

## Tumour hypoxia as a predictive factor for radiotherapy

Niedotlenienie guza jako czynnik predykcyjny w radioterapii onkologicznej

Недостаточное окисление опухоли как прогнозирующий фактор в онкологической радиотерапии

<sup>1</sup> Zakład Radioterapii, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu

<sup>2</sup> Oddział Radioterapii i Onkologii Ginekologicznej, Wielkopolskie Centrum Onkologii im. M. Skłodowskiej-Curie w Poznaniu.

Kierownik: dr hab. n. med. A. Roszak

Correspondence to: dr hab. n. med. Andrzej Roszak, Wielkopolskie Centrum Onkologii, Oddział Radioterapii i Onkologii Ginekologicznej, ul. Garbary 15, 61-866 Poznań tel. 061 885 05 87, faks 061 852 19 48

Source of financing: Department own sources

### Summary

Radiotherapy is, next to surgery, the basic method of treatment in oncology. The intensive searching of the predictive factors for radiotherapy effectiveness, are still continuing. The mechanism of radiotherapy action depends on the cellular oxygen presence. The latest studies evidence, that the molecular oxygen, through the mechanism of fixation, leads to destruction of the DNA damage, caused by the ionizing radiation, repair. Number of studies has demonstrated, that the tumour hypoxia evaluation correlates with radiotherapy effectiveness. However, the universal method assessing the tumour hypoxia does not exist. Actually used methods, as Eppendorf's electrode, the molecular markers of hypoxia evaluation, or PET studies with oxydo-reductive radiopharmaceutical agents, bring conflicting results. So, a lot of doubts about the quantitative and qualitative character of relationship between hypoxia and sensitivity for radiotherapy still exist. Moreover, the analysis is impeded by fact, that the hypoxia has significant negative prognostic influence on the treatment results with radiotherapy, through the genome and proteomic changes induction. The paper presents the actual status of knowledge about the influence of tumour hypoxia on radiotherapy effectiveness.

**Key words:** hypoxia, radiotherapy, predictive assay, anemia, cervix carcinoma

### Streszczenie

Radioterapia jest obok chirurgii podstawową metodą leczenia nowotworów. Trwają obecnie intensywne poszukiwania czynników predykcyjnych dla skuteczności radioterapii. Mechanizm działania radioterapii zależy od obecności tlenu w komórce. Najnowsze doświadczenia dowodzą, że tlen cząsteczkowy poprzez mechanizm fiksacji zaburza naprawę uszkodzeń wywołanych w DNA promieniowaniem jonizującym. Liczne badania wykazały, że ocena niedotlenienia guza koreluje z wynikiem radioterapii. Brak jednak uniwersalnej metody oceniającej hipoksję. Aktualnie stosowane metody, jak pomiar elektrodą Eppendorfa, ocena markerów molekularnych hipoksji czy badania PET z użyciem oksydoredukcyjnych radiofarmaceutyków dostarczają sprzecznych wyników. Istnieje więc wiele wątpliwości co do ilościowego i jakościowego charakteru zależności między niedotlenieniem a wrażliwością na radioterapię. Ponadto analizę utrudnia fakt, że niedotlenienie wywiera znaczny negatywny prognostyczny wpływ na wyniki leczenia radioterapią poprzez indukcję zmian genomowych i proteomicznych. W pracy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat wpływu niedotlenienia guza na skuteczność radioterapii.

**Słowa kluczowe:** hipoksja, radioterapia, czynnik predykcyjny, anemia, rak szyjki macicy

### Содержание

Радиотерапия наряду с хирургией является основным методом лечения новообразований. В настоящее время проводятся интенсивные поиски прогнозирующих факторов повышения эффек-

тивности радиотерапии. Известно, что механизм воздействия радиотерапии зависит от присутствия кислорода в клетке. Исследования проведенные в последнее время свидетельствуют о том, что клеточный кислород посредством механизма фиксации нарушает восстановление поврежденных, которые произошли в ДНК в результате ионизирующего облучения. Многочисленные исследования показали также, что оценка недостаточного окисления опухоли связана с результатами радиотерапии. Однако до сих пор нет универсального метода оценки гипоксии. Применяемые в настоящее время методы, такие как измерение при помощи электрода Эппендорфа, оценка молекулярных маркеров гипоксии или исследования ПЭТ с использованием радиофармацевтиков восстанавливающих окисление дают противоречивые результаты. Поэтому существует много сомнений относительно количественного и качественного характера зависимости между недостатком окисления и чувствительностью радиотерапии. Кроме того анализ осложняет факт, что недостаточность окисления воздействует в значительной степени отрицательно на прогнозирование результатов лечения с использованием в радиотерапии индукции геномных и протеомических изменений. В работе представлено актуальное состояние знаний на тему влияния недостатка окисления опухоли на эффективность радиотерапии.

**Ключевые слова:** гипоксия, радиотерапия, фактор прогнозирующий, анемия, рак шейки матки

## INTRODUCTION

Radiotherapy is actually performed in about 60% of oncological patients<sup>(1)</sup>. Its effectiveness is measured by the 5-year disease free survival factor, in case of different malignancies differs between 0 and 100%<sup>(2)</sup>. The treatment results of patients with identical or very similar actually recognised prognostic factors, as location, size or histological differentiation of the tumour, with radiotherapy, are different<sup>(3)</sup>. There is not clear enough, why the radiotherapy was effective in one patient, and with the other did not have any curable influence. The intensive searching of the additive predictive factors, specific for radiotherapy, are still exist<sup>(4)</sup>. One of the most active studied factors is the tumour hypoxia. The numerous experimental and clinical trials results demonstrate the correlation between the tumour hypoxia and its sensitivity on radiotherapy<sup>(5)</sup>. So, hypoxia is attractive explanation of the problem with different radiotherapy results in very similar patients, in aspect of known prognostic and predictive factors. Since the mid-fifties the intensive studies, to define the mechanism of the oxygen effect and the value of hypoxia, making significant reduction of the radiotherapy effectiveness, and to introduce the exact and available method of tumour hypoxia evaluation in clinical conditions, which would allow to foresee the answer to standard radiotherapy and to select the group of patients, for who the experimental intensification of treatment would be necessary, have been going on. But today, at the beginning of XXI century, nevertheless of over 50 years of studies and a lot of fascinating finds about the tumour hypoxia, its evaluation is still not performed in any standard of the tumour advance assessment on the whole world and is not taken into account during the treatment method selection. Why?

## WPROWADZENIE

Radioterapia jest obecnie stosowana u około 60% pacjentów nowotworowych<sup>(1)</sup>. Jej skuteczność mierzona współczynnikiem 5-letnich przeżyć wolnych od wznowy miejscowej w przypadku różnych nowotworów waha się w szerokim przedziale – praktycznie od 0 do 100%<sup>(2)</sup>. Wyniki leczenia radioterapią pacjentów mających identyczne lub bardzo zbliżone aktualnie uznawane czynniki predykcyjne i prognostyczne, jak lokalizacja, wielkość czy stopień złośliwości histologicznej guza są różne<sup>(3)</sup>. Nie jest w pełni wyjaśnione, dlaczego u danego chorego radioterapia była skuteczna, a u innego nie przyniosła leczniczego efektu. Trwa intensywnie poszukiwanie dodatkowych czynników predykcyjnych swoistych dla radioterapii<sup>(4)</sup>. Jednym z najaktywniej badanych jest niedotlenienie guza. Wyniki licznych badań zarówno eksperymentalnych, jak i klinicznych wykazują, że istnieje związek między niedotlenieniem guza nowotworowego a jego wrażliwością na radioterapię<sup>(5)</sup>. Hipoksja jest więc atrakcyjnym wyjaśnieniem problemu różnych wyników radioterapii u bardzo podobnych pacjentów pod względem dotąd znanych czynników prognostycznych i predykcyjnych. Od połowy lat 50. prowadzone są intensywne badania, które mają określić mechanizm efektu tlenu oraz wartość hipoksji powodującą istotne obniżenie wyniku radioterapii, a także wprowadzić dokładną i dostępną metodę oceny hipoksji guza w warunkach klinicznych, która pozwalałaby przewidzieć odpowiedź na standardową radioterapię i wyselekcjonować grupę pacjentów, u których konieczna byłaby eksperymentalna intensyfikacja leczenia. Jednak dziś, u początku XXI wieku, mimo ponad 50 lat badań i wielu fascynujących odkryć dotyczących niedotlenienia guzów, jego ocena nie jest wykonywana w żadnym standardzie

## MECHANISM OF THE OXYGEN EFFECT IN RADIOTHERAPY

By the oxygen effect is meant the higher effectiveness of radiotherapy towards to cells in reach in oxygen environment, when compared to the environment without the oxygen or with its low concentration. On the base of studies with micro-radiation and radioisotopes with very short range of radiation, is supposed, that for lethal action of radiation, the interactions with the cellular nucleus, are responsible<sup>(6)</sup>. The photons stream on the rule of Compton collisions, raise the cellular duplicate electrons stream, which bring out the ionization of met particles<sup>(7)</sup>. The most frequent met molecule inside the cell is water. As the effect of its ionization, this molecule is broken down into two independent radicals: hydroxyl and hydrogen. Also the ionization may concern the atoms in DNA molecules, the effect of what is the organic free radical, inside the DNA molecule, origin. The reactions of the recalled above water-derivative free radicals, with the DNA molecule and also the reactions of organic radicals inside the DNA molecule have effect in single-strand breakage, or double-strand breakage of DNA<sup>(8)</sup>. It has been ascertained a lot of times, that the effectiveness of cell killing through the radiation, correlates with the number of double-strand breakage<sup>(9)</sup>. However, the reports not confirming this correlation, do exist<sup>(10)</sup>. This is intelligible, when we accept, as noticed Dewey et al. at the early seventies, and what is confirmed for the successive actual studies, that not the number of DNA damages, but the effectiveness of its repair, seems to be the most significant predicting factor for radiotherapy<sup>(11)</sup>. That is why, being obligatory up to today, the oxygen effect mechanism interpretation is based on the oxygen fixation hypothesis, of the above DNA damage through the molecules of oxygen. According to this theory, having its source in Deschner's and Gray's studies, coming from the second middle of fifties, is accepted, that the oxygen, next to the DNA molecule in physic chemical mechanism, consolidates the primary DNA damages, caused by the ionizing energy, and makes them inaccessible for the damage-repair mechanisms<sup>(12)</sup>. To perform this reaction, the molecular oxygen has to be present, during the irradiation process, or, not later than 5 ms after irradiation<sup>(13)</sup>. What is interesting, the evidence in which the direct oxygen effect was revealed, was performed at the first time for Prise et al. during the late nineties<sup>(14)</sup>. Therefore it may be told, that the significance of the oxygen presence on the DNA damage repair effectiveness is today evidence-based, and actual studies in this field try to answer the question, which among from the known types of DNA repair is the most significant in this mechanism, HRR – homologous recombination repair, or NHEJ – non-homologous end-joining<sup>(15)</sup>.

oceny zaawansowania nowotworu na świecie i nie jest brana pod uwagę przy wyborze metody leczenia. Dlaczego?

## MECHANIZM EFEKTU TLENU W RADIOTERAPII

Jako efekt tlenu rozumie się większą skuteczność radioterapii wobec komórek w środowisku bogatym w tlen niż wobec komórek w środowisku pozbawionym tlenu lub o niewielkim jego stężeniu. Na podstawie badań z użyciem mikropromieni oraz radioizotopów o bardzo krótkim zasięgu promieniowania zakłada się, że za letalne działanie promieniowania jonizującego odpowiedzialne są interakcje tego promieniowania z jądrem komórkowym<sup>(6)</sup>. Strumień fotonów na zasadzie zderzeń comptonowskich wzbudza w komórce wtórny strumień elektronów, które wywołują jonizację napotkanych cząsteczek<sup>(7)</sup>. Najczęściej spotykaną cząsteczką w komórce jest cząsteczka wody. Wskutek jej jonizacji ulega ona rozpadowi na wysoce reaktywne wolne rodniki: hydroksylowy i wodorowy. Jonizacja może również dotyczyć atomów w cząsteczce DNA, czego efektem jest powstanie organicznych wolnych rodników wewnątrz cząsteczki DNA. Reakcje wspomnianych wolnych rodników wodopochodnych z cząsteczką DNA oraz reakcje organicznych rodników wewnątrz cząsteczki DNA skutkują powstaniem jednoniciowych (*singles-strand breakage*) lub dwuniciowych (*double-strand breakage*) pęknięć DNA<sup>(8)</sup>. Wielokrotnie potwierdzono, że skuteczność zabijania komórek przez promieniowanie jonizujące koreluje z ilością dwuniciowych pęknięć DNA<sup>(9)</sup>. Istnieją jednak doniesienia niepotwierdzające tej korelacji<sup>(10)</sup>. Jest to zrozumiałe, gdy przyjmujemy, że, jak zauważyli już na początku lat 70. Dewey i wsp., a co potwierdzają kolejne współczesne badania, nie tyle ilość uszkodzeń DNA, co skuteczność ich naprawy wydaje się w największym stopniu warunkować skuteczność radioterapii<sup>(11)</sup>. Dlatego obowiązujące do dziś wyjaśnienie mechanizmu efektu tlenu opiera się na teorii utrwalania (*oxygen fixation hypothesis*) powyższych uszkodzeń DNA przez cząsteczki tlenu. Według tej teorii mającej źródło w pracach Deschnera i Graya z drugiej połowy lat 50. przyjmuje się, że tlen w bezpośrednim sąsiedztwie cząsteczki DNA w mechanizmie fizykochemicznym utrwała pierwotne uszkodzenia DNA wywołane promieniowaniem jonizującym i czyni je niedostępnym dla mechanizmów naprawczych<sup>(12)</sup>. Aby zaszła taka reakcja, cząsteczkowy tlen musi być obecny w chwili napromieniania lub nie później niż około 5 ms po napromienianiu<sup>(13)</sup>. Co ciekawe, doświadczenie, w którym po raz pierwszy wykazano bezpośrednio efekt tlenu, przeprowadzili dopiero w końcu lat 90. Prise i wsp.<sup>(14)</sup> Można więc powiedzieć, że znaczenie obecności tlenu na skuteczność naprawy zniszczeń DNA jest dziś w pełni udowodnione, a aktualne badania w tej dziedzinie próbują odpowiedzieć na pytanie, który z poznanych typów naprawy DNA jest najbardziej istotny w tym mechanizmie

## THE OXYGEN ENHANCEMENT RATIO

Because generally has been accepted, that hypoxia protects cells against the destructive effect of radiotherapy, during the sixties, number of *in vitro* and *in vivo* experiments, started, to measure the strength of this protection. It has been accepted as oxygen enhancement ratio – OER, defined as the relation between the doses of irradiation, giving the same effect in irradiated cells in different oxygen conditions. In another way, OER describes, in which degree the cellular sensitivity on the lethal action of radiotherapy increases with the oxygen concentration increasing in direct cellular environment. Thus, according to the definition, for conditions of anoxia, OER is 1, what means lack of sensitivity. Based on the number of the experiments, on the different cell lines, starting from the yeasts and bacteria, and at the cells, coming from the animal models of the tumours, finishing, the surprisingly homogenous OER, ranging between 2.5 and 3, was determined<sup>(16)</sup>. During many years, such spectacular result has given the impression for radiobiologists, that they found the answer to the question, why the results of treatment with radiotherapy are so different for such similar patients. However slight successes of the clinical studies, based on the experimental increasing of tumour oxygenation during radiotherapy, or using the compounds with oxygen properties, required the inspection of experimental studies, which suggested, that OER is such high<sup>(17)</sup>. In year 1984, B. Palcic et al. suggested, that OER for standard doses used in radiotherapy is definitely lower than 3<sup>(18)</sup>. Prosecuted researches confirmed, that the value of OER 2.5-3.0 is not adequate for doses 2 Gy or lower<sup>(19)</sup>. The detailed analysis of experimental studies, according to which such high OER was defined, were performed for Dasu et al. not long time ago<sup>(20)</sup>. It has been demonstrated, that most of experiments, performed during sixties and seventies, depended on the clonogenic potential preservation of individual cells after high, up to 5-15 Gy single fractions of irradiation. Next, calculated this way OER was extrapolated on the clinically significant field, therefore 2 Gy or less. Few experiments performed these times were accused of the statistical significance absence<sup>(21)</sup>. It resulted from very low plating efficiency of the tumour cells. It means, that was difficult to distinguish, if the differences in cell survival rate were the result of the plating condition, or the oxygen concentration during the irradiation. Contemporary studies of the cell survival rate, using the advanced laboratory methods, as DMIPS (dynamic microscope image processing system), have demonstrated, that with low and very low doses of irradiation, lower than 1 Gy, OER is close to 1, may also be lower<sup>(22)</sup>. In sum, in the range of doses between 1 Gy and 5 Gy, OER increases from values close to 1 to about 3. Therefore, currently the value of OER, accepted for the most frequent doses in radiotherapy, 1.8-2 Gy, ranges between 1.2 to 2.0. The mat-

– naprawa przez homologiczną rekombinację (HRR – *homologous recombination repair*) czy system niehomologicznego łączenia przerwanego DNA (NHEJ – *non-homologous end-joining*)<sup>(15)</sup>.

## WSPÓŁCZYNNIK WZMOŻENIA TLENOWEGO (WWT)

Ponieważ powszechnie przyjęto, że niedotlenienie chroni komórki przed niszczącym działaniem radioterapii, rozpoczęto w latach 60. liczne eksperymenty *in vitro* i *in vivo*, by zmierzyć siłę tej ochrony. Wyraża się ją jako WWT – współczynnik wzmożenia tlenowego (*oxygen enhancement ratio*, OER) – zdefiniowany jako stosunek dawek promieniowania dających ten sam efekt w komórkach napromienianych w różnych warunkach tlenowych. Innymi słowy WWT opisuje, w jakim stopniu wrażliwość komórek na letalne działanie radioterapii wzrasta ze wzrostem stężenia tlenu w bezpośrednim otoczeniu komórki. Tak więc z definicji, dla warunków anoksycznych WWT jest równy jeden, co oznacza brak uwrażliwienia. Na podstawie licznych eksperymentów na różnych liniach komórkowych, poczynając od drożdży i bakterii, a na komórkach pochodzących ze zwierzęcych modeli guzów nowotworowych kończąc, wyznaczono zaskakująco jednolity WWT mieszczący się w granicach 2,5-3<sup>(16)</sup>. Przez wiele lat ten spektakularny wynik pozwalał radiobiologom sądzić, że znaleźli odpowiedź na pytanie, dlaczego wyniki radioterapii tak bardzo się różnią u podobnych chorych. Jednak znikome sukcesy badań klinicznych opartych na próbach zwiększania utlenowania guza w trakcie radioterapii bądź na stosowaniu związków o podobnych do tlenu właściwościach fizykochemicznych nakazały rewizję badań eksperymentalnych, które sugerowały, że WWT jest tak wysoki<sup>(17)</sup>. W 1984 roku Palcic i wsp. zasugerowali, że WWT dla standardowych dawek stosowanych w radioterapii jest zdecydowanie niższy niż 3<sup>(18)</sup>. Dalsze badania potwierdziły, że wartość WWT równa 2,5-3,0 jest nieadekwatna w stosunku do dawek równych i niższych od 2 Gy<sup>(19)</sup>. Szczegółową analizę badań eksperymentalnych, według których obliczono tak wysoki WWT, przeprowadzili niedawno Dasu i wsp.<sup>(20)</sup> Okazało się, że większość eksperymentów z lat 60. i 70. polegała na pomiarze zachowania potencjału klonogenego pojedynczych komórek po wysokich, sięgających 5-15 Gy jednorazowych dawkach napromieniania. Następnie obliczony w ten sposób WWT ekstrapolowano na obszar dawek istotnych klinicznie, a więc 2 Gy i mniej. Nielicznym eksperymentom przeprowadzonym w tamtych czasach w zakresie dawek poniżej 2 Gy zarzucano brak znamienności statystycznej<sup>(21)</sup>. Wynikało to z bardzo niskiej wydajności hodowli (*plating efficiency*) komórek nowotworowych. Innymi słowy trudno było stwierdzić, czy różnice w przeżywalności komórek wynikały z wpływu warunków hodowli, czy stężenia tlenu w trakcie napromieniania. Współczesne badania

ter of the OER behave in aspect of fractionated radiotherapy in the situation of the changing in time and space tumour hypoxia, is still the mystery<sup>(23)</sup>.

### THE ANATOMY AND PHYSIOLOGY OF THE TUMOUR HYPOXIA AND ITS MEANING FOR RADIOTHERAPY – RADIOBIOLOGICAL HYPOXIA

The description of the tumour hypoxia is still evolving since over 50 years. In the measure of the diagnostic methods progress, it becomes more and more dynamic. All initiated divisions of the tumour hypoxia, in aspect of its genesis, as the diffusion, anaemic, hypoxemic, toxic hypoxia, or also dynamics – acute, temporary, chronic hypoxia – it has to be treated as necessary, but significantly simplified model of the tumour oxygenation picture<sup>(24)</sup>. Taking into account the not proper structure of the tumour vessels – leakiness and shunt-type connections – direct connect of the vena and artery, and also, local coagulopathy, vessel adhesive factors expression disorders, and the permanent tumour cell proliferation and its dislocation in relation to vessels, it becomes clear, why the cell distribution in hypoxia condition and its intensity inside the tumour are very heterogenic and changeable<sup>(25)</sup>. Also changes of the oxygenation, caused by irradiation, come into effect – the phenomenon of periodic re-oxygenation and de-oxygenation. This problem was touched up during seventies for Kallman<sup>(26)</sup>. However, up to now, their mechanism and influence on radiotherapy is not still defined enough<sup>(27)</sup>.

To standardise the hypoxia typology, during the first middle of nineties, the radiobiological hypoxia was accepted<sup>(28)</sup>. This term should mean the tumour cells, which, due to hypoxia are radio-resistant. It is known, that the quantity and the location of hypoxic cells, their cell growth cycle time, the absolute value of the oxygen concentration and the degree of its inconstancy, may have influence. For example, according to Elkind et al. evidences, coming from sixties, results, that OER rapidly grows in oxygen concentration, ranged between 0-20 mm Hg, what means about 2% of the oxygen concentration in the gas mixture, besides, half of the maximum oxygen effect is reached with the values of pO<sub>2</sub> about 3-10 mm Hg. The further oxygen concentration increasing, even up to 100%, increases the OER not significantly. Actually, what kind of combination of the above factors of the hypoxia, has the strongest influence in aspect of the irradiation effectiveness, is the subject of discussion<sup>(29)</sup>. For example, some radiobiologists consider, that the group of the cells in chronic hypoxia does not determine the clinical danger in aspect of the radiotherapy resistance. Quite the contrary, these protractedly “sub stewed and malnourished” cells, become to be highly sensitive to irradiation with regard for very limited opportunity of energy mustering for repair processes.

przeżywalności komórek, stosujące zaawansowane metody laboratoryjne, jak np. DMIPS (*dynamic microscope image processing system*) wykazały, że przy niskich i bardzo niskich dawkach napromieniania, tj. poniżej 1 Gy, WWT jest bliski jedności, a może nawet niższy<sup>(22)</sup>. Reasumując, w przedziale dawek od 1 Gy do 5 Gy WWT rośnie od wartości bliskich 1 do około 3. Aktualnie przyjmuje się więc, że dla najczęściej stosowanych dawek we współczesnej radioterapii, czyli 1,8-2,0 Gy, WWT mieści się najprawdopodobniej w granicach od 1,2 do 2,0. Zagadką pozostaje jednak kwestia, jak zachowuje się WWT przy frakcjonowanej radioterapii w sytuacji zmieniającego się w czasie i przestrzeni utlenowania guza<sup>(23)</sup>.

### ANATOMIA I FIZJOLOGIA NIEDOTLENIENIA GUZA NOWOTWOROWEGO A JEGO ZNACZENIE DLA RADIOTERAPII – NIEDOTLENIENIE RADIOBIOLOGICZNE

Opis niedotlenienia guza nowotworowego ewoluuje od ponad 50 lat. Wraz z postępem metod diagnostycznych staje się on coraz bardziej dynamiczny. Wszelkie wprowadzane podziały niedotlenienia guzów nowotworowych, czy to ze względu na jego genezę, jak niedotlenienie dyfuzyjne, niedokrwienne, hipoksemiczne, toksyczne, czy też dynamikę – ostre, przejściowe i przewlekłe niedotlenienie – należy traktować jako potrzebny, lecz znacznie uproszczony model obrazu utlenowania guza nowotworowego<sup>(24)</sup>. Mając na uwadze nieprawidłową budowę naczyń wytworzonych w tkance nowotworowej (nieszczelności i połączenia typu *shunt*), bezpośrednie połączenie tętniczki z żyłą, a także lokalne zaburzenia krzepnięcia, zaburzenia ekspresji naczyniowych czynników adhezyjnych oraz stałą proliferację komórek w obrębie guza i ich przemieszczanie się w stosunku do naczyń, jasne staje się, dlaczego rozkład komórek w stanie niedotlenienia i jego nasilenie w guzie są bardzo heterogenne i zmienne w czasie<sup>(25)</sup>. Do tego dochodzą jeszcze zmiany utlenowania wywołane napromienianiem – zjawisko cyklicznej reoksygenacji i deoksygenacji. Problem ten poruszał już w latach 70. Kallman<sup>(26)</sup>. Jednak do dziś ich mechanizm i wpływ na radioterapię nie jest do końca poznany<sup>(27)</sup>.

W celu ujednoczenia typologii hipoksji wprowadzono w pierwszej połowie lat 90. termin radiobiologicznego lub radiobiologicznie istotnego niedotlenienia (*radio-biological hypoxia*)<sup>(28)</sup>. Termin ten ma oznaczać komórki w guzie nowotworowym, które ze względu na niedotlenienie są istotnie odporne na radioterapię. Wiadomo, że wpływ na istotność radiobiologiczną może mieć zarówno ilość, jak i rozmieszczenie komórek niedotlenionych, ich czas obrotu komórkowego, bezwzględna wartość stężenia tlenu i stopień jego zmienności. Na przykład z doświadczeń Elkind i wsp. z lat 60. wynika, że WWT rośnie gwałtownie w przedziale stężeń tlenu od 0-20 mm Hg, co odpowiada ok. 2% zawartości tlenu w mieszaninie

The discussion is not finished yet, because the low-energetic status, caused by chronic hypoxia from one side reduces the energy-dependent repair processes effectiveness, and from the other side, leads the cell in the “sleeping status”, blocks the progression through the cellular cycle, not permitting the damage to manifest itself during the cell division, what seems to be the main reason of the tumour cell death – mitotic death, as opposed to inter-phase death<sup>(30)</sup>. However also at this last field the dissonance between radiobiologists still exists, what makes difficult the answer, whether the chronic hypoxia is radiobiologically significant<sup>(31)</sup>. Beyond this academic discussion, it has to be remembered, that the oxygen effect is still exist, its value measured for OER is significant and that is why the presence of radiobiologically significant hypoxia should be assessed.

### THE METHODS OF HYPOXIA EVALUATION AND THEIR CORRELATION WITH RADIOTHERAPY RESULTS

Based on the above evidences and considerations, we may have the impression, that, when we consider the relation between hypoxia and radiotherapy in aspect of the single tumour cell, it is quite simple, understandable, and, what is the most important, foreseeable. In practice, the situation is more complex. Because, during the laboratory studies, the oxygen concentration in gas mixture around the irradiated cells, may be precisely measured, which concentration may be easily related to the irradiation influence on the cell division ability maintenance. The question, what and how to measure, to foresee the answer of all tumour cells on the defined dose of radiation?<sup>(32)</sup> Currently, the standard, precise and non-invasive method, assessing the radiobiologically significant tumour hypoxia does not exist<sup>(33)</sup>. Within last 30 years, the several methods of tumour hypoxia evaluation have been evolved. Most of them are the experimental methods. Most of the data concerning the correlation between the tumour hypoxia evaluation and result of irradiation, relates to three types of measurements: with the Eppendorf’s electrode, and through the exogenous endogenous markers of hypoxia<sup>(34)</sup>. The longest and the most popular used method is invasive tumour measurement with the Eppendorf’s micro-electrode<sup>(35)</sup>. In spite of this method average the records of partial oxygen pressure in the necrotic fields, and acute and chronic hypoxia, its results correlate with the results of the treatment of head and neck malignancies, cervical cancer and sarcomas<sup>(36)</sup>. The researches about the computer programming, optimising the electrode reading, are still go on<sup>(37)</sup>. From one side, this is the method, for which the largest evidence material as the method of tumour oxygenation evaluation in order to predict the treatment result, exists<sup>(38)</sup>. From the other side, the newest comparative studies with methods, based on the positron

gazowej, przy czym połowa maksymalnego efektu tlenu osiągana jest przy wartościach pO<sub>2</sub> około 3-10 mm Hg. Dalsze zwiększanie stężenia tlenu, nawet do 100%, już nieznacznie tylko zwiększa WWT. Obecnie trwa żywa dyskusja, jakiego rodzaju połączenie powyższych cech niedotlenienia najsilniej wpływa na skuteczność napromieniania<sup>(29)</sup>. Część radiobiologów uważa, że grupa komórek przewlekle niedotlenionych nie stanowi zagrożenia klinicznego w aspekcie oporności na radioterapię. Wręcz przeciwnie, te przewlekle „podduszone i niedożywione” komórki stają się wysoce promieniowrażliwe ze względu na bardzo ograniczone możliwości wykrzesania energii na procesy naprawcze. Dyskusja nie jest zamknięta, gdyż stan niskoenerygetyczny, który wywołuje przewlekłą hipoksja, z jednej strony obniża wydajność energozależnych procesów naprawczych, ale z drugiej wprowadza komórkę w „uśpienie”, blokuje progresję przez cykl komórkowy, nie pozwalając, żeby uszkodzenia ujawniły się w trakcie podziału komórkowego, co wydaje się być główną przyczyną śmierci komórki nowotworowej – śmierć mitotyczna w odróżnieniu od śmierci interfazalnej<sup>(30)</sup>. Jednak i na tym ostatnim polu istnieje rozdzwięk między radiobiologami, co tylko utrudnia odpowiedź na pytanie, czy przewlekła hipoksja jest istotna radiobiologicznie<sup>(31)</sup>. Pomijając dyskusję akademicką, trzeba pamiętać, że efekt tlenu istnieje, jego wartość zmierzona poprzez WWT jest znacząca i dlatego należy próbować ocenić, chociaż w przybliżeniu, obecność istotnego radiobiologicznie niedotlenienia.

### METODY OCENY HIPOKSJI I ICH KORELACJA Z WYNIKIEM RADIOTERAPII

Na podstawie powyższych doświadczeń i rozważań można odnieść wrażenie, że gdy rozpatrujemy związek niedotlenienia i radioterapii w odniesieniu do pojedynczej komórki nowotworowej jest on dosyć prosty, zrozumiały i co najważniejsze przewidywalny. W praktyce mamy jednak do czynienia z sytuacją o wiele bardziej złożoną. Bowiem w doświadczeniach laboratoryjnych można precyzyjnie zmierzyć stężenie tlenu w mieszance gazowej obmywającej badane naświetlane komórki, które to stężenie można następnie łatwo odnieść do wpływu promieniowania na utrzymanie zdolności komórki do podziałów komórkowych. Pytanie brzmi jednak, co i jak zmierzyć, żeby przewidzieć odpowiedź wszystkich komórek w guzie na określoną dawkę radioterapii<sup>(32)</sup>. Aktualnie standardowa, precyzyjna i nieinwazyjna metoda oceniająca radiobiologicznie istotne niedotlenienie guzów nowotworowych nie istnieje<sup>(33)</sup>. W ciągu ostatnich 30 lat rozwinęło się kilkanaście metod oceny niedotlenienia guzów nowotworowych. Jednak większość z nich to metody eksperymentalne. Najwięcej danych dotyczących korelacji oceny niedotlenienia z wynikiem radioterapii jest na temat trzech typów pomiarów – z użyciem

emission tomography using the radiopharmaceutical agents, selectively being subordinated to the oxydo-reductive reaction in the oxygen concentrations lower than 10 mm Hg, demonstrate the significant differences in the assessment of the same tumour<sup>(39)</sup>. At the beginning, the distribution of the mentioned pharmaceutical nitroimidazole agents, was evaluated only immunohistochemically among the biopsy specimen, and it correlated with the treatment results<sup>(40)</sup>. This is the method of the exogenous markers. The lack of significant correlation between the micro-electrode measurement method and exogenous marker was demonstrated in those days<sup>(41)</sup>. At the other turn, the endogenous markers method lies in the molecular products of the cells treated with hypoxia, assessment. The main protein products, evaluated actually retrospectively in the histopathological specimen and correlated with the treatment result is the HIF-1alpha protein, CAIX and GLUT-3. Also in this case, the divergent reports alike concerning correlations between endogenous markers and with the micro-electrode method, and the prognostic value of the endogenous hypoxia markers, still exist<sup>(42)</sup>.

Thus, from one side, the predictive nature of the measurement of hypoxia is obvious, but from the other side, the method validation, which would have the acceptable sensitivity and specificity, in radiobiologically significant tumour hypoxia, which would help the patients stratification to the different treatment method, does not exist.

### UNSPECIFIC PROGNOSTIC INFLUENCE OF HYPOXIA AND ITS PREDICTIVE SIGNIFICANCE FOR RADIOTHERAPY RESULTS

Beyond the influence on the radiotherapy mechanism, hypoxia has a huge impact on the tumour biology through the genomic and proteomic changes<sup>(43)</sup>. This is confirmed by the studies on micro-matrixes and spectroscopes of mass cells treated with hypoxia, and also, general, independent of the treatment method, negative prognostic influence of hypoxia<sup>(44,45)</sup>. The hypoxic cells possess the increased ability of micro invasion, skip and distant metastases. The above observations relate probably mainly to temporary hypoxic cells- repeated hypoxia and re-oxygenation incidents cause the genetic instability<sup>(46)</sup>. Unfriendly environment – low unstable level of oxygen, glucose, low pH, high lactates concentration – on the rule of clone selection, promotes mutations, facilitating the getting out of it – the increased metastatic potential and also, raising the apoptotic answer threshold<sup>(47,48)</sup>.

#### BIBLIOGRAPHY: PIŚMIENNICTWO:

1. De Vita V.T.: Principles and Practice in Oncology. 5<sup>th</sup> ed. Lippincot, Philadelphia 2001.

mikroelektrody Eppendorfa oraz poprzez ocenę egzogennych i endogennych markerów hipoksji<sup>(34)</sup>. Najdłużej i najpowszechniej stosowaną metodą jest inwazyjny pomiar utlenowania guza za pomocą mikroelektrody Eppendorfa<sup>(35)</sup>. Mimo że uśrednia ona wartości ciśnień parcjalnych tlenu obszarów martwicy oraz ostrej i przewlekłej hipoksji, jej wyniki dobrze korelują z wynikami leczenia nowotworów głowy i szyi, szyjki macicy i mięsaków<sup>(36)</sup>. Trwają aktualnie badania nad oprogramowaniem komputerowym, które maksymalnie optymalizuje odczyt z elektrody<sup>(37)</sup>. Z jednej strony jest to metoda, dla której istnieje największy materiał dowodowy jako metody oceny utlenowania guza w celu predykcji wyniku leczenia<sup>(38)</sup>. Z drugiej strony najnowsze badania porównawcze z metodami opartymi na pozytronowej tomografii emisyjnej z użyciem radiofarmaceutyków wybiórczo podlegających reakcji oksyduacyjnej w stężeniach tlenu poniżej 10 mm Hg wykazują znaczne różnice w ocenie utlenowania tego samego guza<sup>(39)</sup>. Początkowo rozkład wspomnianych radiofarmaceutyków nitroimidazolowych oceniano jedynie immunohistochemicznie w materiale biopsyjnym i korelowano z wynikiem leczenia<sup>(40)</sup>. Na tym polega metoda egzogennych markerów. Już wtedy wykazano brak istotnej korelacji między pomiarami metodą mikroelektrody i egzogenego markera<sup>(41)</sup>. Z kolei metoda endogennych znaczników polega na ocenie molekularnych produktów komórek poddanych hipoksji. Główne produkty białkowe oceniane obecnie retrospektywnie w materiale histopatologicznym i korelowane z wynikiem leczenia to białko HIF-1alfa, CAIX i GLUT-3. Również w tym przypadku pojawiają się rozbieżne doniesienia dotyczące korelacji między endogennymi znacznikami, jak i z metodą mikroelektrody oraz dotyczące wartości prognostycznej endogennych znaczników hipoksji<sup>(42)</sup>. Tak więc z jednej strony predykcyjny charakter pomiaru niedotlenienia jest oczywisty, ale z drugiej strony nie ma walidacji metody, która miałaby wystarczającą czułość i swoistość w wykrywaniu radiobiologicznie istotnego niedotlenienia, dzięki czemu mogłaby służyć stratyfikacji pacjentów do różnych metod leczenia.

### NIESWOISTY WPŁYW PROGNOSTYCZNY HIPOKSJI A JEJ ZNACZENIE PREDYKCYJNE DLA WYNIKU RADIOTERAPII

Poza wpływem na mechanizm działania radioterapii niedotlenienie ma olbrzymi wpływ na biologię nowotworu poprzez indukcję zmian genomowych i proteomicznych<sup>(43)</sup>. Potwierdzają to badania na mikromacierzach i spektroskopach masowych komórek poddanych niedotlenieniu, a także ogólny niezależny od sposobu leczenia negatywny wpływ prognostyczny niedotlenienia<sup>(44,45)</sup>. Niedotlenione komórki mają zwiększoną zdolność do mikronaciekania, przerzutów skokowych i odległych. Wyższe obserwacje dotyczą prawdopodobnie głównie ko-

2. Perez C.A.: Principles and Practice of Radiation Therapy. 4<sup>th</sup> ed. Lippincot, Philadelphia 2003.
3. Horiot J.C., Begg A.C., Le Fur R. i wsp.: Present status of EORTC trials of hyperfractionated and accelerated radiotherapy on head and neck carcinoma. *Recent Results Cancer Res.* 1994; 134: 111.
4. Leibel S.A., Phillips T.L.: Prediction of Radiation Response. *Textbook of Radiation Oncology*. 2<sup>nd</sup> ed. Saunders, Philadelphia 2004.
5. Nordsmark M., Bentzen S.M., Rudat V. i wsp.: Prognostic value of tumour oxygenation in 397 head and neck tumours after primary radiation therapy. *An multi-center study. Radiother. Oncol.* 2005; 77: 18-24.
6. Warters R.L., Hofer K.G., Harris C.R. i wsp.: Radionuclide toxicity in cultured mammalian cells: elucidation of the primary site of radiation damage. *Cur. Top. Radiat. Res. Q* 1977; 12: 389-407.
7. Khan F.: *Physics in Radiation Oncology*. 3<sup>rd</sup> ed. Lippincot, Philadelphia 2003.
8. Steel G.G.: *Basic Clinical Radiobiology*, 3<sup>rd</sup> ed. Arnold, London 2003.
9. Radford I.R.: Evidence for a general relationship between the induced level of DNA double-strand breakage and cell killing after X-irradiation of mammalian cells. *Int. J. Radiat. Biol.* 1986; 49: 611-620.
10. McMillan T.J., Tobi S., Mateos S. i wsp.: The use of DNA double-strand break quantification in radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001; 49: 373.
11. Whitaker S.J., Ung Y.C., McMillan T.J.: DNA double-strand break induction and rejoining as determinants of human tumour cell radiosensitivity. A pulsed field electrophoresis study. *Int. J. Radiat. Biol.* 1995; 67: 7-18.
12. Deschner E.E., Gray L.H.: Influence of oxygen tension on x-ray induced chromosomal damage in Ehrlich ascites tumour cells irradiated in vitro and in vivo. *Radiat. Res.* 1959; 11: 115-149.
13. Michael B.D., Adams G.E., Hewitt H.B. i wsp.: A post-effect of oxygen in irradiated bacteria: a submillisecond fast mixing study. *Radiat. Res.* 1973; 54: 239-251.
14. Prise K.M., Gillies N.E., Michael B.D.: Evidence for a hypoxic fixation reaction leading to the induction of ssb and dsb in irradiated DNA. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998; 74: 53-59.
15. Sprong D., Janssen H.L., Vens C. i wsp.: Resistance of hypoxic cells to ionizing radiation is influenced by homologous recombination status. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2006; 64: 562-572.
16. Elkind M.M., Swain R.W., Alescio T. i wsp.: Oxygen, nitrogen, recovery and radiation therapy. *W. Cellular Radiation Biology*. Williams&Wilkins, Baltimore 1965: 442-461.
17. Henk J.M.: Late results of a trial of hyperbaric oxygen and radiotherapy in head and neck cancer: a rationale for hypoxic cell sensitizers? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1986; 12: 1339-1341.
18. Palcic B., Scarsgard L.D.: Reduced oxygen enhancement ratio at low doses of ionizing radiation. *Radiat. Res.* 1984; 100: 328-339.
19. Scarsgard L.D., Harrison I.: Dose dependance of the oxygen enhancement ratio in radiation inactivation of Chinese hamster V79-171 cells. *Radiat. Res.* 1991; 127: 243-247.
20. Dasu A., Denekamp J.: New insight into factors influencing the clinically relevant oxygen enhancement ratio. *Radiother. Oncol.* 1998; 46: 269-277.
21. Littbrant B.: Survival characteristics of mammalian cell lines after single or multiple exposures to Roentgen radiation under oxic or anoxic conditions. *Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.* 1970; 9: 257-281.
22. Marples B., Joiner M.C., Skov K.A.: The effect of oxygen on low-dose hypersensitivity and increased radioresistance on Chinese hamster V79-379A cells. *Radiat. Res.* 1994; 138: S17-S20.
23. Kirkpatrick J.P., Cardenas-Navia L.I., Dewhirst M.W.: Predicting the effect of temporal variations in PO<sub>2</sub> on tumour radiosensitivity. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004; 59: 822-833.
24. Hockel M., Vaupel P.: Tumour hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J. Natl. Cancer Inst.* 2001; 93: 266-276.
25. Ljungkvist A.S., Bussink J., Kaanders J.H. i wsp.: Hypoxic cell turnover in different solid tumourlines. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005; 62: 1157-1156.
26. Kallman R.F.: The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy. *Radiology* 1972; 105: 135-142.
27. Brurberg K.G., Skogmo H.K., Graff B.A., Olsen D.R., Rofstad E.K.: Fluctuations in pO<sub>2</sub> in poorly and well-oxygenated spontaneous canine tumours before and during fractionated radiation therapy. *Radiother. Oncol.* 2005; 77: 220-226.
28. Horsman M.R., Khalil A.A., Nordsmark M. i wsp.: Relationship between radiobiological hypoxia and direct estimates of tumour oxygenation in a mouse tumour model. *Radiother. Oncol.* 1993; 28: 69-71.
29. Denekamp J., Dasu A.: Inducible repair and the two forms of tumour hypoxia – time for a paradigmshift. *Acta Oncol.* 1999; 38: 903-318.
30. Durand R.E., Sham E.: The lifetime of hypoxic human tumour cells. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998; 42: 711-715.
31. Endlich B., Radford I.R., Forrester H.B. i wsp.: Computerised video time-lapse microscopy studies of ionizing radiation-induced rapid-interphase and mitosis-related apoptosis in lymphoid cells. *Radiat. Res.* 2000; 153: 36-48.
32. Brown J.M., Le Q.T.: Tumour hypoxia is important in radiotherapy, but how should we measure it? *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2002; 54: 1299-1301.
33. Toma-Dasu I., Dasu A., Waites A. i wsp.: Theoretical simulation of oxygen tension measurement in the tissue using a microelectrode: II. Simulated measurements in tissues. *Radiother. Oncol.* 2002; 64: 109-118.
34. Bussink J., Kaanders J.H., Kogel A.J.: Tumour hypoxia at the micro-regional level: clinical relevance and predictive value of exogenous and endogenous hypoxic cell markers. *Radiother. Oncol.* 2003; 67: 3-15.
35. Kallinowski F., Bander R., Hoeckel M. i wsp.: Tumour tissue oxygenation as evaluated by computerized-PO<sub>2</sub>-histography. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1990; 19: 953-961.
36. Hockel M., Knoop C., Schlenger K. i wsp.: Intratumoural pO<sub>2</sub> predicts survival in advanced cancer of the uterine cervix. *Radiother. Oncol.* 1993; 26: 45-50.



37. Toma-Dasu I., Dasu A., Karlsson M.: Conversion of polarographic electrode measurements – a computer-based-approach. *Phys. Med. Biol.* 2005; 50: 4581-4591.
38. Harrison L.B., Chadza M.: Impact of tumour hypoxia and anaemia on radiation therapy outcomes. *The Oncologist* 2002; 7: 492-508.
39. Sorensen M., Horsman M.R., Cumming P. i wsp.: Effect of intratumoural heterogeneity in oxygenation status on FMISO PET, autoradiography, and electrode pO<sub>2</sub> measurements in murine tumours. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005; 62: 854-861.
40. Arteel G.E., Thurman G.R., Yates J.M. i wsp.: Evidence that hypoxia markers detect oxygen gradients in liver: pimonidazole and retrograde perfusion of rat liver. *Br. J. Cancer* 1995; 72: 889-895.
41. Nordmark M., Loncaster J., Chou S.C. i wsp.: Invasive oxygen measurement and pimonidazole labelling in human cervix carcinoma. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2001; 49: 581-586.
42. Vordemark D., Kaffer A.: Characterisation of carbonic anhydrase IX (CAIX) as an endogenous marker of chronic hypoxia in live human tumour cells. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2005; 61: 1197-1207.
43. Dachs G.U., Tozer G.M.: Hypoxia modulated gene expression: angiogenesis, metastasis and therapeutic exploitation. *Eur. J. Cancer* 2000; 36: 1649-1660.
44. Kondo A., Safari R., Mishima M. i wsp.: Hypoxia-induced enrichment and mutagenesis of cells that have lost DNA mismatch repair. *Cancer Res.* 2001; 61: 7603-7607.
45. Hoecel M., Schlenger K., Aral B. i wsp.: Association between tumour hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix. *Cancer Res.* 1996; 56: 4509-4515.
46. Reynolds T.Y., Rockwell S., Glazur P.M.: Genetic instability induced by tumour microenvironment. *Cancer Res.* 1996; 56: 5754-5757.
47. Graeber T.G., Osmanian C., Jacks T. i wsp.: Hypoxia-mediated selection of cells with diminished apoptotic potential in solid tumours. *Nature* 1996; 379: 88-91.
48. Brizel D.M., Scully S.P., Harrelson J.M. i wsp.: Tumour oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma. *Cancer Res.* 1996; 56: 941-943.



#### Skrócona informacja o leku:

Caelyx™ koncentrat do sporządzania roztworu do infuzji. **Skład:** Preparat liposomowy, zawiera chlorowodorek dokсорubicyny zamknięty w liposomach, których powierzchnia pokryta jest metoksypolietylenoglikolem (MPEG) oraz substancje pomocnicze. **Wskazania:** Monoterapia raka piersi z przerzutami u pacjentów ze zwiększonym ryzykiem powikłań ze strony mięśnia sercowego; leczenie zaawansowanego raka jajnika u pacjentek, u których chemioterapia I rzutu związkami platyny zakończyła się niepowodzeniem. **Dawkowanie: Rak piersi lub rak jajnika:** Dożylnie w dawce 50 mg/m<sup>2</sup> pc. co 4 tygodnie do czasu progresji choroby, tak długo jak pacjent toleruje leczenie. **Przeciwwskazania:** Nadwrażliwość na substancję czynną lub na którąkolwiek substancję pomocniczą, karmienie piersią. Bezpieczeństwo i skuteczność u pacjentów w wieku poniżej 18 lat nie zostały określone. **Specjalne ostrzeżenia i środki ostrożności dotyczące stosowania:** Zaleca się, aby wszyscy pacjenci byli rutynowo poddawani częstemu badaniu EKG. Przed rozpoczęciem leczenia preparatem oraz okresowo podczas leczenia powinny być stosowane echokardiograficzny pomiar frakcji wyrzutowej lewej komory serca, lub lepiej arteriografia metodą wielobramkową. Każdorazowo w przypadku podejrzenia kardiomiopatii zaleca się rozważenie wykonania biopsji mięśnia sercowego. Ocena czynności lewej komory jest uznawana za obowiązkową przed każdym dodatkowym podaniem preparatu, które przekracza skumulowaną dawkę 450 mg antracyklin/m<sup>2</sup> pc. w ciągu życia. Należy zachować ostrożność stosując preparat u pacjentów z niewydolnością serca. Należy wykazać ostrożność u pacjentów otrzymujących inne antracykliny. Przed rozpoczęciem leczenia preparatem należy dokonać oceny czynności wątroby stosując standardowe kliniczne testy laboratoryjne. Każdy pacjent otrzymujący dokсорubicynę musi pozostawać pod kontrolą hematologiczną. **Ciąża:** O ile nie jest to absolutnie niezbędne, nie należy stosować preparatu w czasie ciąży. Kobietom w wieku rozrodczym należy zalecić, aby unikały zajścia w ciążę w czasie gdy one lub ich partnerzy są leczeni preparatem oraz przez 6 m-cy po jego zakończeniu. **Działania niepożądane:** Najczęściej obserwowanym w badaniach klinicznych był rumień dłoni i podeszew (Palmar-Plantar Erythrodysesthesia - PPE) -44,0 % - 46,1 %. **Pacjentki z rakiem jajnika:** Działania niepożądane obserwowane u ≥ 5% pacjentów: osłabienie, rumień, zmęczenie, gorączka, słabość, zaburzenia błony śluzowej, bóle, bóle brzucha, anoreksja, zaparcia, biegunka, niestrawność, owrozdzenie ust, zapalenie błony śluzowej, zapalenie jamy ustnej, nudności, wymioty, leukopenia, niedokrwistość, neutropenia, trombocytopenia, zaburzenia czucia, senność, zapalenie gardła, łysienie, suchość skóry, PPE, zmiany pigmentacji, wysypka, odbarwienie skóry. Działania niepożądane obserwowane u 1% – 5% pacjentów: ból głowy, reakcje alergiczne, dreszcze, zakażenia, bóle w klatce piersiowej, bóle pleców, złe samopoczucie, rozszerzenie naczyń, zaburzenia sercowo-naczyniowe, kandydoza jamy ustnej, owrozdzenie jamy ustnej, zapalenie przełyku, nudności i wymioty, zapalenie żołądka, utrudnienie polykania, suchość jamy ustnej, wzdęcia, zapalenie dziąseł, niedokrwistość niedobarwliwa, obrzęki obwodowe, zmniejszenie masy ciała, odwodnienie, wyniszczenie, ból mięśni, zawroty głowy, bezsenność, niepokój, neuropatia, depresja, nadciśnienie, zaburzenia oddychania, narastający kaszel, wysypka pęcherzykowa, świąd, złuszczone zapalenie skóry, zmiany skórne, wysypka grudkowo-plamkowa, potliwość, trądzik, pólpasiec, owrozdzenie skóry, zapalenie spojówek, zaburzenia smaku, zakażenia układu moczowego, bolesne oddawanie moczu i zapalenie pochwy. **Pacjentki z rakiem piersi:** Działania niepożądane obserwowane u ≥ 5% pacjentów: osłabienie, rumień, zmęczenie, gorączka, słabość, zaburzenia błony śluzowej, bóle, bóle brzucha, anoreksja, zaparcia, biegunka, niestrawność, owrozdzenie ust, zapalenie błony śluzowej, zapalenie jamy ustnej, nudności, wymioty, leukopenia, niedokrwistość, neutropenia, trombocytopenia, zaburzenia czucia, senność, zapalenie gardła, łysienie, suchość skóry, PPE, zmiany pigmentacji, wysypka, odbarwienie skóry. Działania niepożądane obserwowane u 1% – 5%: ból piersi, kurcze nóg, obrzęki, obrzęki nóg, neuropatia obwodowa, bóle w obrębie jamy ustnej, arytmia komorowa, zapalenie mieszków włosowych, ból kości, bóle mięśniowo-szkieletowe, trombotyczna opryszka warg pochodzenia nieherpetycznego, zakażenia grzybicze, krwawienie z nosa, zakażenia górnych dróg oddechowych, wykwity pęcherzowe, zapalenie skóry, wysypka rumieniowa, choroby paznokci, tuskowata skóra, łzawienie i niewyraźne widzenie. Częstość klinicznie istotnych odchyłań parametrów laboratoryjnych (stopień III lub IV) w tej grupie była mała i dotyczyła podwyższenia stężenia bilirubiny całkowitej, oraz aktywności AspAT i AlAT. **Wszystkie grupy pacjentów:** reakcje związane z wlewem: reakcje nadwrażliwości, reakcje rzekomoanafilaktyczne, skurcz oskrzeli, skrócony oddech, obrzęk twarzy, owrozdzenie krwi do głowy, niedociśnienie, rozszerzenie naczyń, pokrzywka, ból pleców, ból w klatce piersiowej, ból głowy, dreszcze, gorączka, nadciśnienie, częstoskurcz, niestrawność, nudności, zawroty głowy, zaburzenia oddychania, zapalenie gardła, wysypka, świąd, potliwość, reakcje w miejscu wstrzyknięcia i interakcje z innymi lekami. **Podmiot odpowiedzialny:** SP Europe 73, rue de Stalle, B-1180 Bruksela Belgia. **Pozwolenie EU/1/96/011/001-004.** Przed przepisaniem należy zapoznać się z zatwierdzoną charakterystyką produktu leczniczego.