteficiálních trhlin vzorku, které jsou časté. Slinné žlázy byly zachyceny ve 4 z 12 vzorků (33%), obsahovaly fibrózu, atrofii acinů a zánětlivý infiltrát (fotografie č. 9 a 10). Výrazný edém subepiteliálního vaziva s extravazátý erytrocytů byl patrný v 1 případě chronické GVHD.



**Obr. č. 9:** Excize bukální sliznice (hematoxylin-eosin): dlaždicový epitel s parakeratózou, pod ním mírný lichenoidní infiltrát. Smíšená slinná žláza s atrofií acinů, fibrózou a chronickým zánětlivým infiltrátem (foto: P.Mukenšnabl).



**Obr. č.10:** Detail: smíšená slinná žláza s atrofií acinů, fibrózou a chronickým zánětlivým infiltrátem (foto: P.Mukenšnabl).

## 2.5. Diskuze:

Cílem práce bylo charakterizovat klinické a morfologické rysy postižení dutiny ústní v rámci MDU a GVHD u pacientů po alogenní transplantaci krevetvorných buněk s ohledem na předtransplantační přípravu a především se zaměřením na režim FLU/MEL, o jehož orální toxicitě zatím nejsou publikovány prakticky žádné zkušenosti a současně v písemnictví chybí i přehledné údaje o charakteristikách akutní GVHD v oblasti dutiny ústní.

Do prospektivního sledování byl zařazen reprezentativní počet 117 pacientů léčených alogenní transplantací krevetvorných buněk. Většina byla transplantována po přípravě FLU/MEL (n=71) a dále po Bu/CY2/±ATG (n=30). Charakter předtransplantační přípravy byl v multivariantní analýze statisticky signifikantně (p=0,0001) prokázán jako nezávislý rizikový faktor pro výskyt MDU u jednotlivých režimů s maximem toxicity v rámci Bu/CY2/±ATG (100%), dále FLU/MEL (78%) a minimem výskytu po FLU/CY (9%).

S ohledem na četnost v souborech byly další analýzy zaměřeny na FLU/MEL a BU/CY2/±ATG. Mezi oběma skupinami nebyly významné rozdíly v základních demografických a transplantačních charakteristikách. Vyšší věk, zastoupení štěpu periferních krevetvorných buněk a časnější reparace granulopoézy u pacientů s FLU/MEL vyplývá již z podstaty tohoto protokolu s redukovanou intenzitou, který je primárně určen pro starší a silně předléčené pacienty (35, 36, 37, 38, 39, 40).

MDU po přípravě FLU/MEL se ve srovnání s konvenčním BU/CY2/±ATG vyskytla sice statisticky signifikantně méně (78% vs. 100%, p=0,0046), ale z pohledu klinického stále ve velmi významné důležitosti. Obzvláště pak s ohledem na to, že incidence těžké MDU st. 3-4 dle WHO a rovněž další popisované charakteristiky této komplikace (nástup, trvání, ústup MDU ) byly v obou skupinách srovnatelné. Rozdíl věku pacientů mezi skupinami nejspíše neměl na MDU vliv. Dosavadní práce nic takového neprokazují nebo mají výsledky protichůdné (10, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 43) a navíc ani v rámci našeho sledování a statistických analýz toto nebylo potvrzeno.

Výskyt MDU (78%) ve sledované skupině FLU/MEL pacientů byl lehce nižší, než pozorováno u Krögera et al. (37) s incidencí 88%, ten ale používal k hodnocení toxicity jiné metodiky než podle WHO. Aisa et al. (40) s incidencí

85% zase zařadil do sledování i pacienty s přípravou doplněnou o celotělové ozáření nebo vysokodávkovaný cytosin-arabinosid.

Významnou roli v orální toxicitě protokolu FLU/MEL nesporně hraje melfalan, který je jinak zodpovědný za MDU v případě monochemoterapie s melfalanem v rámci vysokodávkované přípravy před autologní transplantací periferních krvetvorných buněk (24, 43). U fludarabinu naopak taková toxicita popsána nebyla. Na druhé straně je však nutno podotknout, že na rozvoj a charakter MDU mohl mít vliv kromě samotné chemoterapie v předtransplantační přípravě také metotrexát aplikovaný v rámci prevence GVHD, jak bylo potvrzeno v několika sledováních (44, 45, 46). Zhodnotit vliv metotrexátu nebo fludarabinu na toxicitu v naší kohortě však nelze s ohledem na charakter sledování, který by jinak vyžadoval zajistit početnější a také kontrolní skupiny pacientů bez aplikace metotrexátu nebo fludarabinu, což prakticky nelze realizovat.

Podle pozorování v této práci byla v případě FLU/MEL protokolu zastižena významně zvýšená incidence MDU u žen, jak bylo pozorováno také při sledování u souborů autologně transplantovaných po přípravě s melfalanem 200mg/m<sup>2</sup> nebo „BEAM“ (10) nebo při léčbě 5-fluorouracilem (52). Dále byla tendence k vyšší incidenci MDU u pacientů s nižším body mass indexem (BMI). Za těmito faktory se však může skrývat vliv vyšší obdržené dávky melfalanu na kilogram tělesné hmotnosti, když u pacientů se stejným tělesným povrchem bude absolutní aplikovaná dávka melfalanu vždy stejná (140mg/m<sup>2</sup>), ale pacienti s nižší hmotností, respektive nižším BMI (většinou ženy) musí zákonitě obdržet více mg melfalanu vztahované na kilogram hmotnosti. Tento vliv dávky byl prokázán i v našem souboru v univariantsní analýze, kde výskyt MDU koreloval statisticky signifikantně s vyšší dávkou melfalanu na kilogram hmotnosti (< 3,5 vs. ≥ 3,5mg/kg).

Stejně jako Woo et al. (47) bylo pozorováno delší přetrvávání MDU u pacientů s těžkou formou MDU (st. WHO 2-4) nebo u pacientů následně postižených GVHD. U poloviny pacientů s MDU přetrvávající v den 21 a déle po transplantaci byla přítomna situace, kdy se při stále trvající MDU současně rozvinula i akutní GVHD s mediánem nástupu v den 20 ( 15 - 30). Na druhé straně, obecná incidence akutní GVHD byla významně vyšší u pacientů s prolongovanou MDU. Multivariantsní analýza pak prokázala významnou závislosti akutní GVHD na tíži a prolongovanosti MDU. Tato pozorování ukazují



na blízkou provázanost procesů hrajících roli při patogenezi MDU i akutní GVHD, kdy časná GVHD může podporovat perzistenci původně toxické mukozitidy a naopak prolongovaná MDU dále zvyšuje riziko akutní GVHD (47, 54).

Bohužel, z běžného klinického pohledu izolovaného čistě na dutinu ústní, a ani histologickou verifikací, není možné jednoznačně odlišit etiologii postižení dutiny ústní u těchto případů, kdy se prakticky ještě neodeznělá MDU překrývá s již aktivní akutní GVHD probíhající u pacienta, a navíc MDU prolongovaná nad den +21 po transplantaci byla pozorována také po autologních transplantacích (10, 43) bez výskytu GVHD. Odlišení etiologie postižení dutiny ústní v těchto případech lze považovat za přínosné v případě studií sledujících efekt medicínských nebo ošetrovatelských postupů v profylaxi a terapii MDU nebo akutní GVHD. V běžné klinické praxi nemá rozlišení MDU nebo GVHD dutiny ústní v době tří týdnů po transplantaci zásadní vliv na probíhající celkovou léčebnou strategii a navíc o zahájení léčby akutní GVHD rozhodují především projevy postižení kůže, jater a střeva a nikoliv dutiny ústní, která navíc při akutní GVHD nebývá zasažena izolovaně – narozdíl od případů při chronické GVHD.

Při pouze izolovaném pohledu do dutiny ústní může být problematické i rozlišení zda jde o postižení akutní nebo chronickou GVHD. Základní problémy pacienta, jako je dyskomfort, bolest a suchost dutiny ústní lze zastihnout u obou forem GVHD. Makroskopické změny byly rovněž většinou obdobné a to včetně lichenoidních změn, které byly patrné v našem souboru nejčastěji bukálně u pacientů s aktivní chronickou, ale i akutní GVHD. V literatuře jsou lichenoidní změny uváděny jako charakteristický rys chronické GVHD dutiny ústní a údaje o charakteristikách akutní GVHD v dutině ústní jsou naprosto ojedinělé (53). Snad částečně spolehlivějším vodítkem v klinickém odlišení akutní a chronické GVHD dutiny ústní by mohla být přítomnost velmi intenzivních lichenoidních změn v několika regionech dutiny ústní a dále nález hyperkeratózy, který byl zde v kohortě zastížen jen u chronické GVHD – nicméně zcela výjimečně a snad i z důvodu včasných záchytů GVHD reakcí a zahájení patřičné imunosupresivní léčby bránící progresi postižení do těžkých forem.

Pouze podle histologického obrazu a bez znalosti klinického kontextu také není odlišení akutní a chronické GVHD dutiny ústní možné. Histologické nálezy byly

v našem souboru velmi podobné jak u případů, které byly na základě klinického obrazu klasifikovány jako akutní (4 vzorky), tak i u chronických GVHD (8 vzorků). Nebyla patrna mikroskopická kritéria pro jejich rozlišení. Výrazný edém subepiteliálního vaziva s extravazátami erytrocytů, jako známka akutního průběhu, byl patrný v jednom případě chronické GVHD, což však může znamenat i akutní exacerbaci chronického procesu. Histologicky jsme jinak typicky nacházeli "interface dermatitis" a apoptózy a včetně satelitních nekrotizací. Výraz "interface dermatitis" používáme v kontextu s dutinou ústní jako terminus technicus převzatý z problematiky kůže, protože pregnantně popisuje mikroskopický nálezný obraz a je v histopatologické praxi zažitý (s vědomím, že výraz dermatitis není ve vztahu k dutině ústní zcela na místě). V 50% případů všech GVHD byly eosinofily ve stromatu, což někteří autoři považují za znak svědčící spíše pro alergický původ, není však specifický (56). Pouze v 1 případě chronické GVHD byly eosinofily markantní. Odštěpení epitelu od subepiteliálního pojiva (tzv. cleavage) jsme, na rozdíl od Soares et al (48), neprokázali. Slinné žlázy byly zachyceny ve 4 z 12 vzorků (33%), obsahovaly fibrózu, atrofii acinů a zánětlivý infiltrát. Soares et al (48) upozorňují na diagnostický význam postižení slinných žláz, které je častější a výraznější než postižení okolní sliznice.

Diferenciální diagnóza GVHD v kůži a podobně i v ústní dutině zahrnuje zejména toxické či alergické lékové reakce a virové infekce, dále lichen ruber planus a lichenoidní reakci na protézu. U pozdních forem chronické GVHD v kůži se vyvíjí fibróza histologicky neodlišitelná od systémové sklerózy, kterou jsme neidentifikovali v žádném případě GVHD v ústní sliznici (56). Připomínáme, že histologické změny u GVHD v ústní dutině nejsou patognomické. Podobně ani v kůži, s níž jsou u těchto pacientů větší diagnostické zkušenosti, nemůže být GVHD diagnostikována výlučně histologicky, ale mikroskopický nálezný obraz má být hodnocen vždy v kontextu klinického obrazu a laboratorních výsledků.

Odlišení zda postižení dutiny ústní souvisí s akutní nebo chronickou GVHD může být opět přínosné pro studie sledující incidenci a charakter těchto komplikací u transplantovaných pacientů. Správné posouzení postižení dutiny ústní může mít vliv i při rozhodování o léčbě chronické GVHD, kdy s ohledem na intenzitu a extenzitu projevů bývá upravována medikace (41, 55).

Postižení sliznic dutiny ústní v rámci akutní GVHD bylo u FLU/MEL a BU/CY2/±ATG režimu prakticky minimální a srovnatelné v četnosti do 8%. Pakliže bychom přiřadili i výše zmiňované pacienty s překrývající se MDU a akutní GVHD, pak by tato incidence vzrostla, ale to by byla již spekulace.

Postižení dutiny ústní chronickou GVHD mělo v této kohortě FLU/MEL pacientů nižší incidenci (29%), než bylo popisováno v případě poměrně širokého sledování po alogenní transplantaci krvetvorných buněk (n=147) u Busca (30), kde incidence dosahovala až 54%. Do Buscova souboru byly ale zařazeni pacienti bez ohledu na protokol předtransplantační přípravy a doba sledování byla výrazně delší s mediánem 1792 (964-4374) dní ve srovnání s našimi 346 (6-1230) dny, což ztěžuje možnost srovnání. Lze předpokládat, že v případě delšího sledování by ještě incidence v našem souboru mohla narůst. V Buscově souboru se při mediánu rozvoje v den 148 objevovala chronická GVHD dutiny ústní až do dne 925 a v našem souboru se případ objevil zatím nejdéle v den 540 po transplantaci. V každém případě lze i tak považovat výskyt postižení pacientů chronickou GVHD v dutině ústní po FLU/MEL přípravě za významný.

U většiny FLU/MEL pacientů s GVHD dutiny ústní se jednalo o mírnější postižení (st. 1 dle NIH) doprovázené především pocitem suchosti sliznic, dyskomfortem až bolestí, nicméně bez omezeného per orálního příjmu. Obtíže však měly poměrně protrahované trvání s mediánem 135 (11-665) dní a pacienti je vnímali vesměs negativně.

Makroskopicky byly v 96% případů GVHD dutiny ústní pozorovány lichenoidní změny sliznice v bukální oblasti, jak u akutní tak i chronické GVHD, a v celkem 12 reprezentativních vzorcích odebraných k histologickému ověření u pacientů s GvHD dutiny ústní (4x klinicky akutní GvHD, 8x chronická GvHD) byl popsán plně odpovídající patologický korelát, tedy nález satelitních nekrotických a lymfocytárního, resp. „interface inflammation“, a to jak u chronické tak u akutní formy GVHD. Diverzita T-lymfocytární populace popisovaná některými autory (48, 49, 50) v infiltrátu nemá zcela jasný význam. Může jít o rozdílnost danou metodikou imunohistochemie, velikostí sledovaných souborů nebo fází GVHD (48) - pro klinickou praxi však tato problematika není důležitá.

## **2.6. Závěr:**

Práce charakterizovala klinické a morfologické projevy dutiny ústní v rámci MDU a akutní a chronické GVHD u pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných buněk se zaměřením na protokol FLU/MEL, u kterého podobná problematika doposud nebyla takto vůbec zpracována.

Práce přinesla informace o histologických rysech akutní GVHD v oblasti dutiny ústní, přičemž tomuto tématu rovněž není v literatuře prakticky věnována pozornost.

Bylo zaznamenáno zřetelné prolínání makroskopických a histologických charakteristik v případě chronické i akutní GVHD dutiny ústní, což není v dostupné literatuře zvlášť zmiňováno.

Odlišení akutní nebo chronické GVHD dutiny ústní vyžaduje zhodnocení GVHD aktivity a klinicko-patologického obrazu u pacienta jako celku. Izolovaný morfologický makroskopický a histologický nálezn může být obdobný u obou forem postižení.

Protokol FLU/MEL lze považovat stejně jako BU/CY2/±ATG za vysoce toxický pro oblast dutiny ústní. Protokol FLU/CY takový potenciál nemá.

Těžké formy orální GVHD jsou po FLU/MEL ojedinělé, ale s ohledem na délku přetrvávání i nižších stupňů postižení se jedná o klinicky významný problém.

Podrobná charakteristika MDU a GVHD u významných protokolů hemat-onkologické léčby a individuálních rizikových faktorů má význam pro hledání postupů omezujících toxicitu a pro definování výrazně ohrožených skupin pacientů, kteří by mohli profitovat z cílených léčebných a především profylaktických postupů.

## **2.7. Seznam použité literatury:**

1. Raber-Durlacher J, Barasch A, Peterson E. et al. Oral Complications and management considerations in patients treated with high-dose cancer chemotherapy. Supportive Cancer Therapy 2004: 1, 219-229.
2. Sonis S, Oster G, Fuchs H et al. Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation. J Clin Oncol 2001: 19, 2201-2205.

3. Bellm LA, Epstein JB, Rose-Ped A et al. Patients reports of complications of bone marrow transplantation. *Support Care Cancer* 2000: 8, 33-39.
4. Sonis S. The pathobiology of mucositis. *Nat Rev Cancer* 2004: 4, 277-284.
5. Moss SF, Wright NA. Molecular aspects of mucosal repair: a summary (comment). *J Biol Med* 1996: 69, 155-158.
6. Blijlevens N, Donnelly JP, De Pau BE. Mucosal barrier injury: biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy: an overview. *Bone Marrow Transplant* 2000: 25, 1269-1278.
7. Ruescher TJ, Sodeifi A, Scrivani SJ et al. The impact of mucositis on alpha-hemolytic streptococcal infection in patients undergoing autologous bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Cancer* 1998: 82, 2275-281.
8. Donnelly JP, Dompeling EC, Meis JF et al. Bacteremia due to oral viridans streptococci in neutropenic patients with cancer: cytostatics are a more important risk factor than antibacterial prophylaxis. *Clin Infect Dis* 1995: 20, 469-4670.
9. Donnelly JP, Bellm LA, Epstein JB et al. Antimicrobial therapy to prevent or to treat oral mucositis. *Inf Dis* 2003: 3, 405-412.
10. Vokurka S, Bystricka E, Koza V et al. The comparative effects of povidone-iodine and normal saline mouthwashes on oral mucositis in patients after high-dose chemotherapy and APBSCT—results of a randomized multicentre study. *Support Care Cancer* 2005: 13, 554-558.
11. Rubenstein E, Peterson D, Schubert M et al. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer* 2004: 100, 2026-2046.
12. Hill GR, Crawford JM, Cooke KR et al. Total body irradiation and acute graft-versus-host disease: the role of gastrointestinal damage and inflammatory cytokines. *Blood* 1997: 90, 3204-3213.

13. Beelen DW, Elmaagacil A et.al. Influence of intestinal bacterial decontamination using metronidazole and ciprofloxacin or ciprofloxacin alone on the development of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation in patients with hematologic malignancies: final results and long-term follow-up of an open-label prospective randomized trial. *Blood* 1999; 93, 3267-3275.
14. Woo SB, Sonis ST, Monopoli MM et al. A longitudinal study of oral ulcerative mucositis in bone marrow transplant recipients. *Cancer* 1993; 72, 1612-1617.
15. Popescu RA, Norman A, Ross PJ et al. Adjuvant or palliative chemotherapy for colorectal cancer in patients 70 year or older. *J Clin Oncol.* 1999; 17, 2412-2418.
16. Ulrich C, Yasui Y, Storb R et al.: Pharmacogenetics of methotrexate: toxicity among marrow transplantation patients varies with the methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism. *Blood* 2001; 98, 231 – 234.
17. Kuilenburg A, Haasjes J, Richel D et al.: Clinical Implications of Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) Deficiency in Patients with Severe 5-Fluorouracil-associated Toxicity: Identification of New Mutations in the *DPD* Gene. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6, 4705.
18. Chen E. Impact of Addisons disease and psoriasis on the frequency of oral mucositis. Thesis. Harvard School of Dental Medicine, 2003.
19. Bolwell BJ, Kalaycio M, Sobecks R et al., A multivariable analysis of factors influencing mucositis after autologous progenitor cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 30, 587-591.
20. Robien K, Schubert M, Bruemmer B et al., Predictors of Oral Mucositis in Patients Receiving Hematopoietic Cell Transplant for Chronic Myelogenous Leukemia. *JCO* 2004; 22, 7, 1268-1275.
21. Raber-Durlacher JE, Weijl NI, Abu Saris M et al., Oral mucositis in patients treated with chemotherapy for solid tumors: a retrospective analysis of 150 cases. *Support Care Cancer*, 2000; 8, 366-71.

22. Montserrat VL, Sonis S, Oster G. Burden of oral mucositis and/or esophagitis in patients undergoing radiation treatment for head and neck cancer or non-small cell lung cancer. *JCO*, 2004: 22, 8104.
23. McCarthy GM, Awde JD, Ghandi H et al. Risk factors associated with mucositis in cancer patients receiving 5-fluorouracil. *Oral Oncol* 1998: 34, 484-90.
24. Rapoport AP, Miller Watelet LF, Linder T et al. Analysis of Factors that correlate with Mucositis in Recipients of Autologous and Allogeneic Stem-Cell Transplant. *JCO* 1999: 17, 2446-2453.
25. Branda RF, Naud SJ, Brooks EM et al. Effect of vitamin B12, folate, and dietary supplements on breast carcinoma chemotherapy induced mucositis and neutropenia. *Cancer* 2004: 100, 1058-64.
26. Sonis ST, Elting LS, Keefe D et al. Perspectives on cancer therapy-induced mucosal injury: pathogenesis, measurement, epidemiology, and consequences for patients. *Cancer* 2004: 1009, 1995-2025.
27. Dodd MJ, Miskowski C, Shiba GH et al. Risk factors for chemotherapy-induced oral mucositis: dental appliances, oral hygiene, previous oral lesions, and history of smoking. *Cancer Invest* 1999: 17, 278-84.
28. Devergie A. Graft versus host disease. In *The EBMT Handbook – Haematopoietic stem cell transplantation*, 2008, p.219-234..
29. Treister NS, Woo SB, O'Holleran EW, Lehmann LE, Parsons SK, Guinan EC. Oral chronic graft-versus-host disease in pediatric patients after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, Sep 2005: 11, 721-731.
30. Busca A, Locatelli F, Vai S, Dall'Omo AM, Gargiulo A, Falda M. Clinical grading of oral chronic graft-versus-host disease in 104 consecutive adult patients. *Haematologica*, 2005: 90, 567 - 569.
31. Lee S, Klein JP, Barrett AJ, Ringden O et al. Severity of chronic graft-versus-host disease: association with treatment-related mortality and relapse. *Blood*, 2002: 100, 406-414.

32. Flowers M, Parker P, Johnston L, Matos A et al. Comparison of chronic graft-versus-host disease after transplantation of peripheral blood stem cells versus bone marrow in allogeneic recipients: long-term follow-up of a randomized trial. *Blood*, 2002: 100, 415-419.
33. Gratwohl A, Baldomero H, Horisberger B et al. Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe. *Blood*, 2002: 100, 2374-2386.
34. Ljungman P, Gratwohl A. Indications and current practice for allogeneic and autologous HSCT for haematological diseases, solid tumors and immune disorders. In *The EBMT Handbook – Haematopoietic stem cell transplantation*, 2008.
35. Gratwohl A, Baldomero H, Passweg J, et al. Increasing use of reduced intensity conditioning transplants: report of the 2001 EBMT activity survey. *Bone Marrow Transplant*. 2002: 30, 813-831.
36. Giralt S, Thall PF, Issa K, et al. Melphalan and purine analog-containing preparative regimens: reduced-intensity conditioning for patients with hematologic malignancies undergoing allogeneic progenitor cell transplantation. *Blood*. 2001: 97, 631-637
37. Kröger N, Sayer H, Schwerdtfeger R et al. Unrelated stem cell transplantation in multiple myeloma after a reduced-intensity conditioning with pretransplantation antithymocyte globulin is highly effective with low transplantation-related mortality. *Blood*, 2002: 100, 3919 - 3924.
38. Inamoto Y, Oba T, Miyamura K et al. Stable engraftment after a conditioning regimen with fludarabine and melphalan for bone marrow transplantation from an unrelated donor. *Int J Hematol*, 2006: 83, 356-362.
39. Anderlini P, Saliba R, Acholonu S et al. Fludarabine-melphalan as a preparative regimen for reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation in relapsed and refractory Hodgkin's lymphoma: the updated M.D. Anderson Cancer Center experience. *Haematologica*, 2008: 93, 257-264.



40. Aisa Y, Mori T, Kudo M et al. Oral cryotherapy for the prevention of high-dose melphalan-induced stomatitis in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients. *Support Care Cancer*, 2005: 13, 266-269.
41. Filipovich AH, Weisdorf D, Pavletic S et al. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005:11, 945-956.
42. Glucksberg H, Storb R, Fefer A et al. Clinical manifestations of graft-versus-host disease in human recipients of marrow from HL-A-matched sibling donors. *Transplantation*, 1974: 18, 295-304.
43. Blijlevens N, Schwenkglenks M, Bacon P et al. Prospective Oral Mucositis Audit: Oral Mucositis in Patients Receiving High-Dose Melphalan or BEAM Conditioning Chemotherapy—European Blood and Marrow Transplantation Mucositis Advisory Group. *J. Clin. Oncol.*, 2008: 26, 1519-1525.
44. Cutler C, Laglenne P, Ford C et al. Oral Mucositis Incidence and Severity after Methotrexate and Non-Methotrexate Containing GVHD Prophylaxis Regimens. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2004; 104: 351.
45. Bolwell B, Sobecks R, Pohlman B. A prospective randomized trial comparing cyclosporine and short course methotrexate with cyclosporine and mycophenolate mofetil for GVHD prophylaxis in myeloablative allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34: 621-625.
46. Bensinger W, Schubert M, Ang KK. Task Force Report. prevention and management of mucositis in cancer care. *J Natl Compr Canc Netw* 2008; 6: Suppl 1: 1-21.
47. Woo SB, Sonis ST et al. A longitudinal study of oral ulcerative mucositis in bone marrow transplant recipients. *Cancer*, 1993: 72, 1612-1617.
48. Soares AB, Faria PR, Magna LA et al. Chronic GVHD in minor salivary glands and oral mucosa: histopathological and immunohistochemical evaluation of 25 patients. *J Oral Pathol Med*, 2005: 34, 368-373.

49. Mattsson T, Sundqvist KG, Heimdahl A, G Dahllof et al. A comparative immunological analysis of the oral mucosa in chronic graft-versus-host disease and oral lichen planus. *Arch Oral Biol*, 1992: 37, 539-547.
50. Hasseus B, Jontell M, Brune M, Johansson P, Dahlgren UI. Langerhans cells and T cells in oral graft versus host disease and oral lichen planus. *Scand J Immunol*, 2001: 54, 516-524.
51. Nakamura S, Hiroki A, Shinohara M et al. Oral involvement in chronic graft-versus-host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 1996: 82, 556-563.
52. Chansky K, Benedetti J, Macdonald JS. Differences in toxicity between men and women treated with 5-fluorouracil therapy for colorectal carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 1165-1171.
53. Chor A, Sotero Caio AB, de Azevedo AM. The irreplaceable image: Amelioration of oral mucosal lesions of acute graft-versus-host disease by low-level laser therapy. *Haematologica*, 2001: 86, 1321.
54. Brennan M, Bültzingslöwen I, Schubert M, Keefe D. Alimentary Mucositis: putting the guidelines into practice. *Support Care Cancer* 2006: 14, 573-579.
55. Standardní operační postup (SOP) č.121A/01 Nemoc z reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) – léčba chronické GVHD, Hematologicko-onkologické oddělení Fakultní nemocnice v Plzni, 2008.
56. McKee P, Calonje E, Granter S. Lichenoid and Interface Dermatoses - GVHD. In *Pathology of the Skin with Clinical Correlations*, third edition. Elsevier Mosby 2005, p.250 – 255.

### **3. Kaposiho sarkom po alogenní transplantaci periferních krvetvorných buněk – raritní sekundární neoplázie**

#### **3.1. Přehled o současném stavu problematiky**

Kaposiho sarkom (KS) se typicky manifestuje na kůži v podobě vícečetných hyperpigmentovaných, až sytě fialových kožních papul a plaků. Postihovat může i sliznici dutiny ústní, gastrointestinální trakt, lymfatické uzliny a plíce. Histologicky je KS reprezentován proliferací neoplastických větvených endotelií vytvářejících štěrbinovité prostory obsahující erythrocyty. V patologické tkáni jsou pak pravidelně detekovány sekvence DNA lidského herpetického viru 8 (Human herpesvirus 8, HHV-8), který je mimo jiné zodpovědný za kódování genů stimulujících angiogenezu. Studie klonality navíc odhalují jak monoklonální, tak polyklonální rysy (1,2,3,4) této neoplázie.

V patofyziologii a epidemiologii KS může hrát roli celá řada faktorů a interakcí – např. glukokortikoidy využívané při imunosupresivní léčbě přímo podporují růst buněčných linií sarkomu (5) a souběžně probíhající jiné infekce pravděpodobně rovněž mají význam v jeho etiopatogenezi (1,15,16). Spontánní regrese KS se mohou objevit, obzvláště u iatrogeního podtypu sarkomu, který postihuje pacienty léčené imunosupresivy a po transplantacích orgánů.

Prevalence KS u pacientů po transplantaci ledvin se blíží 4% (6). Na druhé straně, u pacientů po transplantacích krvetvorných buněk je KS raritní, ačkoliv HHV-8 séropozitivita je v této populaci obecně vysoká - 12% kanadských a 18% francouzských pacientů (7,8).

Doposud, podle dostupných literárních sdělení, bylo popsáno do deseti případů výskytu KS po alogenní transplantaci krvetvorných buněk po myeloablativní nebo nemyeloablativní přípravě, přičemž v České republice se jedná o první takový případ (9,10,11,12,13).

### **3.2. Cíl práce**

Popsat klinicko-patologické charakteristiky raritní sekundární neoplázie po alogenní transplantaci krvetvorných buněk.

### **3.3. Metodika**

Kazuistika 58-leté a HIV negativní pacientky s nově diagnostikovanou akutní B-lymfoblastickou leukémií s přítomností Ph-1 chromozómu a pozitivitou fúzního genu BCR-ABL v době od 2/2004 na Hematologicko-onkologickém oddělení FN v Plzni.

Vyšetření tkáně sarkomu na Šiklově patologicko-anatomickém ústavu v Plzni histologicky a dále molekulárně-geneticky PCR analýzou tkáně na průkaz DNA sekvencí HHV-8 viru s použitím primeru Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus ( KSHV-1: 5'-AGCCGAAAGGATTCCACCAT-3' a KSHV-2: 5'-TCCGTGTTGTCTACGTCCAG-3').

Stanovení populací CD-4, CD-8, CD-19, CD-16 a CD56 pozitivních lymfocytů v periferní krvi průtokovou cytometrií (FACS) na Hematologicko-onkologickém oddělení FN v Plzni.

### **3.4. Výsledky:**

V 2/2004 byla na Hematologicko-onkologickém oddělení FN v Plzni u jinak zdravé, 58-leté a HIV negativní pacientky diagnostikována akutní B-lymfoblastická leukémie s přítomností Ph-1 chromozómu a pozitivitou fúzního genu bcr-abl. Indukční léčbou ( prednison, vinkristin, idarubicin) bylo dosaženo hematologické kompletní remise. V 4/2004 po přípravě s redukovanou intenzitou podle protokolu FLU/MEL (fludarabin 30mg/m<sup>2</sup> v den -5 až -2, melfalan 140mg/m<sup>2</sup> v den -1) podstoupila pacientka transplantaci periferních krvetvorných buněk od HLA-identického bratra. Kompletní molekulární remise a plný dárcovský chimérismus byl dosažen ve 30. dni (den +30) od transplantace. Pro rozvoj akutní reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) s postižením kůže, st. II dle Glucksberga, bez histologické verifikace, byla ode dne +23 po transplantaci doplněna původní imunosupresivní léčba s cyklosporinem A o metylprednisolon v dávce 2mg/kg/den s postupnou redukcí v následném období. V den +120 byla léčba cyklosporinem A ukončena a dávka kortikoidu v té době již snížena na

4mg každý druhý den. Následně však pro nový rozvoj histologicky verifikované GvHD od dne +140 s postižením kůže, střevní sliznice a jater byla původní kombinovaná imunosuprese opět ode dne +150 plně obnovena. V potransplantačním období do dne +160 proběhly u pacientky opakované infekční komplikace včetně invazivní aspergilové plicní infekce a enterokolitidy s pozitivitou *Clostridium difficile*, *Pseudomonas aeruginosa*, methicilin-rezistentního *Staph. aureus* (MRSA) a *Candida albicans* a celkem 5x byla metodikou PCR-DNA prokázána reaktivace cytomegalovirové (CMV) infekce s dosažením clearance viru při preempektivní léčbě s ganciclovirem nebo foscavirem.

V průběhu dní +90 až +120 se postupně na končetinách, trupu a hlavě pacientky rozvinuly, vedle již přítomných petechií a sufúzí, vícečetné tmavší, až sytě fialové, nebolestivé, 3-10 mm veliké papuly s hladkým lesklým povrchem (viz obrázky č. 1 a 2).



**Obrázek č.1:** Ložiska Kaposi sarkomu na trupu, vedle petechií a sufúzí

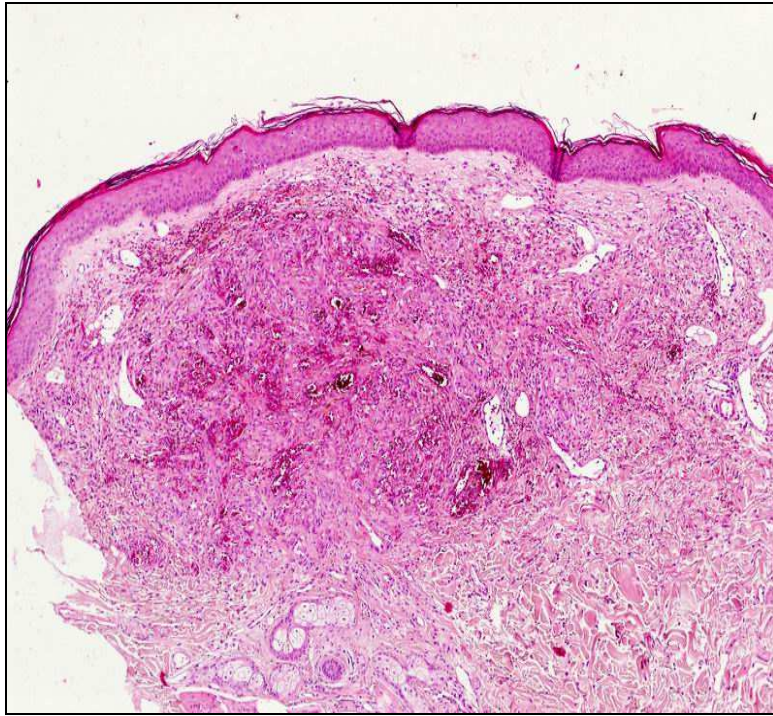


**Obrázek č.2:** *Ložisko Kaposi sarkomu na předloktí*

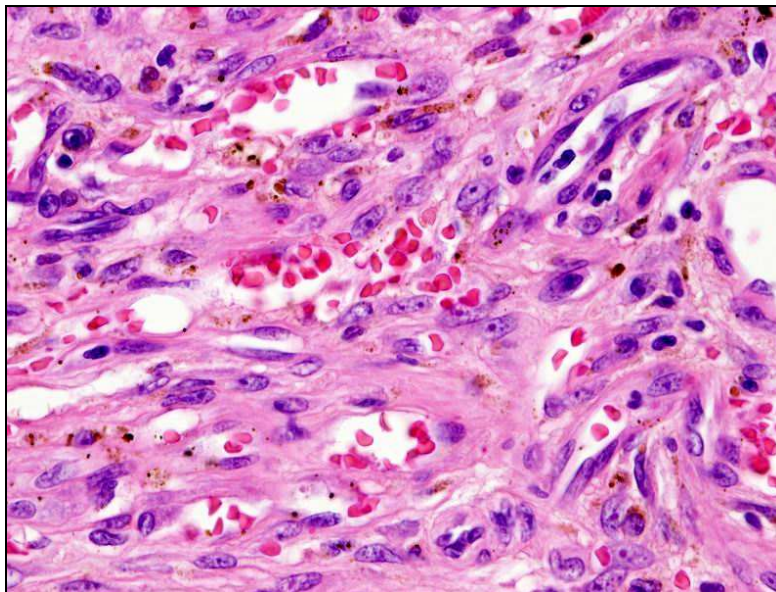
Histologické vyšetření nodulu prokázalo proliferaci větvenitých, atypických endotelií s přítomností PAS pozitivních globulů, přítomnost abnormálních cév, depozita hemosiderinu a extravazáty erytrocytů (viz obrázky č. 3, 4, 5).



**Obrázek č.3:** *Kaposi sarkom v excizi z předloktí*



**Obrázek č. 4:** *Kaposi sarkom*



**Obrázek č. 5:** *Kaposi sarkom*

Molekulárně-geneticky PCR analýzou byly v tkáni prokázány DNA sekvence HHV-8 viru s použitím primeru Kaposi's Sarcoma-associated Herpesvirus (14). Hladiny imunoglobulinů se u pacientky v té době pohybovaly na hodnotách IgG 4,0 g/l, IgA 0,3 g/l and IgM 0,2 g/l. Počet CD4 pozitivních lymfocytů (T-helper) byl 133/uL, CD8 (T-suppressor) 93/uL, CD-19 (B-cells) 8/uL, CD-16 a CD-56 (NK cells) 78/uL.

V období dní +180 až 350 byla vybraná ložiska KS na hlavě a končetinách ošetřována bariovým laserem (595nm, Candela) s efektem v podobě částečné regrese ošetřovaných ložisek. Přibližně ode dne +270, kdy již nedošlo k výskytu žádné významné infekce a imunosupresivní léčba s metylprednisolonem byla redukována na 4mg ob den, začalo docházet k pozvolné spontánní regresi KS. Počet CD4 pozitivních lymfocytů (T-helper) se pohyboval nad 240/ul. Od dne +390 zůstaly v místě původních postižení již jen reziduální pigmentace. V den +1500 (respektive 4,2 roku po transplantaci) v červnu 2008 přetrvává u pacientky kompletní remise ALL a KS.

### **3.5. Diskuze:**

Diagnóza Kaposiho sarkomu u naší pacientky je s ohledem na klinicko-patologické charakteristiky jednoznačná. Vedle těžké potransplantační imunodeprivace, jako potenciálně primární příčiny podporující rozvoj KS, zde stojí za povšimnutí především souběh manifestace KS s výskytem závažných infekcí, včetně CMV, které mohou podle některých autorů (1,15,16) pravděpodobně potencovat vývoj tohoto sarkomu, např. podporou aktivity viru HHV-8. Nicméně souběh manifestace KS se závažnými infekcemi (včetně opakované reaktivace CMV) může vyplývat právě z těžkého imunodeficitu u této pacientky s ALL, po alogenní transplantaci krvetvorných buněk a GVHD postižením vyžadujícím kombinovanou imunosupresivní léčbu a dlouhodobé užívání kortikoidu. A naopak, KS regredoval, stejně jako se již neobjevily závažné infekce až s odstupem řady měsíců po transplantaci při redukci a vysazování imunosupresiv. Bohužel sérum pacientky ani dárce nebylo testováno na přítomnost HHV-8 DNA sekvencí nebo HHV-8 protilátek a tak cesta přenosu viru HHV-8 (štěp, transfúze nebo endogenní reaktivace) zůstává neznáma.

Tento případ současně podporuje pozorování, která neprokázala efekt antivirové léčby s ganciclovirem nebo foscavirem na potlačení sarkomu u transplantovaných pacientů, i když tato virostatika, včetně cidofoviru, mají potenciál inhibovat replikaci viru HHV-8 in vitro (1).



### **3.6. Závěry:**

Byly popsány klinicko-patologické charakteristiky raritní sekundární neoplázie po alogenní transplantaci krvevorných buněk. Sledování dalších případů pacientů s KS po transplantacích a podpora výzkumu etiopatogeneze a epidemiologie jsou nadále nezbytné pro bližší pochopení podstaty této komplikace.

### **3.7. Seznam použité literatury:**

1. Francés C.: Kaposi's sarcoma after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13;2768-2773.
2. Moosa MR.: Kaposi's sarcoma in kidney transplant recipients: a 23-year experience. *QJM* 2005;98;205-214.
3. Delabesse E., Oksenhendler E., Lebbe C et al.: Molecular analysis of clonality in Kaposi's sarcoma. *J Clin Pathol* 1997;50;664-668.
4. Rabkin CS, Bedi G, Musaba E et al.: AIDS-related Kaposi's sarcoma is a clonal neoplasm. *Clin Cancer Res* 1995;1;257-260.
5. Cai J, Zheng T, Lotz M et al.: Glucocorticoids induce Kaposi's sarcoma cell proliferation through the regulation of transforming growth factor-beta. *Blood* 1997;89;1491-1500.
6. Cattani P, Capuano R, Raffeo R et al.: Kaposi's sarcoma associated with previous human herpesvirus 8 infection in kidney transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2001;39;505-508.
7. Sergerie Y, Abed Y, Roy J et al.: Comparative evaluation of three serological methods for detection of human herpesvirus 8-specific antibodies in Canadian allogeneic stem cell transplant recipients. *J Clin Microbiol* 2004;42;2663-2667.
8. Rosenzweig M, Fery N, Bons V et al.: Human herpesvirus-8 (HHV8) serology in allogeneic bone marrow transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 1999;24;351-354.

9. Medeiros BC, Rezuke WN, Ricci A et al.: Kaposi's sarcoma following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for chronic myelogenous leukemia. *Acta hematol* 2000;104;115-118.
10. Helg C, Adatto M, Salomon D et al.: Kaposi's sarcoma following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1994;14;999-1001.
11. Erer B, Angelucci E, Muretto P et al.: Kaposi's sarcoma after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997;19;629-631.
12. Bruno B, Sorasio R, Barozzi P et al.: Kaposi's sarcoma triggered by endogenous HHV-8 reactivation after non-myeloablative allogeneic hametopoietic transplantation. *Eur J Haematol* 2006;76;358-359.
13. Palencia S, Rodriguez-Peralto J, Castano E et al.: Kaposi's sarcoma after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Intern J Dermatol* 2003;42;647-649.
14. Serfling U, Lukowsky A, Audring H et al: W. Search for Kaposi's sarcoma-associated virus DNA in hemangioproliferative disorders and cutaneous malignant lymphoma. *J Cutan Pathol* 1997;24;298-304.
15. Sleiman C, Mal H, Roue C et al.: Bronchial Kaposi's sarcoma after single lung transplantation. *Eur Respir J* 1997;10;1181-1183.
16. Siegal B, Levinton-Kriss S, Schiffer A et al.: Kaposi's sarcoma in immunosuppression. Possibly the result of a dual viral infection. *Cancer* 1990;65;492-498.

#### 4. Seznam zkratek

- AA – aplastická anémie
- APC – antigen presenting cells
- ALL- akutní lymfoblastická leukémie
- AML - akutní myeloidní leukémie
- Ara-C – cytarabin, cytostatikum
- ATB – antibiotika
- ATG – antithymocytární globulin
- BMI – body mass index
- CIMF - chronická idiopatická myelofibroza
- CLL – chronická lymfatická leukémie
- CyA – cyklosporin A
- EBMT – Evropská společnost pro transplantace krve a kostní dřeně (The European Group for Blood and Marrow Transplantation)
- G-CSF – růstový faktor granulopoezy
- GIT – gastrointestinální trakt
- GVHD – graft versus host disease, reakce štěpu proti hostiteli
- HLA – human leukocyte antigen
- IL - interleukin
- INF - interferon
- KS – Kaposiho sarkom
- LGL – large granular lymphocyte
- MDS – myelodysplastický syndrom
- MDU – mukozitida dutiny ústní
- MH – morbus Hodgkin
- MM – mnohočetný myelom
- MTX – metotrexát
- NHL – non-hogkinský lymfom
- NIH – National Institutes of Health
- NK – natural killer
- OMF – osteomyelofibróza
- SAA – severe aplastic anemia
- TNF – Tumor necrosis factor
- WHO – World Health Organization

## 5. Příloha – vzdělávací a vědecké aktivity autora ve vztahu k tématu dizertace

### Výuka:

1. Od 2/2006: Vysoká škola v Plzni, o.p.s., studium bakalářských a zdravotnických oborů, katedra ošetrovatelství, předmět onkologie.
2. 10-11/2008: Certifikovaný kurz „Ošetrovatelská péče v hemato-onkologii“, FN Plzeň, Hemato-onkologická onemocnění, diagnostika, léčebné postupy, komplikace pacientů.

### Monografie:

1. Vokurka S, et al. Ošetrovatelské problémy a základy hemoterapie – učební texty a ošetrovatelské problémy nejen pro sestry z oboru hematologie a onkologie. Galén, 2005.

### Přednášky:

1. II.Hematologický seminář EDIPO, sestry, 15.-17.6.2001, Špičák. Extravazace a flebitidy po chemoterapii. Poškození sliznice dutiny ústní hemato-onkologických pacientů.
2. V.Hematologický seminář EDIPO, sestry, 1.-3.10.2004, Červená n.Vltavou. Mukositida dutiny ústní po chemo/aktinoterapii v r.2004.
3. 21<sup>st</sup> meeting of the EBMT Nurses Group, 20.-23.3.2005 Prague. Oral mucositis in patients after autoSCT – results of randomised multicentre study comparing povidone-iodine versus normal saline mouthwashes.
4. 21<sup>st</sup> meeting of the EBMT Nurses Group, 20.-23.3.2005 Prague. Mucositis.
5. VI. Hematologický seminář EDIPO, sestry, 7.-9.10.2005, Červená n.Vltavou. Rizikové faktory mukositivity dutiny ústní.
6. 22nd. meeting of the EBMT Nurses Group, 19.-22.3.2006, Hamburg. Characteristics of oral mucositis in patients after autologous stem cell transplantation and related risk factors – a new study proposals.
7. XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 2.6.2006, Olomouc. Mukositida dutiny ústní po vysocedávkované chemoterapii s transplantací krvetvorných buněk - současný stav, možnosti ovlivnění a výzvy do budoucna.
8. VII. Hematologický seminář EDIPO, sestry, 14.-15.9.2006 Červená n.Vltavou. Mukositida-rizikové faktory.
9. XXII.Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 29.5.2008, Olomouc. Významná slizniční toxicita v oblasti dutiny ústní v rámci

alogenních transplantací krvetvorných buněk po nemyeloablativní přípravě fludarabinem a melphalanem.

### **Články:**

1. Vokurka S., Bystricka E., Koza V. et al., The comparative effects of povidone-iodine and normal saline mouthwashes on oral mucositis in patients after high-dose chemotherapy and APBSCT—results of a randomized multicentre study. *Support Care Cancer*, 2005, 13, 554-558.
2. Bystřická E., Vokurka S., Porovnání efektu výplachů u mukositivity dutiny ústní. *Sestra* 1, 2006, p.43.
3. Vokurka S., Bystricka E., Koza V. et al., Higher incidence of chemotherapy induced oral mucositis in females: a supplement of multivariate analysis to a randomized multicentre study. *Support Care Cancer*, 2006, vol. 14, 9, 974-976.
4. Vokurka S. Mukozitida dutiny ústní a gastrointestinálního traktu u pacientů po chemoterapii – aktuální přehled. *Klinická Onkologie* 2007, vol. 20, No.1, 23 – 28.
5. Vokurka S., Kazakov D., Koza V., Pzinger K., Vozobulová V., Švojkrová M. Kaposiho sarkom po alogenní transplantaci periferních krvetvorných buněk s nemyeloablativní přípravou – kazuistika. *Trans Hemat dnes* 2007, vol.13, No.1, 32-34.
6. Nicole Blijlevens, Matthias Schwenkglenks, Pamela Bacon, Alessandra D'Addio, Hermann Einsele, Johan Maertens, Dietger Niederwieser, Werner Rabitsch, Ann Roosaar, Tapani Ruutu, Harry Schouten, Rebecca Stone, Samuel Vokurka, Barry Quinn, and Shaun McCann. Prospective Oral Mucositis Audit: Oral Mucositis in Patients Receiving High-Dose Melphalan or BEAM Conditioning Chemotherapy--European Blood and Marrow Transplantation Mucositis Advisory Group. *J Clin Oncol* 2008: vol. 26, No.9.
7. Vokurka S. Mukositida dutiny ústní u pacientů po chemoterapii. *Kompendium ambulantní medicíny - Medical Tribune* 2008, vol.4, No.7

### **Abstrakta:**

1. Bystricka E., Vokurka S., Pavlicovca V., Patorkova M., Scudlova J. ASCT – Proposals for nurses study research EDIPO 2001 (Oral mucositis prophylactic care). *Bone Marrow Transpl.*, 3/2002, vol.29, suppl.2, p.281.
2. Bystřická E., Chvojková I., Kaslová V., Vokurka S., Koza V., HOO FN Plzeň, Profylaktická péče o dutinu pacientů léčených vysocedávkovanou chemoterapií s autologní transplantací krvetvorných buněk - randomizovaná, mezinárodní sesterská studie - průběžný přehled výsledků. *Sborník abstrakt XVII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí*, 6/2003, p.89.

3. Bystřická E., Chvojková I., Kaslová V., Vokurka S., Koza V., Študlová J., Vítková J., a kol. Profylaktická péče o dutinu ústní pacientů léčených vysocedávkovanou chemoterapií s autologní transplantací krvinek - výsledky studie. Sborník abstrakt XVIII. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 6/2004, p.76.
4. Bystricka E., Chvojkova I., Vokurka S., Koza V., Kaslova V., Scudlova J., Vitkova J., Pavlicova V., Maslova J., Valentova D., Jarolikova V., Bockova J., Visokaiova M., Misaniova L. Oral mucositis in patients after autoSCT – results of randomised multicentre study comparing povidone-iodine versus normal saline mouthwashes. Bone Marrow Transplant., 3/2005, vol. 35, supplement 2, p 273.
5. Bystricka E., Vrabcova M., Vokurka S., Koza V., Scudlova J., Characteristics of oral mucositis in patients after autologous stem cell transplantation and related risk factors – a new study proposals. Bone Marrow Transplant., 3/2006, vol. 37, supplement 1, p 261.
6. Vokurka S. Mukositida dutiny ústní po vysocedávkované chemoterapii s transplantací krvinek - současný stav, možnosti ovlivnění a výzvy do budoucna. Sborník abstrakt XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 6/2006, abstr. 727, p.51.
7. Vokurka S, Koza V, Kazakov D et al. Kaposiho sarkom po alogenní transplantaci periferních krvinek s nemyeloablativní přípravou. Sborník abstrakt XX. Olomoucké hematologické dny s mezinárodní účastí, 6/2006, abstr.N15, p123.
8. Bystricka E., Vokurka S., Brandejsova R et al. Oral mucositis risk factors in patients after autologous stem cell transplantation – ongoing prospective and multicentre study. Bone Marrow Transplant., 3/2007, vol. 39, supplement 1, p 275.
9. Bystricka E., Brandejsova R, Vokurka S., Scudlova J., Vitkova J, t al. Oral mucositis risk factors in patients after autologous stem cell transplantation – ongoing prospective and multicentre study. Bone Marrow Transplant., 2008, vol. 41, supplement 1, p 404.
10. Vokurka S., Škardová J., Steinerová K. Významná slizniční toxicita v oblasti dutiny ústní v rámci alogenních transplantací krvinek po nemyeloablativní přípravě fludarabinem a melfalanem. Vnitřní lék 2008, 54 (5), 8.
11. Škardová J., Kabátová-Maxová K., Vokurka S. Nové možnosti ošetřování mukozitidy dutiny ústní u pacientů po transplantaci krvinek. Vnitřní lék 2008, 54 (5), 91.