

Lymfopenie způsobená radioterapií – možný kritický faktor v současné onkologické léčbě

Radiation induced lymphopenia – a possible critical factor in current oncological treatment

Kubeš J., Dědečková K., Abass Al-Hamami S. F., Vondráček V.

Proton Therapy Center Czech s.r.o.

Souhrn

Východiska: Vliv ionizujícího záření indikovaného k léčbě zhoubných nádorů na imunitní systém zůstával dlouho stranou hlavního zájmu. Problematika v současnosti nabývá na významu, zejména v souvislosti s rozvojem a dostupností imunoterapeutické léčby. Radioterapie je v léčbě nádorových onemocnění schopna ovlivnit imunogenicitu nádoru zvýšením exprese některých antigenů specifických pro nádor. Tyto antigeny mohou být zpracovány imunitním systémem a stimulovat naivní lymfocyty k přeměně na tumor specifické lymfocyty. Lymfocytární populace je zároveň mimořádně citlivá na nízké dávky ionizujícího záření a radioterapie často indukuje těžkou lymfopenii. Závažná lymfopenie je negativním prognostickým faktorem řady nádorových onemocnění a negativně ovlivňuje i účinnost následné imunoterapeutické léčby. **Cíl:** V článku shrnujeme možné ovlivnění imunitního systému radioterapií s důrazem na ovlivnění cirkulujících imunitních buněk zářením a důsledky tohoto ovlivnění pro vývoj nádorového onemocnění. **Závěr:** Lymfopenie je významným faktorem ovlivňujícím výsledky onkologické léčby a její výskyt je při radioterapii častý. Strategie redukcí riziko lymfopenie spočívají v akceleraci léčebných režimů, redukcí cílových objemů, zkracování beam-on time ozařovačů, v optimalizaci radioterapie na nové kritické orgány, použití částicové radioterapie a v dalších postupech redukcí integrální dávky záření.

Klíčová slova

lymfopenie indukovaná radiací – lymfocyty – radiosenzitivita – protinádorová imunitní reakce – stereotaktická radioterapie – částicová radioterapie

Summary

Background: The effect of ionizing radiation on the immune system during the treatment of malignant tumors has long remained a point of great interest. This issue is currently gaining importance, especially in connection with the advancing development and availability of immunotherapeutic treatment. During cancer treatment, radiotherapy has the ability to influence the immunogenicity of the tumor by increasing the expression of certain tumor-specific antigens. These antigens can be processed by the immune system, stimulating the transformation of naïve lymphocytes into tumor-specific lymphocytes. However, at the same time, the lymphocyte population is extremely sensitive to even low doses of ionizing radiation, and radiotherapy often induces severe lymphopenia. Severe lymphopenia is a negative prognostic factor for numerous cancer diagnoses and negatively impacts the effectiveness of immunotherapeutic treatment. **Aim:** In this article, we summarize the possible influence of radiotherapy on the immune system, with a particular emphasis on the impact of radiation on circulating immune cells and the subsequent consequences of this influence on the development of cancer. **Conclusion:** Lymphopenia is an important factor influencing the results of oncological treatment, with a common occurrence during radiotherapy. Strategies to reduce the risk of lymphopenia consist of accelerating treatment regimens, reducing target volumes, shortening the beam-on time of irradiators, optimizing radiotherapy for new critical organs, using particle radiotherapy, and other procedures that reduce the integral dose of radiation.

Key words

radiation-induced lymphopenia – lymphocytes – radiosensitivity – antitumor immune response – stereotactic radiotherapy – particle radiotherapy

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



doc. MUDr. Jiří Kubeš, Ph.D.

Proton Therapy Center Czech s.r.o.

Budínova 1a

181 00 Praha 8

e-mail: jiri.kubes@ptc.cz

Obdrženo/Submitted: 10. 10. 2022

Přijato/Accepted: 22. 11. 2022

doi: 10.48095/ccko20236

Úvod

Radiační onkologie soustředila v minulosti pozornost zejména na radiosenzitivitu nádorů a zdravých tkání, které byly z hlediska radiačního poškození považovány za významné. Hlavním cílem bylo a je dodat co nejvyšší dávku ionizujícího záření do nádoru, a to za co nejmenší radiační zátěže zdravých tkání. Úloha imunitní reakce ozařovaného pacienta při léčebné odpovědi na ozaření byla považována za vedlejší. Z hlediska úlohy imunitního systému se totiž považovalo za danou skutečnost, že nádor již unikl z dohledu imunitního systému a tento stav je více či méně nevratný. Na radioterapii bylo nahlíženo jako na čistě lokální či lokoregionální léčebnou metodu. Zprávy o systémovém, tzv. abskopálním efektu léčby zářením se považovaly za náhodné a nereprodukovatelné. V posledních letech se však s rozvojem imunoterapie a lepším pochopením vztahu mezi imunitním systémem a nádorovým onemocněním dostává interakce mezi nádorem, terapeuticky aplikovaným ionizujícím zářením a imunitním systémem do centra pozornosti. V článku shrnujeme možné souvislosti výše uvedeného s důrazem na ovlivnění cirkulujících imunitních buněk zářením a důsledky tohoto ovlivnění pro průběh nádorového onemocnění.

Radioterapie ovlivňuje imunogenicitu nádoru

Solidní nádory unikají imunitnímu systému různými mechanismy, z nichž za nejdůležitější se považuje ztráta nádorově specifických antigenů. Nádor potom nemůže být imunitním systémem rozpoznán. Kromě ztráty těchto antigenů je dalším možným imunopresivním účinkem produkce sloučenin inhibujících aktivitu imunitního systému. Typickým příkladem je protein PD-L1, který je často produkován nádory a po vazbě na receptor T cell B7-1/CD80 a PD-1 receptor efektorových T-lymfocytů způsobuje jejich apoptózu a tímto mechanismem potom toleranci nádoru [1]. Jiným příkladem je funkce inhibičních regulačních T-lymfocytů, jejichž počet se zvyšuje při časném růstu nádoru [2] a které prostřednictvím CTLA-4 inhibují aktivaci T-buněčné

odpovědi buňkami prezentujícími antigen.

Radioterapie může různými cestami vyvolat indukci nádorově specifické imunitní reakce. Pro přehled uvádíme odkaz na článek Burnetta et al [3]. Radioterapie vyvolává zejména zvýšení exprese nádorových antigenů [4] a indukuje uvolňování mediátorů, které aktivují dendritické buňky prezentující antigen T-lymfocytům [5]. Nutno však uvést, že ionizující záření může též vyvolat indukci imunopresivních molekul [6].

Klíčovými konečnými buňkami v indukované protinádorové imunitní reakci jsou T-lymfocyty. Lymfocyty obecně jsou velmi citlivé na ionizující záření. Již v roce 1961 publikoval Schrek práci, při které mikroskopicky hodnotil podíl viabilních lymfocytů po ozaření různými dávkami rentgenového záření. Zjistil, že dávka záření dostačující k úmrtí 50 % lymfocytů je 30 rentgenů (0,26 Gy) a že odumírání lymfocytů začíná již při dávkách 10 rentgenů (0,09 Gy) [7]. Později Nakamura et al prokázali, že D10 (dávka redukující přežívající populaci lymfocytů na 10 %) pro CD4+ a CD8+ lymfocyty je v rozmezí 3–3,5 Gy a D90 je přibližně 0,5 Gy [8]. Vždy se však jednalo o jednorázové ozaření, data o citlivosti lymfocytární populace pro frakcionovanou radioterapii nejsou dostupná. Nicméně, lineární tvar křivky přežití po různých dávkách ionizujícího záření ukazuje, že i velmi nízké dávky záření mohou způsobit smrt lymfocytů, protože tyto buňky postrádají schopnost reparace DNA, která je asociována s lineárně-kvadratickou kinetikou klasických křivek přežívání buněk pro méně radiosenzitivní buněčné subpopulace [8,9]. Dalším vodítkem mohou být data získaná z klinické praxe v léčbě indolentních non-Hodgkinových lymfomů. Studie FoRT prokázala, že 5letá lokální kontrola folikulárních lymfomů je po dávce 2 × 2 Gy 70,4 % [10]. Při takové předpokládané citlivosti lymfocytů na ionizující záření je pravděpodobné, že populace zdravých lymfocytů přítomná v nádoru v době aplikace záření bude většinově vyhubena.

Kromě toho je reakce lymfocytů na antigeny „odkryté“ působením radioterapie v mnoha případech blokována molekulami ovlivňujícími tzv. kontrol-

ními body imunitního systému, jako jsou např. PD-L1 nebo CTLA-4. Blokování těchto molekul může vést k výraznější aktivaci imunitního systému proti nádoru [11].

Systémový, tzv. abskopální efekt radioterapie poprvé popsal Mole et al v roce 1950 [12]. Po samotné radioterapii byl pozorován raritně, ale v kombinaci s imunoterapií se popisuje stále častěji. To, že je po lokální radioterapii zprostředkovan imunitním systémem, poprvé uvedli Demaria et al [13]. Kombinace lokální radioterapie a imunoterapie se osvědčila v indukci abskopálního efektu na zvířecích modelech [14,15]. U člověka byl abskopální efekt po radio- a imunoterapii opakovaně pozorován [16–18]. Souvislostí abskopálního efektu s lymfopenií indukovanou radioterapií (radiation induced lymphopenia – RIL) se zabývali Chen et al [19]. Tito autoři kombinovali radioterapii a imunoterapii u metastatického onemocnění a sledovali abskopální efekt v místě neozařených metastáz. Zjistili, že absolutní počet lymfocytů (absolute lymphocyte count – ALC) po léčbě je zásadním prediktorem abskopálního efektu – u pacientů s ALC > než medián byl abskopální efekt pozorován u 34,2 % pacientů, zatímco u pacientů s ALC < medián pouze u 3,9 %. Pro aktivaci protinádorové imunitní reakce a abskopálního efektu jsou klíčovou populací zřejmě naivní T-lymfocyty, které migrují do rozpadající se nádorové tkáně z periferní krve, příp. lymfatického systému. Alternativně se mohou setkat s nádorovými antigeny v periferní krvi. V obou případech je ale předpokladem, že tyto naivní T-lymfocyty jsou dostupné v době, kdy dochází k rozpadu nádoru. Zdá se, že pro úspěšnou aktivaci imunitního systému proti nádoru radioterapií je nutné splnění následujících podmínek: 1) do nádorového ložiska je dodána dávka vedoucí k indukci tvorby a uvolnění nádorově specifických antigenů a vyšší dávky (typicky používané při stereotaktické radioterapii) jsou v tomto účinnější [4,20]; 2) je odblokována inhibice imunitní reakce způsobená sloučeninami produkovány nádorem, např. použitím anti-PD-1 sloučenin; 3) je k dispozici dostatečné množství naivních T-lymfocytů, které mohou

migrovat do nádoru z periferní krve, příp. lymfatickým systémem. První dva faktory jsou dobře známé a v klinické praxi brány v úvahu. Třetí se v minulosti opomíjel a jeho význam se aktuálně intenzivně vynořuje na povrch.

Lymfopenie indukovaná radiací

Lymfopenie je definována jako pokles absolutního počtu lymfocytů v periferní krvi pod 1 000/μl. Grade 1 lymfopenie je definována jako 800–999 lymfocytů/μl, grade 2 jako 500–799/μl, grade 3 jako 200–499/μl a grade 4 jako < 200 lymfocytů/μl krve. Za těžkou je považována grade ≥ 3 lymfopenie. Radioterapií indukovaná lymfopenie (RIL) je dobře popsanou klinickou jednotkou [21]. Z onkologické léčby má ionizující záření zřejmě významně větší vliv na hloubku lymfopenie i její trvání než chemoterapeutická léčba [22].

RIL je dávana do souvislosti s rozsahem ozáření jednotlivých orgánů i integrální dávkou záření. Konkrétně se jedná o rozsah ozáření velkých cév, srdce a lymfatických orgánů (mízních uzlin, sleziny, kostí obsahujících aktivní kostní dřeň a thymu u dětí) [23]. Mimo to se v souvislosti s hodnocením RIL definuje nový orgán zahrnující cirkulující lymfocyty periferní krve. Lymfocyty se dle autorů chovají jako mobilní orgán a dávka záření rozložená do většího objemu těla zvyšuje dobu ozáření cirkulujících lymfocytů. Cai et al hodnotili odhad dávky na cirkulující imunitní buňky (EDRIC) a tuto hodnotu korelovali se vzniklou lymfopenií a následným přežitím nemocných s karcinomem jícnu [24]. Zjistili, že EDRIC je nezávisle asociována s celkovým přežitím (overall survival – OS) a přežitím bez progresu (progression-free survival – PFS). Je popsána souvislost mezi velikostí ozařovacího pole a stupněm vzniklé lymfopenie indukované chemoradioterapií, např. u pacientů s karcinomem pankreatu [25]. S velikostí ozařovacího pole a použitou technikou záření pak souvisí integrální celotělová dávka, která koreluje s mírou lymfopenie, jak popsali Yang et al [26]. Další dozimetrické faktory, které ovlivňují míru lymfopenie, mohou být vztaženy k rozsahu ozáření kostní dřeně. Pro oblast hrudníku byla u pacientů léčených chemo-

radioterapií pro spinocelulární karcinom jícnu zjištěna korelace mezi lymfopenií a objemem ozáření kostní dřeně sternu (V20Gy) a dále objemem ozáření kostní dřeně obratlového těla (V50Gy). U pacientů ozařovaných pro dolní část jícnu pak byla míra lymfopenie zpravidla větší, neboť zde byly více ozářeny i ostatní orgány významné pro vznik RIL jako plíce, srdce a slezina [27]. Pro oblast páneve při chemoradioterapii análního karcinomu byla zjištěna souvislost mezi lymfopenií a rozsahem ozáření aktivní lumbosakrální kostní dřeně. Navrhovaným dávkovými limity pro aktivní dřeň byla V40Gy < 41 % a D_{mean} < 32 Gy. K zakreslení kostní dřeně je doporučováno zobrazení dle PET/CT, neboť rozložení aktivní dřeně se významně liší dle pohlaví a věku [28].

Není zcela jasné, jaké dávky pro frakcionovanou radioterapii nevratně poškozují cirkulující lymfocyty. Yu et al studovali různé faktory ovlivňující vznik lymfopenie u velké kohorty pacientek adjuvantně ozařovaných pro karcinom prsu [29]. Při analýze vlivu dávek zjistili, že lymfocyty byly senzitivní na celkové dávky < 4 Gy, velikost ozáření objemu těla byla důležitější než dávka a vyšší dávka podporovala vznik lymfopenie u stejných ozářených objemů těla. Lymfocyty se dle autorů chovají jako mobilní orgán a dávka záření rozložená do většího objemu těla zvyšuje dobu ozáření cirkulujících lymfocytů. Yovino et al modelovali vznik lymfopenie u pacientů s maligními gliomy léčenými radioterapií. Podle jejich modelu je na konci frakcionované radioterapie (60 Gy / 30 frakcí) ozářeno 98,8 % veškeré cirkulující krve dávkou alespoň 0,5 Gy [30]. Zhao et al prokázali, že lymfopenie je indukována i při vysoce konformních technikách stereotaktické radioterapie, kde míra lymfopenie koreluje s délkou ozařovacího času přístroje (tedy se složitostí použité ozařovací techniky [31]. Titíž autoři též popsali fakt, že pro prognózu pacientů je podstatná míra lymfopenie při radioterapii a že následně zotavení se z lymfopenie již nemá pro prognózu nemocných význam. Vysvětlením by mohl být fakt, že naivní lymfocyty vzniklé s odstupem měsíců po radioterapii se již nemožou setkat s nádorovými antigeny vznik-

lymi při rozpadu nádorových buněk v průběhu radioterapie, a nevzniká tedy populace lymfocytů specifických pro nádor. Vlivem frakcionace na vznik lymfopenie se zabývali např. Crocenzi et al u karcinomu pankreatu léčeného radioterapií v kombinaci s gemcitabinem [32]. Srovnávali standardní normofrakcionační režim (50,4 Gy / 28 frakcí) a stereotaktický režim (30 Gy / 3 frakce) a zjistili, že při stereotaktické radioterapii ke vzniku lymfopenie nedochází. Chen et al hodnotili vznik lymfopenie po akcelerovaném režimu 45 Gy / 15 frakcí pro karcinom plic nebo po stereotaktické radioterapii (SRT) 50 Gy / 4 frakce nebo 60 Gy / 10 frakcí [33]. Lymfopenie vznikala po akcelerovaném režimu, nikoliv po SRT. Vznik RIL je tedy závislý na celkové dávce radioterapie, frakcionaci, velikosti cílového objemu, lokalizaci cílového objemu v těle a časovém průběhu jednotlivých frakcí ozáření. Zdá se, že zásadním faktorem je objem ozáření periferní krve, která se tak stává jedním z „rizikových orgánů“ v radioterapii. Další oblastí výskytu naivních T-lymfocytů jsou mízní uzliny [34] a slezina [35], které se také stávají orgány, které je při plánování radioterapie nutné brát v úvahu.

Význam RIL pro prognózu nádorových onemocnění

Negativní prognostický význam závažné RIL (tedy grade ≥ 3 lymfopenie) u solidních nádorů je dobře popsán v literatuře. Damen et al publikovali přehled a metaanalýzu vlivu lymfopenie indukované radiací na OS nemocných léčených radikální radioterapií pro nádory mozku, plic, jater, pankreatu a čípku děložního [36]. Poměr rizik (hazard ratio – HR) pro OS se u všech typů nádorových onemocnění pohyboval v rozmezí 1,52–1,99 v neprospěch pacientů s grade ≥ 3 lymfopenií oproti pacientům s grade < 2 lymfopenií. Incidence grade ≥ 3 lymfopenie se přitom ve většině studií vyskytovala u 40–60 % pacientů. Dai et al publikovali metaanalýzu osmi prací hodnotících vliv RIL na léčebné výsledky nádorů hlavy a krku léčených radikální radioterapií [37]. Autoři uvádí, že grade 3–4 RIL se vyskytovala s incidencí 73–88 % a signifikantně snižovala OS s HR 2,94 (95% CI

1,83–4,74; $I^2 = 0\%$). Upadhyay et al provedli metaanalýzu 14 studií hodnotících vliv RIL na prognózu nemocných s karcinomem plic [38]. Celková průměrná incidence lymfopenie grade ≥ 3 byla 64,2 %. Pacienti s grade ≥ 3 lymfopenií měli vyšší riziko úmrtí s poměrem rizik 1,59 (95% CI 1,40–1,81; $I^2 = 17\%$; $p < 0,001$) a vyšší riziko progresse onemocnění s HR 2,1 (95% CI 1,57–2,81; $I^2 = 59\%$; $p < 0,001$). Pro lymfopenii byly prediktivními faktory dozimetrické parametry v oblasti nízkých dávek záření, jako je V5Gy pro plíce a srdce. Vlivem lymfopenie na prognózu nemocných s maligní gliomy léčených chemoradioterapií se zabývali v metaanalýze Zhang et al [39]. Do analýzy zahrnuli 20 studií, ze kterých vyplynulo, že grade 3/4 lymfopenie se vyskytla průměrně u 31,6 % pacientů a tato těžká lymfopenie byla spojena s horším přežitím (HR 1,99; 95% CI 1,74–2,27; $p < 0,001$) ve srovnání s nemocnými bez lymfopenie. RIL se zdá být významným faktorem ovlivňujícím přežití nemocných s různými maligními tumory v různých lokalitách těla.

Lymfopenie vyvolaná léčbou ovlivňuje účinnost následné imunoterapie

Lymfocyty hrají klíčovou roli v účinnosti terapie inhibitory imunitních kontrolních bodů (checkpoint inhibitory – ICI) [40,41] a lymfopenie přítomná při zahájení léčby ICI má negativní vliv na prognózu nemocných [42]. Yin et al zjišťovali, jaký vliv má RIL na následnou odpověď na anti-PD-1 terapii u spinocelulárního karcinomu jícnu. V multivariantsní analýze zjistili, že RIL je nezávislým prognostickým faktorem pro horší PFS (HR 1,855; $p < 0,008$) [43]. Ke stejným závěrům recentně došli Jing et al při analýze efektu durvalumabu podávaného po konkomitantní chemoradioterapii pro karcinom plic. Při multivariantsní analýze byla přítomnost závažné (grade 4) RIL nezávislým prediktorem horšího přežití (HR 1,81; $p < 0,01$) [44]. Dále autoři zjistili, že pokud měli nemocní RIL, nezlepšoval durvalumab přežití proti nemocným se samotnou konkomitantní chemoradioterapií, zatímco bez její přítomnosti přežití statisticky významně prodloužoval (medián přežití nebyl pro skupinu s dur-

valumabem dosažen, zatímco pro skupinu bez durvalumabu byl 30,8 měsíce).

Diskuze

Z dostupných dat se RIL jeví jako významný prognostický faktor pro OS i PFS u řady poměrně odlišných nádorových onemocnění (např. gliomů, plicních tumorů nebo melanomu). Zároveň je prediktivním faktorem pro účinnost následné imunoterapeutické léčby. Lymfocyty jsou významně citlivé i na nízké dávky záření a vznik RIL je daný řadou faktorů souvisejících s dávkovou distribucí záření v těle pacientů. Za nejdůležitější z nich je považována celková integrální dávka (objem tkáně ozářené dávkami, které jsou schopné redukovat počet lymfocytů), která je významně ovlivněna technikou ozáření. Zdá se, že k dalším důležitým faktorům patří frakcionální režim a doba trvání jednotlivých frakcí (ve smyslu „beam on“ času). Významnou úlohu má zřejmě též lokalizace cílových objemů a ozáření některých tkání, které se dosud nebraly jako významné z hlediska optimalizace radioterapie.

Nové kritické orgány pro radioterapii

V souvislosti s výše uvedeným se vynořuje nový koncept kritických orgánů (organs at risk – OAR) pro radioterapii. Hlavním z těchto nových OAR je cirkulující krev, resp. cirkulující imunitní buňky. Cílem optimalizace dávek na tento orgán je minimalizace zátěže cirkulující krve zářením. Zde do hry vstupuje další dosud nepřítomný faktor u OAR v radioterapii, kterým je perfuze dané ozařované oblasti. K dalším novým OAR patří slezina jako orgán s vysokým výskytem lymfocytů, příp. se uvažuje o lymfatických uzlinách a aktivní kostní dřeni.

Je snaha kombinovat orgány či oblasti s vysokým výskytem lymfocytů do sdruženého OAR. Jedním navrženým modelem pro hodnocení dávky radiace aplikované na relevantní buňky imunitního systému je tzv. estimated dose of radiation to immune cells (EDRIC) [45]. V tomto modelu použitým pro sekundární analýzu studie RTOG 0617 (karcinom plic) se odhaduje dávka na cirkulující imunitní buňky z parametrů střední dávky na plíce a srdce, srdečního výdeje

a jejich objemu krve. EDRIC byla nezávisle asociována s přežíváním nemocných ve studii RTOG 0617.

Kdy je RIL klinicky významná?

Z dostupné literatury se zdá, že vznik RIL hraje hlavní roli v léčbě onemocnění, kde je indikována definitivní (chemo- nebo immuno-) radioterapie a ta není schopna eliminovat všechny nádorové buňky. Příklady takových nádorových onemocnění jsou nádory plic, jícnu, glioblastom a nádory pankreatu. U většiny těchto onemocnění dávka záření aplikovaná v současnosti vede obvykle k dočasné regresi onemocnění. U většiny z těchto onemocnění je v léčebných schématech nově zařazována imunoterapie. To z nich činí diagnózy, u kterých bychom se měli RIL intenzivně zabývat a snažit se jí předcházet.

U těch nádorových onemocnění, kde jsme schopni v současnosti dodat dávku záření dostatečnou pro eliminaci všech nádorových buněk, nebude zřejmě vliv RIL zásadní. Proto se v publikovaných studiích nevyskytují data např. o negativním vlivu RIL na léčebné výsledky lokalizovaného karcinomu prostaty. Je-li nádor zcela eliminován, je úloha aktivovaného imunitního systému zřejmě malá. Stejně tak nebude kritický význam RIL v adjuvantní radioterapii – např. u karcinomu prsu se sice vznik RIL odráží na nižším PFS, ale bez vlivu na OS [46]. V adjuvantních indikacích je pravděpodobnost aktivace lymfocytů ozářenými nádorovými buňkami malá nebo minimální.

Jak ovlivnit riziko vzniku RIL

Pro redukci rizika vzniku RIL lze použít několik strategií. První z nich je redukce celkové integrální dávky záření, a to bez redukce ložiskové dávky aplikované do nádorového ložiska, která je nežádoucí z hlediska lokální kontroly nádorového onemocnění. Veličiny, se kterými tedy můžeme pracovat, jsou frakcionace, rychlost dodání dávky, velikost cílového objemu a dávková distribuce daná typem záření.

Normofrakcionovaná radioterapie v řadě případů vede k rozložení dodané celkové dávky do dlouhého časového období. To zvyšuje šanci na ozáření

všech buněk cirkulující krve vč. lymfocytů. Zkracování celkové doby radioterapie toto riziko snižuje a použití akcelerovaných režimů se jeví jako jedno z možných řešení.

Další možností je redukce velikosti cílového objemu. U řady diagnóz nadále pracujeme s konceptem ozařování elektivních lymfatických oblastí. Je otázkou, zda nezvažovat stejný koncept, který se prosadil u nemalobuněčného karcinomu plic, tedy redukovat cílové objemy na PET pozitivní oblasti (zejména pokud bude léčba kombinovaná s imunoterapií).

Oba tyto přístupy jsou v oboru známé a běžně používané ve formě hypofrakcionované radioterapie. Stereotaktická radioterapie je účinnější v navození imunitní reakce vůči nádoru a častěji se u ní vyskytuje abskopální efekt [47,48]. Za příčinu se považovala odlišná exprese antigenů po vysokých dávkách záření na frakci. Nyní se zdá, že jednou z příčin může být i RIL, která je po stereotaktické radioterapii méně častá. RIL je tedy dalším důvodem, proč akcelerovat použití stereotaktické radioterapie u diagnóz, u kterých to zatím zcela opomíjíme.

Zatím zcela nevyřešenou, ale diskutovanou otázkou je rychlost dodání dávky. Rozptyl doby dodání jedné frakce je v současnosti značný – od desítek sekund pro částicové urychlovače až po desítky minut pro stereotaktické fotonové přístroje. Pokud vycházíme z předpokladu, že cirkulující lymfocyty jsou citlivé na velmi nízké dávky záření, pak je evidentní, že z hlediska indukce RIL je žádoucí co nejkratší doba dodání dávky. Pro ozařování CyberKnifem již existuje práce korelující vznik RIL v závislosti na ozařovacím času [49]. Dobu dodání dávky můžeme v současné fotonové radioterapii ovlivnit např. použitím tzv. flattening filter free (FFF) techniky, která může zkrátit ozařovací čas díky vyšším dávkovým příkonům, které jsou s FFF svazky spojeny. Dalším postupem může být zjednodušení ozařovacích technik. Postupy využívající mnoha polí, resp. kvův s cílem dokonale vyladit homogenní ozařování cílových objemů a chránit maximálně kritické orgány mohou být ve svém výsledku kontraproduktivní kvůli zvýšení zátěže celého těla v oblasti

nízkých dávek (tedy dávek dostačujících k usmrcení významného podílu lymfocytární populace). Tato skutečnost platí ještě více pro použití non-koplanárních technik, které sice ještě zlepšují konformitu ozařování cílového objemu, ale za cenu zvýšení objemu tkáně zatížené nízkými dávkami. Stále se však jedná o celkové dávky patrně dostatečné pro eliminaci cirkulujících lymfocytů.

Použití částicové radioterapie je v současnosti nejsnazším přístupem ke snížení rizika RIL. Snížení integrální dávky je pro částicovou radioterapii jasně doložené. Další výhodou je rychlost dodání dávky, která se v případě přístrojů využívajících skenování tužkovým svazkem (což jsou v podstatě všechny přístroje spuštěné po roce 2010) pohybuje v řádu desítek sekund. Je však možné, že při použití normofrakcionované radioterapie na velké cílové objemy, zejména ve více exponovaných oblastech těla, jako je např. epigastrium, bude možný přínos protonů v redukci rizika RIL redukován.

Kombinací všech výše uvedených úvah o technice maximálně redukcující riziko vzniku RIL je částicová FLASH radioterapie. Tato technika je zatím vysoce experimentální a spočívá v dodání vysokých dávek (v řádu 10–20 Gy) za velmi krátké časové úseky (ms). Je aplikována v režimech stereotaktické radioterapie, tedy v 1–5 frakcích. Z pokusů na zvířecích modelech se zdá, že se jedná o vysoce účinnou metodu s minimem nežádoucích účinků. Splňuje vše z výše uvedených úvah – redukce integrální dávky, minimalizace expozičního času, redukce velikosti cílových objemů, minimalizace celkové doby radioterapie. I při frakcionované FLASH radioterapii se celková doba radioterapie při aplikaci dávek v řádu desítek Gy pohybuje v řádu setin sekundy!

Dalším přístupem je optimalizace na nové OAR, jejichž ozařování koreluje s mírou lymfopenie. Jsou to orgány, ve kterých je vysoké zastoupení lymfocytů, a patří sem cirkulující krev, slezina, možná oblasti lymfatických uzlin a kostní dřeně. Vzhledem k tomu, že RIL se objevuje i po radioterapii pro karcinom prsu či mozkové nádory, kde je ozařeno malé množství kostní dřeně i lymfatické tkáně, zdá se, že zásadní význam

má právě periferní krev. Objevují se také myšlenky kombinovat dávky na vícero orgánů či oblastí splňujících výše uvedenou podmínku. Toto naplňuje např. tzv. estimated dose of radiation to immune cells (EDRIC) nebo tzv. effective dose to the circulating immune cells (EDIC). Tento model již byl validován pro karcinom plic a jícnu a vyšší dávka na cirkulující buňky imunitního systému byla vždy spojena s horší prognózou nemocných [45,50,51].

Závěr

Lymfocyty jsou mimořádně radiosenzitivní buněčnou populací. Lymfopenie indukovaná radiací je významným faktorem ovlivňujícím prognózu nemocných s různými maligními nádory. Tato problematika je v klinické praxi zatím spíše opomíjena. Dostatečný počet lymfocytů je klíčový pro alespoň částečnou obnovu imunitní reakce proti nádoru a tento fakt nabývá na významu s rostoucím používáním ICI. Vznik RIL je v úzké korelaci s dozimetrickými faktory, kterým není v současné době při plánování radioterapie věnována dostatečná pozornost. Hlavním faktorem při rozvoji RIL je integrální dávka záření. Existuje celá řada strategií zmírňujících riziko vzniku lymfopenie, které by se měly zvážit, a to zejména u těch nemocných, pro které je plánována nějaká forma imunoterapie.

Literatura

1. Syn NL, Teng MWL, Mok TSK et al. De-novo and acquired resistance to immune checkpoint targeting. *Lancet Oncol* 2017; 18(12): e731–e741. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30607-1.
2. Piccirillo CA. Regulatory T cells in health and disease. *Cytokine* 2008; 43(3): 395–401. doi: 10.1016/j.cyt.2008.07.469.
3. Burnette L, Fu YX, Weichselbaum RR. The confluence of radiotherapy and immunotherapy. *Front Oncol* 2012; 2: 143. doi: 10.3389/fonc.2012.00143.
4. Reits EA, Hodge JW, Herberts CA et al. Radiation modulates the peptide repertoire, enhances MHC class I expression, and induces successful antitumor immunotherapy. *J Exp Med* 2006; 203(5): 1259–1271. doi: 10.1084/jem.20052494.
5. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesnière A et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med* 2007; 13(9): 1050–1059. doi: 10.1038/nm1622.
6. Barcellos-Hoff MH, Derynck R, Tsang ML et al. Transforming growth factor-beta activation in irradiated murine mammary gland. *J Clin Invest* 1994; 93(2): 892–899. doi: 10.1172/JCI117045.
7. Schreck R. Qualitative and quantitative reactions of lymphocytes to x rays. *Ann N Y Acad Sci* 1961; 95: 839–848. doi: 10.1111/j.1749-6632.1961.tb50080.x.

8. Nakamura N, Kusunoki Y, Akiyama M. Radiosensitivity of CD4 or CD8 positive human T-lymphocytes by an in vitro colony formation assay. *Radiat Res* 1990; 123(2): 224–227.
9. Hall EJ, Giaccia AJ. *Radiobiology for radiologist*. Lippincott Williams & Wilkins 2015.
10. Hoskin P, Popova B, Schofield O et al. 4 Gy versus 24 Gy radiotherapy for follicular and marginal zone lymphoma (FoRT): long-term follow-up of a multicentre, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol* 2021; 22(3): 332–340. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30686-0.
11. Formenti SC, Demaria S. Combining radiotherapy and cancer immunotherapy: a paradigm shift. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(4): 256–265. doi: 10.1093/jnci/djs629.
12. Mole RH. Whole body irradiation; radiobiology or medicine? *Br J Radiol* 1953; 26(305): 234–241. doi: 10.1259/0007-1285-26-305-234.
13. Demaria S, Bhardwaj N, McBride WH et al. Combining radiotherapy and immunotherapy: a revived partnership. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 63(3): 655–666. doi: 10.1016/j.ijrobp.2005.06.032.
14. Park SS, Dong H, Liu X et al. PD-1 restrains radiotherapy-induced abscopal effect. *Cancer Immunol Res* 2015; 3(6): 610–619. doi: 10.1158/2326-6066.CCR-14-0138.
15. Vanpouille-Box C, Diamond JM, Pilonis KA et al. TGFβ is a master regulator of radiation therapy-induced antitumor immunity. *Cancer Res* 2015; 75(11): 2232–2242. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3511.
16. Roger A, Finet A, Boru B et al. Efficacy of combined hypo-fractionated radiotherapy and anti-PD-1 monotherapy in difficult-to-treat advanced melanoma patients. *Oncoimmunology* 2018; 7(7): e1442166. doi: 10.1080/2162402X.2018.1442166.
17. Formenti SC, Lee P, Adams S et al. Focal irradiation and systemic TGFβ blockade in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 2018; 24(11): 2493–2504. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3322.
18. Rodriguez-Ruiz ME, Perez-Gracia JL, Rodriguez I et al. Combined immunotherapy encompassing intratumoral poly-I:CLC, dendritic-cell vaccination and radiotherapy in advanced cancer patients. *Ann Oncol* 2018; 29(5): 1312–1319. doi: 10.1093/annonc/mdy089.
19. Chen D, Verma V, Patel RR et al. Absolute lymphocyte count predicts abscopal responses and outcomes in patients receiving combined immunotherapy and radiation therapy: analysis of 3 phase 1/2 trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2020; 108(1): 196–203. doi: 10.1016/j.ijrobp.2020.01.032.
20. Morisada M, Moore EC, Hodge R et al. Dose-dependent enhancement of T-lymphocyte priming and CTL lysis following ionizing radiation in an engineered model of oral cancer. *Oral Oncol* 2017; 71: 87–94. doi: 10.1016/j.oraloncology.2017.06.005.
21. Venkatesulu BP, Mallick S, Lin SH et al. A systematic review of the influence of radiation-induced lymphopenia on survival outcomes in solid tumors. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018; 123: 42–51. doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.01.003.
22. Talebian Yazdi M, Schinkelshoek MS, Loof NM et al. Standard radiotherapy but not chemotherapy impairs systemic immunity in non-small cell lung cancer. *Oncoimmunology* 2016; 5(12): e1255393. doi: 10.1080/2162402X.2016.1255393.
23. Lambin P, Lieverse RIV, Eckert F et al. Lymphocyte-sparing radiotherapy: the rationale for protecting lymphocyte-rich organs when combining radiotherapy with immunotherapy. *Semin Radiat Oncol* 2020; 30(2): 187–193. doi: 10.1016/j.semradonc.2019.12.003.
24. Cai S, Fan Y, Guo Q et al. Impact of radiation dose to circulating immune cells on tumor control and survival in esophageal cancer. *Cancer Biother Radiopharm* 2021 [ahead of print]. doi: 10.1089/cbr.2021.0250.
25. Wild AT, Yovino S, Smith JA et al. Degree of chemoradiation-associated lymphopenia is related to radiation field size in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Annu Meeting Am Radium Soc* 2012.
26. Yang L, Xu Z, Ma L et al. Early onset of severe lymphopenia during definitive radiotherapy correlates with mean body dose and predicts poor survival in cervical cancer. *Cancer Biomark* 2022; 34(1): 149–159. doi: 10.3233/CBM-210292.
27. Wang Q, Qiu Q, Zhang Z et al. Bone marrow dosimetric analysis of lymphopenia in patients with esophageal squamous cell carcinoma treated with chemoradiotherapy. *Cancer Med* 2021; 10(17): 5847–5858. doi: 10.1002/cam4.4131.
28. Arcadi pane F, Silveti P, Olivero F et al. Bone marrow-sparing IMRT in anal cancer patients undergoing concurrent chemo-radiation: results of the first phase of a prospective phase II trial. *Cancers (Basel)* 2020; 12(11): 3306. doi: 10.3390/cancers12113306.
29. Yu H, Chen F, Lam KO et al. Potential determinants for radiation-induced lymphopenia in patients with breast cancer using interpretable machine learning approach. *Front Immunol* 2022; 13: 768811. doi: 10.3389/fimmu.2022.768811.
30. Yovino S, Kleinberg L, Grossman SA et al. The etiology of treatment-related lymphopenia in patients with malignant gliomas: modeling radiation dose to circulating lymphocytes explains clinical observations and suggests methods of modifying the impact of radiation on immune cells. *Cancer Invest* 2013; 31(2): 140–144. doi: 10.3109/07357907.2012.762780.
31. Zhao Q, Li T, Du S et al. Shortened radiation time promotes recovery from radiation-induced lymphopenia in early-stage non-small cell lung cancer patients treated with stereotactic body radiation therapy. *Technol Cancer Res Treat* 2022; 21: 1533033822112287. doi: 10.1177/1533033822112287.
32. Crocenzi T, Cottam B, Newell P et al. A hypofractionated radiation regimen avoids the lymphopenia associated with neoadjuvant chemoradiation therapy of borderline resectable and locally advanced pancreatic adenocarcinoma. *J Immunother Cancer* 2016; 4: 45. doi: 10.1186/s40425-016-0149-6.
33. Chen D, Patel RR, Verma V et al. Interaction between lymphopenia, radiotherapy technique, dosimetry, and survival outcomes in lung cancer patients receiving combined immunotherapy and radiotherapy. *Radiother Oncol* 2020; 150: 114–120. doi: 10.1016/j.radonc.2020.05.051.
34. Blum KS, Pabst R. Lymphocyte numbers and subsets in the human blood. Do they mirror the situation in all organs? *Immunol Lett* 2007; 108(1): 45–51. doi: 10.1016/j.imlet.2006.10.009.
35. Chadha AS, Liu G, Chen H-C et al. Does unintentional splenic radiation predict outcomes after pancreatic cancer radiation therapy? *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017; 97(2): 323–332. doi: 10.1016/j.ijrobp.2016.10.046.
36. Damen PJJ, Kroese TE, van Hillegersberg R et al. The influence of severe radiation-induced lymphopenia on overall survival in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2021; 111(4): 936–948. doi: 10.1016/j.ijrobp.2021.07.1695.
37. Dai D, Tian Q, Shui Y et al. The impact of radiation induced lymphopenia in the prognosis of head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis. *Radiother Oncol* 2022; 168: 28–36. doi: 10.1016/j.radonc.2022.01.003.
38. Upadhyay R, Venkatesulu BP, Giridhar P et al. Risk and impact of radiation related lymphopenia in lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Radiother Oncol* 2021; 157: 225–233. doi: 10.1016/j.radonc.2021.01.034.
39. Zhang Y, Chen S, Chen H et al. Prognostic value and risk factors of treatment-related lymphopenia in malignant glioma patients treated with chemoradiotherapy: a systematic review and meta-analysis. *Front Neurol* 2022; 12: 726561. doi: 10.3389/fneur.2021.726561.
40. Park JC, Durbeck J, Clark JR. Predictive value of peripheral lymphocyte counts for immune checkpoint inhibitor efficacy in advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Clin Oncol* 2020; 13(6): 87. doi: 10.3892/mco.2020.2157.
41. Tanizaki J, Haratani K, Hayashi H et al. Peripheral blood biomarkers associated with clinical outcome in non-small cell lung cancer patients treated with nivolumab. *J Thorac Oncol* 2018; 13(1): 97–105. doi: 10.1016/j.jtho.2017.10.030.
42. Diehl A, Yarchoan M, Hopkins A et al. Relationships between lymphocyte counts and treatment-related toxicities and clinical responses in patients with solid tumors treated with PD-1 checkpoint inhibitors. *Oncotarget* 2017; 8(69): 114268–114280. doi: 10.18632/oncotarget.23217.
43. Yin T, Wang P, Yu J et al. Treatment-related lymphopenia impairs the treatment response of anti-PD-1 therapy in esophageal squamous cell carcinoma. *Int Immunopharmacol* 2022; 106: 108623. doi: 10.1016/j.intimp.2022.108623.
44. Jing W, Xu T, Wu L et al. Severe radiation-induced lymphopenia attenuates the benefit of durvalumab after concurrent chemoradiotherapy for NSCLC. *JTO Clin Res Rep* 2022; 3(9): 100391. doi: 10.1016/j.jtocrr.2022.100391.
45. Ladbury CJ, Rusthoven CG, Camidge DR et al. Impact of radiation dose to the host immune system on tumor control and survival for stage III non-small cell lung cancer treated with definitive radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2019; 105(2): 346–355. doi: 10.1016/j.ijrobp.2019.05.064.
46. Sun GY, Wang SL, Song YW et al. Radiation-induced lymphopenia predicts poorer prognosis in patients with breast cancer: a post hoc analysis of a randomized controlled trial of postmastectomy hypofractionated radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2020; 108(1): 277–285. doi: 10.1016/j.ijrobp.2020.02.633.
47. Filatenkov A, Baker J, Mueller AM et al. Ablative tumor radiation can change the tumor immune cell microenvironment to induce durable complete remissions. *Clin Cancer Res* 2015; 21(16): 3727–3739. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2824.
48. Verbrugge I, Hagekyriakou J, Sharp LL et al. Radiotherapy increases the permissiveness of established mammary tumors to rejection by immunomodulatory antibodies. *Cancer Res* 2012; 72(13): 3163–3174. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0210.
49. Zhao Q, Li T, Du S et al. Shortened radiation time promotes recovery from radiation-induced lymphopenia in early-stage non-small cell lung cancer patients treated with stereotactic body radiation therapy. *Technol Cancer Res Treat* 2022; 21: 1533033822112287. doi: 10.1177/1533033822112287.
50. So TH, Chan SK, Chan WL et al. Lymphopenia and radiation dose to circulating lymphocyte with neoadjuvant chemoradiation in esophageal squamous cell carcinoma. *Adv Radiat Oncol* 2020; 5(5): 880–888. doi: 10.1016/j.adro.2020.03.021.
51. Xu C, Jin J-Y, Zhang M et al. The impact of the effective dose to immune cells on lymphopenia and survival of esophageal cancer after chemoradiotherapy. *Radiother Oncol* 2020; 146: 180–186. doi: 10.1016/j.radonc.2020.02.015.