

Steroid-rezistentní akutní reakce štěpu proti hostiteli (GVHD)

Mayer J.¹, Cetkovský P.², Krejčí M.¹

¹Interní hematologická klinika FN Brno,

²Ústav hematologie a krevní transfúze Praha,

za organizaci Česká leukemická skupina – pro život, THE CZECH LEUKEMIA STUDY GROUP – FOR LIFE, CELL

Souhrn

Reakce štěpu proti hostiteli (graft-versus-host disease, GVHD) představuje jednu z hlavních komplikací po provedení alogenní transplantace krvetvorných buněk. Za GVHD jsou odpovědní T-lymfocyty v transplantátu. K rozvoji akutní GVHD (aGVHD) dochází do dne +100 od provedení transplantace, aGVHD postihuje zpravidla kůži, játra nebo sliznice trávicího traktu, její klinický obraz je velmi pestrý a představuje většinou kombinaci postižení více orgánů. Standardní terapií první linie jsou kortikoidy v dávce 2 mg/kg, tato terapie je účinná asi u 50 % pacientů. Steroid-rezistentní GVHD je obtížně terapeuticky zvladatelná a je spojena s vysokou morbiditou i mortalitou. Za steroid-rezistentní je GVHD považována zpravidla tehdy, pokud nedojde k léčebné odpovědi na podání kortikosteroidů do 3–14 dní. Práce rekapituluje léčebné možnosti u steroid-rezistentní aGVHD, sumarizuje výsledky klinických studií, které byly dosud na toto téma publikovány. Terapii steroid-refrakterní aGVHD lze rozdělit do 4 skupin. Do první léčebné skupiny, využívající nespecifickou eliminaci T lymfocytů, patří antithymocytární globulin, antilymfocytární globulin, alemtuzumab, denileukin diftitox a protilátky proti CD2, CD3, CD147. Druhou skupinu tvoří preparáty ovlivňující cytokiny nebo jejich receptory, jedná se o daclizumab (protilátka proti receptoru pro interleukin 2), dále infliximab a etanercept (preparáty blokující tumor nekrotizující faktor). Třetí skupinu tvoří cytostatika a nespecifická imunosupresiva, jako například cyklofosfamid, metotrexát, mykofenolát mofetil, pentostatin, sirolimus. Poslední skupina zahrnuje buněčnou terapii a další postupy, jedná se o možné využití mesenchymálních kmenových buněk, rituximabu a extrakorporální fototerapie. Všechny uvedené terapeutické postupy vykazují pouze částečnou účinnost. Steroid-rezistentní aGVHD zůstává i nadále závažným terapeutickým problémem.

Klíčová slova: akutní GVHD, steroid-rezistentní, terapie

Summary

Mayer J., Cetkovský P., Krejčí M.: Steroid-refractory acute graft-versus-host disease (GVHD)

Graft-versus-host disease (GVHD) represents one of the main complications after performance of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. T-lymphocytes from the graft are responsible for GVHD. Acute GVHD (aGVHD) develops within the day +100 after allogeneic transplantation, aGVHD impacts usually skin, liver or mucosa of gastrointestinal tract. The clinical manifestation of aGVHD is various and it represents mostly combination of impairment of more organs. Corticosteroids in dose 2 mg/kg are the standard first-line treatment, however, they are effective in 50% of patients only. Corticosteroid-resistant aGVHD is difficult to manage, and it is associated with high morbidity and mortality. Definition of steroid-resistant aGVHD varied, it is usually no response to corticosteroids after 3-14 days of treatment. The article summarizes treatment possibilities in steroid-refractory aGVHD, with inclusion of the results of clinical trials published on this topic. Treatment of steroid-refractory aGVHD can be divided into four groups. The non-specific elimination of T-lymphocytes is used in the first group, representative agents are antithymocyte globulin, antilymphocyte globulin, alemtuzumab, denileukin diftitox and monoclonal antibodies anti-CD2, anti-CD3, anti-CD147. The drugs influencing cytokines or their receptors are in the second group, such as daclizumab (antibody against receptor for interleukin-2), infliximab and etanercept (inhibitors of tumor necrosis factor). The third group includes cytostatics and immunosuppressive agents, such as cyclophosphamide, methotrexate, mycophenolate mofetil, pentostatin, sirolimus. The cell therapy and other possibilities, such as treatment with rituximab and extracorporeal photopheresis are discussed in the fourth group. All treatment approaches for steroid-refractory GVHD are only partially efficient. Steroid-refractory aGVHD remains a serious therapeutic problem.

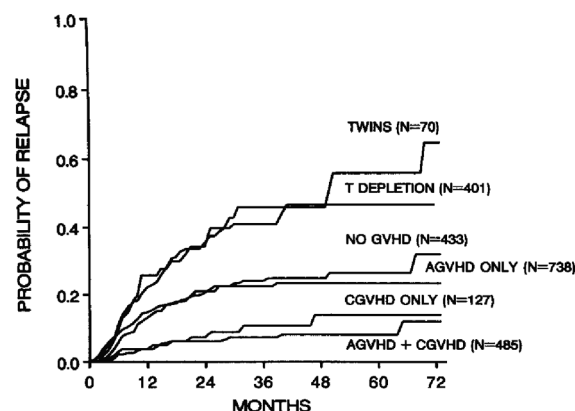
Key words: acute GVHD, steroid-refractory, treatment

Trans. Hemat. dnes, 13, 2007, No. 4, p. 192–199.

Úvod

Reakce transplantátu (štěpu) proti hostiteli (GVHD, graft-versus-host disease) je nedílnou součástí léčebné procedury transplantace krvetvorných buněk. Je jednoznačně spjata s pozitivní reakcí transplantátu proti leukemii (a obecně proti tumoru). Za GVHD jsou odpovědní lymfocyty v transplantátu. Odstranění lymfocytů, tzv. T-

buněčná deplece, eliminuje GVHD, ale přináší zase další negativa: vyšší frekvenci selhání transplantátů (rejekcí) a relapsů. Toto jednoduché několikavěté vyjádření je ovšem výsledkem rozsáhlého poznávání zcela neznámých imunologických aspektů transplantací, obrovského množství experimentů a řady klinických studií. Můžeme říci, že výzkumy v této oblasti se odehrávají od 50. let 20. století (1, 2). Klasická práce na toto téma (3) tato fakta elegantně vyjadřuje graficky obrázek 1.



Obr. 1. Význam typu transplantátu a GVHD na frekvenci relapsů u nemocných s leukemiemi. Podle: Horowitz et al., Blood 1990 (3)

Dnes je frekvence GVHD různě modifikována podáváním anti-T-lymfocytárního globulinu (ATG) nebo alemtuzumabu (4), ale tyto principy zůstávají stále platné. Bez deplece T buněk je výskyt akutní GVHD v desítkách procent v závislosti na různých rizikových faktorech.

Akutní GVHD (aGVHD) zpravidla postihuje **kůži, játra a/nebo střevo**. Tyto orgány mohou být postiženy izolovaně nebo v různých kombinacích a různě intenzivně, od relativně lehkého postižení po extrémně závažné. Intenzita postižení jednotlivých orgánů se hodnotí jako **stadium** (stage) 1–4. Celkově se GVHD podle kombinace a stadia postižení jednotlivých orgánů hodnotí **stupněm** (grade) I–IV (5). Standardní **terapií první linie jsou kortikoidy** v dávce okolo 2 mg/kg prednisonu denně. Tato terapie je účinná, ale bohužel, jen asi u poloviny případů (6). Při neúspěchu této léčby hovoříme o steroid-rezistenci a jedná se o mimořádně závažný stav. Nemocný je bezprostředně ohrožen na životě a může zemřít nejčastěji na progresi GVHD nebo nějakou závažnou infekci. Účelem tohoto sdělení je **jednoduchým edukačním způsobem** zmínit jaké jsou možnosti zvládnutí této mimořádně závažné potransplantační komplikace, jen velmi zřídka diskutované v české literatuře (7).

Steroid-rezistentní aGVHD

Data z poslední doby jasně hovoří o tom, že aGVHD obecně je mimořádně závažný stav. McMillan et al. (6) udávají přežití u 443 pacientů v jednom roce po zahájení terapie aGVHD steroidy jen 53 % s tím, že příčinami smrti bylo GVHD v 89 %, relaps v 6 % a spolupodíl infekce v 67 %. Také Van Lint et al. (8) udávají závažná data. Nemocní, kteří reagovali na iniciační terapii steroidy, měli 27 % úmrtnost v souvislosti s provedením transplantace (transplant-related mortality, TRM) oproti 47 % u nereagujících nemocných a pětileté přežití se také signifikantně lišilo: 53 % oproti 35 %. Zbývá uvést, jak je vlastně **steroid-rezistence**, nebo-li potřeba zahájit terapii druhé linie, definována. Kupodivu, tato zásadní otázka není zcela jasná a jednoznačná. Jedním z aspektů je dávka steroidů, po níž není

dosaženo léčebné odpovědi. Z jednoho průzkumu transplantčních center vyplynulo, že tato dávka je definována různě a kolísá od 1–2 mg/kg/den až po více než 20 mg/kg/den. Zpravidla se ale terapie aGVHD začíná dávkou okolo 2 mg/kg/den (9). Mimořádně důležité je i časové hledisko, za jak dlouho po nasazení steroidů se mají objevit známky léčebné odpovědi. Zde také čas velmi kolísá, zpravidla mezi 3–14 dny, a zohledňuje se i dynamika GVHD. Například:

- progresi GVHD kdykoliv po prvních 3 dnech po nasazení steroidů, nelepšení se GVHD stupně III a IV po 7 dnech terapie, nebo nelepšení se GVHD stupně II po 14 dnech terapie (10);
- GVHD bez známek léčebné odpovědi po 5 dnech terapie (8);
- GVHD bez známek léčebné odpovědi na kůži 7. den, progresi kožního nálezu nebo nelepšení se viscerální GVHD po 3 dnech terapie, progresi viscerálního nálezu po 2 dnech terapie, progresi do orgánového stadia 4 po 1 dni terapie (11);
- progresi aGVHD po alespoň 4 dnech terapie steroidy nebo nezlepšování po terapii trvající 7 dnů (12);
- progresi GVHD po alespoň 3 dnech terapie steroidy, bez změny po 7 dnech, méně než kompletní remise po 14 dnech, nebo návrat GVHD při snižování kortikoidů při dávce stále alespoň 50 mg/den (13);
- GVHD stupně II–IV při terapii steroidy 2 mg/kg/den 48 hodin bez známek zlepšování nebo dokonce se zhoršováním (14).

Jaké jsou tedy možnosti sekundární terapie aGVHD po selhání terapie steroidy, ať ji již definujeme jakkoliv? Paradoxně rozsáhlé, i velmi limitované. Rozsáhlé z toho úhlu pohledu, že existuje více než 20 možností, jak k tomuto problému přistoupit, a některé možnosti ani nejsou v ČR běžně dostupné. Na druhé straně, právě tato plejáda postupů ukazuje, že každý má asi své nedostatky a že de facto není nic spolehlivého, jak tuto mimořádně závažnou situaci zvládat. Principiálně lze **sekundární imunitu ovlivňující léčebné metody** didakticky rozdělit do několika kategorií:

- nespecifická eliminace T lymfocytů
- postupy ovlivňující cytokiny nebo jejich receptory
- cytostatika, nespecifická imunosupresiva
- buněčná terapie a další postupy

Absolutně zásadní a neopomenutelná je také mimořádně komplexní **podpůrná léčba**. Dá se říci, že nemocní se závažnou steroid-rezistentní GVHD jsou jedni z nekomplikovanějších pacientů vůbec. Mimořádné nároky jsou kladeny zvláště na monitorování různých oportunních infekcí a na jejich léčbu. Tito nemocní jsou často dlouhodobě v zásadní hluboké imunosupresi a zápasí se s torpidními virovými (CMV, BKV, adenoviry) a mykotickými infekcemi (plísň).

Hodnocení léčebné odpovědi na terapii steroid-refrakterní GVHD je zpravidla jako kompletní remise (CR) a parciální remise (PR). Naprosto zásadní je ale přežití v určitém časovém období po zahájení terapie. Definice CR je evidentní, vymizení všech známek

GVHD na všech postižených orgánech. PR se definuje jako zlepšení celkového GVHD skóre (grade) o 1 stupeň (15). Jiná definice zahrnuje zlepšení alespoň 1 orgánu o alespoň 1 stadium (stage) a nesmí přitom dojít ke zhoršení u jiného orgánu (16). Může se také definovat léčebná odpověď pro jednotlivé orgány a tam je PR definována jako zlepšení minimálně o 1 stupeň (stage) (16). Existuje i smíšená odpověď (mixed response), kdy dochází zároveň ke zlepšování i ke zhoršování u různých orgánů. Celková progresse znamená zhoršení alespoň u 1 orgánu bez zlepšení na jiném a stabilní choroba znamená celkovou stabilitu bez zhoršování nebo zlepšování u různých orgánů (17).

Během terapie steroid-rezistentní GVHD, se zpravidla **ponechává úvodní imunosuprese**, většinou kalcineurinoví inhibitory (cyklosporin A, takrolimus) s kortikoidy, další lék se přidává. Konkrétní situaci ale řeší konkrétní protokoly na tom či onom pracovišti.

Nespecifická eliminace T lymfocytů

Sem můžeme zařadit několik postupů, například antithymocytární globulin (ATG), antilymfocytární globulin (ALG), alemtuzumab, protilátky proti CD2, CD3, CD147 a denileukin diftotox.

ATG/ALG

Jedná se o polyklonální přípravky obsahující zvířecí protilátky proti lidským lymfoidním buňkám. Jde o několik typů preparátů, které rozhodně nelze považovat za

zaměnitelné. Každý se vyrábí jiným způsobem a imunizací jiných zvířat a proto je nutné vždy přesně udávat, o jaký jde preparát (18), což, bohužel, není někdy respektováno. Je s podivem, že přestože se s těmito preparáty pracuje již od 60. let 20. století (19) a jde tedy o jedny z nejstarších imunosupresiv, jejich role v profylaxi a terapii GVHD není dodnes zcela uspokojivě a jednoznačně vyřešena. V současné době jsou k dispozici tyto preparáty: Thymoglobulin (králíčí), Lymphoglobuline (koňský), ATG Fresenius (S) (králíčí) a Atgam (koňský). Poslední preparát není u nás registrován. ATG je dlouhodobě používán jako záchranná terapie aGVHD, léčebné odpovědi (CR+PR) jsou variabilní a kolísají v rozmezí 30–80 %. Přehled klinických studií testujících ATG v terapii steroid-rezistentní aGVHD je uveden v tabulce 1, jedná se většinou o menší soubory nemocných. Van Lint et al. (8) publikovali randomizovanou klinickou studii, v níž 61 pacientů se steroid-rezistentní aGVHD v rámci terapie druhé linie dostávalo vyšší dávku kortikoidů samostatně nebo spolu s ATG. Skupina s ATG dosáhla 55 % léčebných odpovědí (CR+PR), skupina bez ATG 48 %, ke zhoršení GVHD či úmrtí došlo u 26 % nemocných ve větvi s ATG a u 15 % ve větvi bez ATG, rozdíly mezi skupinami však nebyly statisticky významné. Další randomizovaná studie srovnávající ATG s preparátem ABX-CBL (monoklonální protilátka anti-CD147) v terapii steroid-rezistentní aGVHD u 95 pacientů uvádí následující výsledky: 57 % léčebných odpovědí a 45 % přežití po 18 měsících v rameni s ATG, 56 % léčebných odpovědí a 35 % přežití po 18 měsících v rameni s ABX-CBL (23).

Tab. 1. Výsledky některých větších studií testujících ATG pro terapii steroid-rezistentní aGVHD.

Autoři	Počet nemocných, typ studie	Základní výsledky	Poznámka
Van Lint et al. (8)	Původně 211, randomizovaná, při neodpovídání na léčbu po 5 dnech terapie 2. linie u 61, vyšší dávka steroidů samostatně nebo spolu s Thymoglobulinem	Skupina s ATG: 55% CR+PR, zhoršení GVHD či úmrtí: 26 %;	Skupina bez ATG: 48% CR+PR, zhoršení GVHD či úmrtí: 15% Skupina s ATG neměla statisticky významně lepší léčebné odpovědi či přežití
MacMillan et al. (12)	79, retrospektivní analýza, preparát Atgam	Den 28 terapie CR=20 % a PR=34 %, nejlépe odpovídali pacienti s kožním postižením. Přežití v 1 roce bylo 34 %.	Výrazně lepší přežívání nemocných zahajujících terapii ATG do 14 dnů po zahájení terapie kortikoidy
Arai et al. (20)	69, retrospektivní, preparát ATG neuveden	Jen 5 % dlouhodobě přežívajících pacientů	
Khoury et al. (17)	58, retrospektivní, Atgam	Zlepšení u 30 % nemocných, ale jen 10 % dlouhodobě přežívajících pacientů	
McCaul et al. (21)	36, retrospektivní, Thymoglobulin	38 % CR, 21 % PR, nicméně dlouhodobě přežívajících jen 6 % nemocných	
Kennedy et al. (13)	16, retrospektivní, preparát ATG neuveden, kombinován s etanerceptem	50 % pacientů zemřelo	Výsledky výrazně lepší po přidání etanerceptu než předchozí výsledky se samotným ATG
Mayer et al. (22)	13, retrospektivní, ATG Fresenius (S)	Léčebná odpověď u střevní GVHD 80 %, kožní 80 % a jaterní 43 %; dvě charakteristiky: 1) rychlé zn. zlepšování a 2) tendence relabovat; 62 % pacientů zemřelo	Další zlepšení výsledků pravděpodobně zlepšením antiinfekční strategie, včasným zahájením terapie a možná v kombinaci s dalšími léky
MacMillan et al. (23)	95, randomizovaná, Atgam proti preparátu ABX-CBL	Léčebná odpověď stejná, lepší celkové přežití po ATG.	

Anti-CD3 protilátky

Muromonab-CD3 (OKT3) je myší monoklonální protilátka proti struktuře CD3. Ze dvou větších studií se neukázala mimořádná účinnost. Knop et al. (24) udávají 69 % léčebných odpovědí a 12 % CR při použití ve 2. nebo další linii léčby. Medián přežití při použití ve 2. linii byl 146 dnů oproti 46 dnům při použití ve 3. linii. V randomizované studii zkoumající OKT3 plus vysoké dávky steroidů oproti vysokým dávkám steroidů v monoterapii jako léčby steroid-rezistentní GVHD se sice ukázala lepší léčebná odpověď kombinované terapie, ale ne celkové přežití (24).

Alemtuzumab

Přestože se jedná o potentní T buňky depletující látku (anti-CD52), která je poměrně hojně využívána v profylaxi GVHD, prací na použití alemtuzumabu pro terapii aGVHD je kupodivu velmi málo a jedná se buďto o kauzistiky, nebo velmi malé soubory nemocných (4). Správné dávkování není známo. Výsledky jsou rozporuplné, pozitivní (25-27) i smíšené (28). Asi největší soubor obsahoval 10 nemocných, z nichž 7 zemřelo (29). Tento postup jistě vyžaduje další klinický výzkum a stále se objevují nová data (30, 31). Lék je v ČR registrován (MabCampath).

Další látky

Jedná se zpravidla o menší studie a výsledky jsou shrnuty v tabulce 2. Tyto látky nejsou běžně k dispozici.

Denileukin diftotox

Tato látka již částečně patří do další skupiny (viz další kapitola). Jde o rekombinantní fúzní protein kombinující difterický toxin a interleukin-2 (IL-2). Tato látka se preferenčně váže na vysokoafinitní receptor pro IL-2 aktivovaných T lymfocytů, po internalizaci se uvolní toxická část a zabíjí T lymfocyty. Preparát není v ČR registrován, vyrábí se v USA pod názvem Ontak. Existují 2 práce publikované in extenso testující denileukin diftotox pro terapii steroid-rezistentní GVHD (35, 36). První práce byla studie fáze I testující optimální dávku. Shaughnessy et al. (36)

popisují léčebné zkušenosti u 22 nemocných. Časně bylo dosaženo léčebné odpovědi u 41 % nemocných, den 100 ale již jen u 27 %, docházelo k relapsům. Medián přežití byl 121 dnů. Autoři diskutují potenciální problémy této terapie, neboť se v poslední době jasně ukázalo, že existují také kriticky důležité imunoregulační T lymfocyty, které jsou CD4+/CD25+ a CD25 je receptor pro IL-2.

Postupy ovlivňující cytokiny nebo jejich receptory

Největší zkušenosti jsou s komerčně dostupnými preparáty blokujícími IL-2 nebo TNF. Byla publikována řada prací a ty větší zde rozebereme. Existují ale i další preparáty. Ani zde se nezdá, že některý z postupů by byl mimořádně účinný a převyšoval ostatní.

Blokace IL-2

Nejvíce se uplatňují monoklonální protilátky proti α řetězci receptoru pro IL-2. Jde o daclizumab, humanizovanou protilátku (Zenapax) a basiliximab, chimerickou protilátku (Simulect). Oba léky se používají především u transplantací solidních orgánů, kde snižují riziko akutních rejekcí, a jsou v ČR registrovány. Kupodivu, v profylaxi nebo v primární terapii GVHD se blokace receptoru pro IL-2 neosvědčila.

Daclizumab. Zprávy o jeho využití pro terapii steroid-rezistentní GVHD jsou velmi protichůdné. První větší publikace se objevila v roce 2000 (16) a výsledky některých zásadnějších prací jsou uvedeny v tabulce 3. Na první pohled je patrná různorodost těchto výsledků. Je to pravděpodobně způsobeno rozdílnou definicí steroid-rezistentní GVHD a celkovým přístupem k této komplikaci. Další zajímavé uplatnění daclizumabu popisují Wolff et al. (41). Používali jej místo kalcineurinových inhibitorů (cyklosporin A, takrolimus) u nemocných s mikroangiopatickou hemolytickou anémií, která těmito

Tab. 2. Další látky eliminující imunokompetentní buňky v terapii steroid-rezistentní GVHD.

Autoři	Počet nemocných, typ studie	Základní výsledky
Deeg et al. (32)	51, anti-CD147 myší monoklonální protilátka ABX-CBL	51 % léčebných odpovědí, přežití v 6 měsících 44 %
Carpenter et al. (33)	44, visilizumab, anti-CD3 monoklonální protilátka	46 % léčebných odpovědí, přežití ve 180 dnech 32 %
Shapira et al. (34)	7, alefacept, fúzní protein blokující CD2 a schválený pro terapii psoriázy	zajímavé dobré efekty zvláště u kožní GVHD

Tab. 3. Přehled některých větších studií s daclizumabem u steroid-rezistentní GVHD.

Autoři	Počet nemocných	Základní výsledky	Poznámka
Przepiorka et al. (16)	43, 2 schémata podávání. Lepší efekt při podání den 1, 4, 8, 15 a 22	47 % CR a přežívání den 120 53 %	
Srinivasan et al. (37)	12. U některých nemocných kombinace s infliximabem nebo ATG	CR 100 %, přežití den 200 73 %	Výrazně lepší výsledky při retrospektivním srovnání než s ATG. Velmi důsledná profylaxe infekcí.
Bordigoni et al. (38)	62	CR u 69 % pacientů a přežití ve 4 letech 55 %	Účinnost byla vyšší u nemocných s nižším počtem postižených orgánů a s menším rozsahem postižení kůže.
Zain et al. (39)	68	Přežití v 1 roce 29 %	Autoři píší, že daclizumab nejevil benefit.
Sia et al. (40)	12	Nikdo nepřežil	Autoři uvádějí, že se opět vrátili k ATG.

Tab. 4. Přehled studií s basiliximabem u steroid-rezistentní GVHD.

Autoři	Počet nemocných	Základní výsledky	Poznámka
Massenkeil et al. (15)	17	53 % CR, 18 % PR, 53 % přežití v 157 dnech (medián sledování)	
Schmidt-Hieber et al. (43)	23	65 % CR, 18 % PR, přežití v 1 roce 45%	Časté relapsy choroby.
Funke et al. (44)	34	CR 84 %, přežití v 5 letech 20 %	Diskuse o možném negativním ovlivnění CD4+/CD25+ regulačních T lymfocytů.

inhibitory může být způsobena, přičemž většina nemocných měla také GVHD. Weissner et al. (42) uvádějí pozitivní zkušenosti s kombinací daclizumab a sirolimus u střevní GVHD (45% přežití ve 2 letech). V případě kombinace s postižením jater byla prognóza výrazně horší (5% přežití ve 2 letech). Upozorňují také na výrazné riziko oportunních infekcí.

Basiliximab. Výsledky 3 větších nerandomizovaných studií jsou podobné a jsou uvedeny v tabulce 4.

Inolimomab. Jde o myší monoklonální protilátku zaměřenou také proti α řetězci receptoru pro IL-2. Publikovaná data se nezdají být odlišná od výsledků s daclizumabem a basiliximabem (45, 46).

Blokace TNF (tumor necrosis factor α)

Zde se nejvíce uplatňují 2 preparáty, infliximab (Remicade) a etanercept (Enbrel). Oba jsou dostupné v ČR a jejich využití je hlavně v revmatologii a pro terapii Crohnovy choroby. Infliximab je chimerická monoklonální protilátka proti TNF α , etanercept je genetickým inženýrstvím vytvořený fúzní protein kombinující receptor pro TNF a Fc část lidského IgG1. Etanercept váže a inaktivuje TNF.

Infliximab. Couriel et al. (47) referují o 21 nemocných, kteří dostali infliximab v monoterapii. Celková léčebná odpověď byla 67 % a přežití 38 % při mediánu sledování 8,7 měsíců. Velmi dobře odpovídalo postižení zažívacího traktu. Autoři ale upozorňují na vysokou incidenci infekcí. Deset nemocných (48 %) mělo 18 fungálních infekcí (7krát Aspergillus), 81 % nemocných bakteriální infekce a 67 % nemocných infekce virové.

Etanercept. Locatelli et al. (48) popisují celkovou léčebnou odpověď u 64 % nemocných, zvláště u postižení trávicího traktu. Také upozorňují na vysokou frekvenci oportunních infekcí. Kennedy et al. (13) upozorňují na výhodnost kombinace etanerceptu a ATG (tab. 1).

Kombinovaná blokáda TNF α /IL-2

Toto se jeví jako velmi nadějný přístup. Obě cytokinové dráhy mají zásadní význam v patogeneze GVHD, přičemž blokády jen jedné dráhy se nejeví jako dostatečně účinné. Dosavadní informace jsou ale poměrně omezené. Srinivasan et al. (49) uvádějí 14/16 CR (88 %) po terapii daclizumab a infliximab. Upozorňují ovšem na rizika oportunních infekcí, zvláště mykotických. Vysokou léčebnou odpověď této kombinace udávají i Rao et al. (50), a sice 10/13 (77 %) CR. Všichni pacienti dostávali antifungální profylaxi (AmBisome, voriconazol) a byli pravidelně monitorováni na výskyt oportunních virových infekcí. Naproti tomu kombinace daclizumabu a etanerceptu nedávala tak dobré výsledky (51). Možná

i proto, že zde bylo evidováno 52 % fatálních oportunních infekcí včetně mykotických (aspergillus, kandida). Zajímavou ideu publikovali Racadot et al. (52). Léčbu GVHD zahájili kombinací anti-CD2 a anti-TNF monoklonálními protilátkami a poté ještě protilátky proti receptoru pro IL-2 s cílem zabránit rekurenci GVHD. Bohužel, tento přístup se neukázal jako zcela funkční.

Blokáda IL-1

Tento cytokin z pokusů na zvířatech vyplýval jako velmi zásadní pro patogenezi GVHD. V klinice se uplatnil rekombinantní IL-1 receptor antagonist, anakinra. Studie s profylaktickým použitím u GVHD ale nevyzněla pozitivně. Pro terapii steroid-rezistentní GVHD jej použili Antin et al. (53). Přes velmi dobrou léčebnou odpověď zvláště u střevní GVHD bylo ale celkové přežívání pacientů nízké (3/17).

Cytostatika, nespecifická imunosupresiva

V rámci imunosuprese pro terapii steroid-rezistentní GVHD lze použít také řadu většinou klasických imunosupresiv. Kupodivu jsou stále mnohdy poměrně užitečná a jak je vidět, řada sofistikovaných moderních rekombinantních molekul nesplnila zcela očekávání v ně vkládaná.

Vyšší dávka kortikoidů

Jednou z možností je i navýšení dávky steroidů. Podle dat, která uvádějí Van Lint et al. (8), došlo při navýšení kortikoidů ze 2 na 5 mg/kg/den k CR u 24 % nemocných, k PR také u 24 % nemocných a u 38 % pacientů se choroba stabilizovala.

Cyklofosfamid

V léčbě steroid-rezistentní GVHD byl s úspěchem použit i pulzní cyklofosfamid v dávce 1 g/m² jednorázově. Tento postup byl vyvinut českými autory (54). Cyklofosfamid se ukázal jako mimořádně účinný v terapii jaterní a kožní GVHD, jeho účinnost u střevní GVHD je ale malá. Na pracovišti autorů je nyní pulzní cyklofosfamid standardním krokem pro terapii steroid-rezistentní jaterní GVHD nesdružené se střevní GVHD a dlouhodobě přežívání těchto nemocných je 95 % (55). Cyklofosfamid je klasické imunosupresivum a v pulzním podání se osvědčil např. pro terapii systémového lupusu.

Metotrexát

Je další klasická látka a dodnes pilíř profylaxe GVHD (cyklosporin A + metotrexát). V poslední době využíván i pro terapii akutní a chronické GVHD v podobných schématech jako v revmatologii. Studií zatím není mnoho. Huang et al. (56) sice popisují vynikající výsled-

ky u aGVHD, ale většina pacientů měla GVHD jen mírného stupně a předchozí terapie steroidy nebyla buďto žádná, nebo jen v malé dávce. De Lavallade et al. (57) udávají CR u 5 nemocných z 11 s aGVHD.

Mykofenolát mofetil

Mykofenolát mofetil je ester kyseliny mykofenolové. Ta inhibuje inosin monofosfát dehydrogenázu a tím syntézu guanosinových nukleotidů. Působí silněji na lymfocyty než na jiné buňky. V ČR je k dispozici preparát Cell Cept. Kim et al. (58) popisují větší efekt tohoto léku na chronickou než na akutní GVHD, což je v souladu i s naší vlastní prací (59). Fisher et al. (11) popisují určitou účinnost u steroid-rezistentní aGVHD, ale ne takovou, aby se látka zdála vhodná pro randomizovanou studii. Jejich protokol však obsahoval i záměnu cyklosporinu A za takrolimus (FK 506).

Pentostatin

Pentostatin (deoxycoformycin, preparát Nipent, není v ČR registrován) je potentní inhibitor adenosin deaminázy a blokace tohoto enzymu vede k eliminaci T lymfocytů. Bolanos-Meade (60) testovali tento lék u 23 nemocných s léčebnou odpovědí 76 %, přeživalo ale jen 6 nemocných. Podobné výsledky uvádějí i Klein et al. (61) se zdůrazněním dobré léčebné odpovědi u střední GVHD.

Sirolimus

Sirolimus (rapamycin, Rapamune, registrován v ČR) má odlišný mechanismus účinku od jiných imunosupresiv a ve svém důsledku způsobuje inhibici proliferace (62). Využíván u transplantací solidních orgánů. Jeho použití v terapii steroid-rezistentní aGVHD v monoterapii je limitováno vedlejšími účinky (63, 64) a tak je jeho role spíše v profylaxi GVHD a v terapii chronické GVHD. Lék je dostupný jen v perorální podobě, může způsobovat mikroangiopatickou hemolytickou anémii a má řadu potenciálně závažných interakcí. Již výše jsme zmínili pozitivní výsledky studie s kombinací daclizumab a sirolimus (42).

Buněčná terapie a další postupy

Mezenchymální kmenové buňky

V posledních několika letech bylo zjištěno, že mezenchymální kmenové buňky mají určité imunomodulační vlastnosti. Tyto buňky se nenachází v kostní dřeni a mohou být podány i od nepříbuzných HLA neshodných dárců. Výzkum v této oblasti pokračuje a dosavadní zprávy jsou vcelku nadějně (65).

Rituximab

Rituximab, eliminující B lymfocyty, se kupodivu a překvapivě uplatňuje i v terapii GVHD. Několik dosavadních zpráv bylo o nemocných s chronickou GVHD. Jedna práce uvádí ale i zásadní zlepšení u 3 nemocných s akutní steroid-rezistentní GVHD (66).

Etrakorporální fototerapie

Při této terapeutické metodě jsou odebrány lymfocyty, inkubovány s psoralenem a ozářeny ultrafialovým záře-

ním, což je zásadním způsobem ovlivní. Imunologické dopady jsou komplexní a ne zcela probádané. Tento typ léčby může mít pozitivní roli i pro terapii akutní steroid-rezistentní GVHD (67), i když více dat je pro léčbu chronické GVHD.

Závěr

Steroid-rezistentní akutní GVHD je jednou ze závažných komplikací po alogenní transplantaci krvetvorných buněk a představuje významný terapeutický problém, který zůstává i přes enormní úsilí ne zcela uspokojivě vyřešen. Překvapivě téměř všechny léčebné postupy vykazují zhruba stejnou účinnost a na první pohled není zřejmé, že by jeden zcela převyšoval jiný. Randomizované studie v této oblasti obvykle chybějí, publikovaná data představují většinou velmi malé soubory nemocných, které jsou navíc i velmi heterogenní. Jednotlivá pracoviště většinou používají určité postupy, u nichž zůstávají a sbírají s nimi zkušenosti. Z iniciativy České leukemické skupiny (THE CZECH LEUKEMIA STUDY GROUP – FOR LIFE, CELL) nyní vzniká pracovní tým, který se bude snažit některé aspekty tohoto závažného problému v rámci ČR sjednocovat.

Tato práce vznikla v rámci organizace Česká leukemická skupina - pro život, THE CZECH LEUKEMIA STUDY GROUP – FOR LIFE, CELL

Literatura

1. van Bekkum DW, de Vries MJ. Radiation chimeras. Logos Press Ltd., London 1967, 275 s.
2. Brent L. A history of transplantation immunology. Academic Press, San Diego 1997, 482 s.
3. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, et al. Graft-versus-leukemia after bone marrow transplantation. Blood 1990; 75: 555–562.
4. Mayer J, Brychtová Y. Využití alemtuzumabu u transplantací krvetvorných buněk. Trans Hematol dnes 2006; 12: 14–19.
5. Przepiorka D, Weisdorf D, Martin P, et al. Consensus conference on acute GvHD grading. Bone Marrow Transplant 1995; 15: 825–828.
6. MacMillan ML, Weisdorf DJ, Wagner JE, et al. Response of 443 patients to steroids as primary therapy for acute graft-versus-host disease: comparison of grading systems. Biol Blood Marrow Transplant 2002; 8: 387–394.
7. Cetkovský P. Akutní nemoc z reakce štěpu proti hostiteli. In: Cetkovský P et al.: Intenzivní péče v hematologii. Praha, Galén, 2004; 354–358.
8. Van Lint MT, Milone G, Leotta S, et al. Treatment of acute graft-versus-host disease with prednisolone: significant survival advantage for day +5 responders and no advantage for nonresponders receiving anti-thymocyte globulin. Blood 2006; 107: 4177–4181.
9. Ruutu T, Niederwieser D, Gratwohl A, Apperley JF. A survey of the prophylaxis and treatment of acute GVHD in Europe: a report of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Bone Marrow Transplant 1997; 19: 759–764.
10. Martin PJ, Schoch G, Fisher L, et al. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: secondary treatment. Blood 1991; 77: 1821–1828.

11. **Fisher G, Rocha V, dos Santos M, et al.** Mycophenolate mofetil with or without tacrolimus as a second line treatment for steroid-resistant acute graft-versus-host disease. The experience of Saint Louis Hospital. *Blood* 2006; 108: 819a, abstract 2892.
12. **MacMillan ML, Weisdorf DJ, Davies SM, et al.** Early antithymocyte globulin therapy improves survival in patients with steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transpl* 2002; 8: 40–46.
13. **Kennedy GA, Butler J, Western R, et al.** Combination antithymocyte globulin and soluble TNF α inhibitor (etanercept) +/- mycophenolate mofetil for treatment of steroid refractory acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transpl* 2006; 37:143-1147.
14. **Knop S, Hebart H, Gratwohl A, et al.** Treatment of steroid-resistant acute GvHD with OKT3 and high-dose steroids versus high-dose steroids alone. *Blood* 2005; 106: 45a, abstract 141.
15. **Massenkeil G, Rackwitz S, Genvresse I, Rosen O, Dorken B, Arnold R.** Basiliximab is well tolerated and effective in the treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 30: 899–903.
16. **Przepiorka D, Kernan NA, Ippoliti C, et al.** Daclizumab, a humanized anti-interleukin-2 receptor alpha chain antibody, for treatment of acute graft-versus-host disease. *Blood* 2000; 95: 83–89.
17. **Khoury H, Kashyap A, Adkins DR, et al.** Treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease with anti-thymocyte globulin. *Bone Marrow Transplant* 2001; 27: 1059-1064.
18. **Bacigalupo A.** Antilymphocyte/thymocyte globulin for graft versus host disease prophylaxis: efficacy and side effects. *Bone Marrow Transpl* 2005; 35: 225-231.
19. **van Bekkum DW, Ledney GD, Balner H, et al.** Suppression of secondary disease following foreign bone marrow grafting with anti-lymphocyte serum. In: Wolstenholme GEW, O'Connor M: Antilymphocyte serum. J.&A. Churchill, London 1967, 97–107.
20. **Arai S, Margolis J, Zahurak M, et al.** Poor outcome in steroid-refractory graft-versus-host disease with antithymocyte globulin treatment. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 155–160.
21. **McCaul KG, Nevill TJ, Barnett MJ, et al.** Treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease with rabbit antithymocyte globulin. *J Hematother Stem Cell Res* 2000; 9: 367–374.
22. **Mayer J, Kamelander J, Navrátil M, et al.** Treatment of steroid-refractory acute GvHD with ATG Fresenius. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: Suppl. 1, abstract 1061.
23. **MacMillan ML, Couriel D, Weisdorf DJ, et al.** A phase 2/3 multicenter randomized clinical trial of ABX-CBL versus ATG as secondary therapy for steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Blood* 2007; 109: 2657–2662.
24. **Knop S, Hebart H, Gscheidle H, et al.** OKT3 muromonab as second-line and subsequent treatment in recipients of stem cell allografts with steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 831–837.
25. **Carella AM, Beltrami G, Scalzulli PR, et al.** Alemtuzumab can successfully treat steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 131–132.
26. **Wandroo F, Auguston B, Cook M, et al.** Successful use of Campath-1H in the treatment of steroid refractory liver GvHD. *Bone Marrow Transplant* 2004; 34: 285–287.
27. **Busca A, Locatelli F, Lovisone E, et al.** Treatment of severe refractory acute graft-versus-host disease of the gastrointestinal tract with campath-1H. *Biol Blood Marrow Transpl* 2005; 11: 734–736.
28. **Repp R, Claviez A, Gahn B, et al.** Low dose alemtuzumab is effective in the treatment of severe steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37: Suppl. 1, abstract P481.
29. **Biersack H, Trenscher R, Peceny R, et al.** Treatment of steroid refractory acute GvHD with Campath-1H. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: Suppl. 1, abstract P726.
30. **Gómez-Almaguer D, Ruiz-Arguelles J, Gonzáles-Liano O, et al.** Alemtuzumab in the treatment of steroid refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Bone Marrow Transplant* 2007; 13: Suppl. 2, abstract 294.
31. **Repp R, Claviez A, Schrauder A, et al.** Successful therapy of steroid-refractory acute graft-versus host disease with sequential alemtuzumab. *Biol Bone Marrow Transplant* 2007; 13: Suppl. 2, abstract 321.
32. **Deeg HJ, Blazar BR, Bolwell BJ, et al.** Treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease with anti-CD147 monoclonal antibody ABX-CBL. *Blood* 2001; 98: 2052–2058.
33. **Carpenter PA, Lowder J, Johnston L, et al.** A phase II multicenter study of visilizumab, humanized anti-CD3 antibody, to treat steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 465–471.
34. **Shapira MY, Resnick IB, Bitan M, et al.** Rapid response to alefacept given to patients with steroid resistant or steroid dependent acute graft-versus-host disease: a preliminary report. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 1097–1101.
35. **Ho VT, Zahrieh D, Hochberg E, et al.** Safety and efficacy of denileukin diftitox in patients with steroid-refractory acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2004; 104: 1224–1226.
36. **Shaughnessy PJ, Bachier C, Grimley M, et al.** Denileukin diftitox for the treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11: 188–193.
37. **Srinivasan R, Chakrabarti S, Walsh T, et al.** Improved survival in steroid-refractory acute graft versus host disease after non-myeloablative allogeneic transplantation using a daclizumab-based strategy with comprehensive infection prophylaxis. *Brit J Haematol* 2004; 124: 777–786.
38. **Bordigoni P, Dimicoli S, Clement L, et al.** Daclizumab, an efficient treatment for steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Brit J Haematol* 2006; 135: 382–385.
39. **Zain JM, Smith E, Palmer J, et al.** The use of daclizumab for treatment of steroid refractory acute GVHD. A City of Hope experience. *J Clin Oncol* 2005; 23: abstract 6672.
40. **Sia H, Hui CH, Mangos H, et al.** Daclizumab has poor efficacy in steroid-refractory acute graft versus host disease: a single centre experience with 12 allograft patients. *Haematologica* 2006; 91: abstract 820.
41. **Wolff D, Wilhelm S, Hahn J, et al.** Replacement of calcineurin inhibitors with daclizumab in patients with transplantation-associated microangiopathy or renal insufficiency associated with graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2006; 38: 445–451.
42. **Weisser M, Goede V, Schiel X, et al.** Steroid refractory GVHD of the gut can be treated effectively with daclizumab and sirolimus. *Blood* 2004; 104: abstract 1237.
43. **Schmidt-Hieber M, Fietz T, Knauf W, et al.** Efficacy of the interleukin-2 receptor antagonist basiliximab in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol* 2005; 130: 568–574.
44. **Funke VAM, de Medeiros CR, Setúbal DC, et al.** Therapy for severe refractory acute graft-versus-host disease with basiliximab, a selective interleukin-2 receptor antagonist. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37: 961–965.
45. **Bay JO, Dhédin N, Goerner M, et al.** Inolimomab in steroid-refractory acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation : retrospective analysis and comparison with other interleukin-2 receptor antibodies. *Transplantation* 2005; 80: 782–788.
46. **Pinana JL, Valcárcel D, Martino R, et al.** Encouraging results with inolimomab (anti-IL-2 receptor) as treatment for refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 1135–1141.
47. **Couriel D, Saliba R, Hicks K C, et al.** Tumor necrosis factor- α blockade for the treatment of acute GVHD. *Blood* 2004; 104: 649–654.
48. **Locatelli F, Busca A, Dall'Omo A, et al.** Salvage therapy with etanercept for patients with severe acute and chronic GvHD. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35: Suppl 2, abstract P555.

49. **Srinivasan R, Geller N, Dorrance C, et al.** High response rate in acute steroid refractory graft-versus-host disease following combined tumor necrosis factor alpha and interleukin-2 blockade. *Blood* 2005; 106: abstract 1801.
50. **Rao K, Rao A, Veys P, Amrolia P.** Improved survival in steroid refractory GVHD using a combination of daclizumab and infliximab. *Bone Marrow Transplant* 2006; 37: Suppl 1, abstract P420.
51. **Wolff D, Roessler V, Steiner B, et al.** Treatment of steroid-resistant acute graft-versus-host disease with daclizumab and etanercept. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35: 1003–1010.
52. **Racadot E, Milpied N, Bordigoni P, et al.** Sequential use of three monoclonal antibodies in corticosteroid-resistant acute GVHD: a multicentric pilot study including 15 patients. *Bone Marrow Transplant* 1995; 15: 669–677.
53. **Antin JH, Weinstein HJ, Guinan EC, et al.** Recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in the treatment of steroid-resistant graft-versus-host disease. *Blood* 1994; 84: 1342–1348.
54. **Mayer J, Krejčí M, Doubek M, et al.** Pulse cyclophosphamide for corticosteroid-refractory graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35: 699–705.
55. **Krejčí M, Mayer J, Doubek M.** Surprisingly high efficacy and low toxicity of pulse cyclophosphamide in the treatment of corticosteroid-refractory liver GvHD. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: Suppl. 1, abstract P574.
56. **Huang XJ, Jiang Q, Chen H, et al.** Low-dose methotrexate for the treatment of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2005; 36: 343–348.
57. **De Lavallade H, Mohty M, Faucher C, et al.** Low-dose methotrexate as salvage therapy for refractory graft-versus-host disease after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation. *Haematologica* 2006; 91: 1438–1440.
58. **Kim JG, Sohn SK, Kim DH, et al.** Different efficacy of mycophenolate mofetil as salvage treatment for acute and chronic GVHD after allogeneic stem cell transplant. *Eur J Haematol* 2004; 73: 56–61.
59. **Krejčí M, Doubek M, Brychtová Y, Mayer J.** Mycophenolate mofetil for the treatment of acute and chronic steroid-refractory graft-versus-host disease. *Ann Hematol* 2005; 84: 681–685.
60. **Bolanos-Meade J, Jacobsohn DA, Margolis J, et al.** Pentostatin in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2661–2668.
61. **Klein SA, Bug G, Wassmann B, et al.** Outcome of patients treated with pentostatin as salvage therapy of steroid refractory acute intestinal graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: Suppl 1, abstract P703.
62. **Viklický O, Matl I.** Rapamycin: nové imunosupresivum schopné potlačit rejekci? *Čas Lék Čes* 2001; 140: 22–25.
63. **Benito AI, Furlong T, Martin PJ, et al.** Sirolimus (rapamycin) for the treatment of steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Transplantation* 2001; 72: 1924–1929.
64. **Pohlreich D, Vítek A, Válková V, et al.** Use of sirolimus (rapamune) in the treatment of steroid-refractory GvHD. *Bone Marrow Transplant* 2005; 35: Suppl 2, abstract P576.
65. **Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I, et al.** Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006; 81: 1390–1397.
66. **Kamble R, Oholendt M, Carrum G, et al.** Rituximab responsive refractory acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 1201–1202.
67. **Greinix HT, Knobler RM, Worel N, et al.** The effect of intensified extracorporeal photochemotherapy on long-term survival in patients with severe acute graft-versus-host disease. *Haematologica* 2006; 91: 405–408.

Prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.

Interní hematologická klinika FN Brno

Jihlavská 20

625 00 Brno

e-mail: jmayer@fnbrno.cz

Vzdělávací akce IPVZ

Subkatedra hematologie a transfuzního lékařství

209281101 Kurz - Poruchy metabolismu železa a jejich význam pro onemocnění krve

- * Určeno pro lékaře hematologických a interních oddělení, praktické lékaře a pro lékaře pracující na transfuzních odděleních.

Program: Patofyziologie, diagnostika, klinické příznaky a léčba stavů s nedostatkem železa, anémie při chronickém onemocnění, patofyziologie, diagnostika a klinické příznaky stavů s nadbytkem železa, vrozené a získané anémie vedoucí k přetížení organismu železem, hereditární hemochromatóza, principy chelatační léčby a nové chelatační přípravky.

Vedoucí: doc. MUDr. J. Čermák, CSc.

Místo konání: Praha 4, Budějovická 15

Předpokládaná cena: 800 Kč

15. 2. 2008

209281102 Kombinovaná specializační odborná stáž a kurz v hematologii a transfuzním lékařství

Určeno pro lékaře v přípravě k atestaci.

Program: Základy oboru v rozsahu potřebném k atestaci. Zaměření na speciální problematiku, která není běžně dostupná v terénní praxi.

Novinky v oboru. Praktický výcvik kombinovaný s tematicky vázanými semináři.

Školitel: doc. MUDr. J. Čermák, CSc., MUDr. H. Klamová, CSc., MUDr. J. Sajdová

Místo konání: Praha 2, U Nemocnice 1, ÚHKT

Předpokládaná cena: 4500 Kč

31. 3. 2008– 30. 4. 2008