

Pregledni članek / Review article

**ZDRAVLJENJE NEUROBLASTOMA V SLOVENIJI V OBDOBJU  
2007–2017****TREATMENT OF NEUROBLASTOMA IN SLOVENIA (2007 – 2017)**

M. Česen Mazič

*Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni  
klinični center Ljubljana, Ljubljana, Slovenija***IZVLEČEK**

V prispevku opisujemo najnovejšo razdelitev bolnikov z nevroblastomom in zdravljenje posameznih podskupin. Natančno opisujemo potek in zdravljenje posebne in redke oblike metastatskega nevroblastoma pri dojenčkih. Zdravljenje nevroblastoma z visokim tveganjem za ponovitev bolezni je intenzivno in obsega vse elemente sodobnega specifičnega onkološkega zdravljenja. Dejavno sodelovanje v raziskavi HR NBL 1 je bolnikom v Sloveniji omogočilo dostop do imunoterapije in zdravljenja v skladu z najnovejšimi smernicami.

**Ključne besede: nevroblastom, zasevki, genetika.****ABSTRACT**

The author presents the new classification of neuroblastoma and treatment of the different subgroups. The course and treatment of the rare metastatic subtype of neuroblastoma in infants are presented in detail for two patients. Children with high-risk neuroblastoma are exposed to intensive multimodal therapy. Active participation in the HR NBL 1 study with immunotherapy application is regarded as the standard of care in paediatric oncology worldwide.

**Key words: neuroblastoma, metastases, genetics.**

## UVOD

Nevroblastom je najpogostejši zunajlobanjski solidni tumor pri otrocih in predstavlja 8–10 % rakavih bolezni pri otrocih. Klinični simptomi, znaki in potek bolezni so izjemno heterogeni.

Leta 2009 so objavili nove smernice za opredelitev stadija bolezni pred začetkom zdravljenja (angl. *International Neuroblastoma Risk Group Staging System*, INGRSS) (1), ki temeljijo na:

- bolnikovi starosti (< 12 mesecev ali > 12 mesecev);
- razširjenosti bolezni (lokalizirana bolezen (L) ali bolezen z zasevki – Ms/M);
- prisotnosti dejavnikov tveganja za popolno kirurško odstranitev tumorja na podlagi slikovnih preiskav (L1/L2);
- molekularnobiološki analizi vzorca primarnega tumorja ali zasevka (pomnožitev protoonkogenega MycN, ploidnost, prisotnost numeričnih in/ali strukturnih kromosomskih sprememb);
- histološkem pregledu tumorja.

Bolnike pred začetkom zdravljenja razvrstimo v tri skupine: 1) bolezen z nizkim tveganjem za ponovitev (angl. *low risk*, LR), bolezen s srednjim tveganjem za ponovitev (angl. *intermediate risk*, IR) in bolezen z visokim tveganjem za ponovitev (angl. *high risk*, HR).

Najpomembnejši preskok v klasifikaciji nevroblastoma je posledica novih molekularnobioloških tehnik (npr. angl. *ultra high density single nucleotide polymorphism array*, UHD SNP array), ki omogočajo analizo celotnega genoma tumorske celice (2).

Tehnika fluorescenčne hibridizacije *in situ* (FISH) je ključna za hitro ugotavljanje prognostično in klinično najpomembnejše genetske spremembe – amplifikacije protoonkogenega MycN. Omenjena biološka značilnost je jasno in nedvoumno povezana z večjim tveganjem za ponovitev in napredovanje bolezni (3).

Naprednejša analiza DNK tumorske celice poda celotno informacijo o genetskih spremembah pri posameznem bolniku. Na klinični potek bolezni vplivajo prisotnost za nevroblastom tipičnih in netipičnih strukturnih kromosomskih sprememb, prisotnost številčnih kromosomskih sprememb (število kopij posameznega kromosoma) in ploidnost (število kopij celotnega seta kromosomov). Prisotnost strukturnih sprememb, značilnih za nevroblastom (izguba 1p, 3p, 4p, 11q in pridobitev 1q, 2p, 17q), vpliva na odločitev o intenzivnosti zdravljenja (2). Številčne kromosomske spremembe in skoraj triploiden kariotip sta značilna za metastatsko obliko bolezni pri dojenčkih (Ms), ki se pogosto spontano umakne (4).

Evropska prospektivna randomizirana klinična raziskava za izboljšanje zdravljenja bolnikov z nevroblastomom z nizkim in srednjim tveganjem (angl. *low and intermediate risk neuroblastoma study*, LINES) je vzorčni primer za bodoče raziskave, saj imajo pri klasifikaciji bolnikov ključno vlogo molekularnobiološke značilnosti tumorske celice, opredeljene v referenčnih laboratorijih.

Vmesni izsledki raziskave LINES so potrdili, da lahko bolnike z nevroblastomom z nizkim tveganjem brez strukturnih kromosomskih sprememb varno opazujemo in ukrepamo šele ob morebitnem napredovanju bolezni. Hkrati bolniki z metastatsko boleznijo ali lokalizirano boleznijo > 18 mesecev s strukturnimi kromosomskimi spremembami potrebujejo bolj intenzivno zdravljenje (SIOPEN, A. Canet, ustno poročilo).

## ZDRAVLJENJE METASTATSKEGA (MS) NEVROBLASTOMA

Ms nevroblastom je redka oblika bolezni, ki jo je leta 1971 opisal Evans, in predstavlja 7–10 % vseh bolnikov z nevroblastomom. Gre za bolezen dojenčkov, ki imajo poleg primarnega tumorja lahko

še zasevke v jetrih, koži in kostnem mozgu (5). Glavna značilnost bolnikov je možnost spontanega umika bolezni kljub velikemu bremenu bolezni in v večini odlična napoved izida bolezni s približno 90-odstotnim celokupnim preživetjem (6).

Na našem oddelku smo v zadnjih 10 letih zdravili dva bolnika z Ms nevroblastomom. Prva bolnica je bila novorojenka s tremi primarnimi tumorji (primarni tumor obeh nadledvičnih žlez, tumor posteriornega mediastinuma levo z intraspinalno ekstenzijo in utesnitvijo hrbtenjače) ter z zasevki v jetrih, kostnem mozgu in koži. MycN ni bil pomnožen, natančnejša molekularnobiološka analiza je pokazala prisotnost numeričnih kromosomskih aberacij (angl. *numerical chromosome aberrations*, NCA). Zaradi velikega mediastinalnega tumorja in povečanih jeter so bile ob rojstvu prisotna dihalna stiska in težave s hranjenjem. Nevroloških izpadov ob pritisku na hrbtenjačo kljub več kot 50-odstotni utesnitvi ni imela. Zaradi prisotnosti življenje ogrožajočih dejavnikov smo deklico zdravili s kemoterapijo (VpCarbo), ki je pospešila umik dela tumorja v spinalnem kanalu, obeh tumorjev na nadledvičnih žlezah in jetrnih zasevkov. Kljub tumorju v prsnem košu in zasevkom v podkožju deklica ni potrebovala dihalne podpore in se je lahko ustrezno hranila.

V starosti 6 mesecev je prišlo do pojava novih podkožnih zasevkov in rasti mediastinalnega tumorja. Ponovno diagnosticiranje, vključno z biopsijo tumorja, ni pokazalo novih genetskih sprememb. Zdravljenje s kemoterapijo (CADO) ni bilo učinkovito. Po posvetu s študijsko centralo LINES smo se odločili za opazovanje. Ob rednem spremljanju smo v starosti treh let prepoznali nov solitarni jetrni zasevek. Napredovanje bolezni z jetrnimi zasevki je najpogostejša oblika napredovanja pri bolnikih z Ms nevroblastomom (6.). Deklica so ob kratkem zdravljenju s kemoterapijo (TVD) operativno odstranili tumor v prsnem košu in opravili radiofrekvenčno ablacijo solitarnega jetrnega zasevka. V starosti 4,5 leta ima izključno podkožne zasevke, ki

so edino znamenje bolezni, in Hornerjev sindrom levo po operativnem posegu.

Ms nevroblastom s trilateralnim primarnim tumorjem pri novorojenčku je izredno redka bolezen. Cilj zdravljenja bolezni z ugodnimi biološkimi značilnostmi pri dojenčku je ozdravitev z najmanjšo možno obremenitvijo.

Dvomesčni deček z primarnim tumorjem desne nadlevice žleze in masivno infiltracijo jeter, ki je povzročala zastojno splenomegalijo, ishemijo črevesa in pritisk na prepono, je bil sprejet zaradi bruhanja in težav z dihanjem. S tankoigelno aspiracijsko biopsijo primarnega tumorja smo potrdili diagnozo nevroblastom brez amplifikacije MycN. Deček je bil pred začetkom zdravljenja s kemoterapijo (VpCarbo) zaradi življenje ogrožujočega stanja intubiran in premeščen v enoto intenzivne terapije. Kljub zdravljenju s kemoterapijo so jetrni zasevki napredovali zelo počasno, obdobja nevtropenije pa so spremljale septične epizode zaradi translokacije bakterij iz ishemičnega črevesa. Po drugem ciklu kemoterapije smo se zaradi splošnega slabega stanja odločili za skrajni ukrep – obsevanje jeter z izjemno nizkim odmerkom (4,5 Gy). Kombinirano zdravljenje je bilo izjemno učinkovito – jetrni infiltrati in primarni tumor so se povsem umaknili. Deček je danes star 4 leta in nima nikakršnih poznih posledic zdravljenja.

## ZDRAVLJENJE NEVROBLASTOMA Z VISOKIM TVEGANJEM V SLOVENIJI

Termin nevroblastom z visokim tveganjem (HR) se nanaša v večini primerov na otroke, starejše od 12 mesecev, z razsejano obliko bolezni (M). Ti bolniki predstavljajo približno 40 – 50 % vseh bolnikov z nevroblastomom. Redko gre za bolnike z lokalizirano obliko bolezni (L) s pomnoženim protoonkogenom MycN (3 % vseh bolnikov z nevroblastomom).

V skupino z visokim tveganjem uvrščamo tudi dojenčke z nevroblastomom (stadiji M, Ms, L) s pomnoženim protoonkogenom MycN. Zaradi nezrelosti organov moramo pri bolnikih v tej starostni skupini zdravljenje posebej prilagoditi.

Napoved izida bolezni bolnikov s to obliko nevroblastoma je bila nekoč na splošno slaba, prav tako tudi naša sposobnost, da predvidimo izid bolezni pri posameznem bolniku.

Izsledki prve panevropske odprte multicentrične randomizirane klinične raziskave za izboljšanje zdravljenja nevroblastoma z visokim tveganjem (HR NBL 1, skupine SIOPEX – SIOPEX Europe Neuroblastoma), ki poteka od leta 2002 in se letos zaključuje, so pomembno prispevali k izboljšanju preživetja bolnikov.

Leta 2007 smo v Sloveniji za zdravljenje uvedli protokol HR NBL 1 in pozdravili prvega bolnika s HR nevroblastomom.

Dejavno sodelovanje v raziskavi z vključevanjem in randomizacijo bolnikov poteka od leta 2013. V obdobju 2007–2013 smo po shemi HR NBL 1 zdravili 10 bolnikov, pri čemer je 6 bolnikov več kot 5 let po zaključku zdravljenja ozdravljenih. Čas opazovanja bolnikov, ki so sodelovali v raziskavi, je za oceno preživetja prekratek.

Zdravljenje po shemi HR NBL 1 se začne z intenzivno indukcijsko kemoterapijo, s katero že pred operacijo zmanjšamo primarni tumor in dosežemo remisijo na mestih zasevkov. Sledi operacija primarnega tumorja. Pri bolnikih, ki so zdravljenje v preteklosti zaključili tukaj, se je bolezen ponovila.

S kemoterapijo z visokimi odmerki z avtologno presaditvijo krvotvornih matičnih celic utrdimo doseženo remisijo. Čeprav smo od uvedbe kemoterapije v visokih odmerkih pričakovali veliko, 5-letno preživetje ni preseglo 30 % (7).

Kemoterapiji z visokimi odmerki sledi obsevanje ležišča primarnega tumorja in vzdrževalno zdravljenje s 13-cis retinojsko kislino, ki spodbuja diferenciacijo nevroblastomskih celic, za zdravljenje minimalne rezidualne bolezni. Petletno preživetje bolnikov, zdravljenih po tej shemi, je bilo 40 % (7).

Najpomembnejši del raziskave v Evropi je izdelava specifičnih protiteles proti gangliozidu GD2, ki je prisoten na vseh nevroblastomskih celicah. Imunoterapija s himernimi protitelesi ch14.18/CHO sproži s protitelesi in kompleментом posredovano ubijanje tumorskih celic (ADCC, CDC) in je danes zlati standard zdravljenja HR nevroblastoma.

Protitelesa so prvotno razvili v ZDA. Leta 2009 so objavili preliminarne izsledke raziskave, v kateri so bili bolniki s HR nevroblastomom v vzdrževalnem zdravljenju randomizirani bodisi v standardno skupino, ki je prejela samo 13-cis retinojsko kislino, ali v skupino, ki je dodatno prejela imunoterapijo s specifičnimi protitelesi, GM-CSF (granulocitni monocitni rastni factor) in IL-2 (8.). Dveletno celokupno preživetje in preživetje brez dogodka sta bili v skupini z imunoterapijo statistično značilno višji (preživetje brez dogodka  $46 \pm 5\%$  proti  $66 \pm 5\%$ ,  $p = 0,01$ ; celokupno preživetje  $75 \pm 5\%$  proti  $86 \pm 4\%$ ,  $p = 0,02$ ) (8.). Randomizacija je bila zaradi velike prednosti imunoterapije kljub znatno večjim neželenim učinkom (sindrom povečane kapilarne prepustnosti ob proženju imunskega sistema in bolečine zaradi vezave protiteles na gangliozide živčnih celic s potrebo po intravenskem zdravljenju z morfinom) predčasno zaključena v korist imunoterapije.

V Evropi so učinkovito protitelo (ch14.18/CHO) z možnostjo izdelave v ustreznih količinah in ustrezno stabilnostjo izdelali leta 2005. Leta 2009 je postalo zdravilo dostopno vsem bolnikom z visokotveganim nevroblastomom v raziskavi HR NBL 1 (9.). V letih 2009–2013 so vsi bolniki v vzdrževalnem zdravljenju prejeli 13-cis retinojsko kislino in specifična protitelesa v kratkotrajni infuziji

z dodatkom IL-2 ali brez njega (randomizacija R2). Zaradi večjega števila neželenih učinkov v ročici z IL-2 (sindrom povečane kapilarne prepustnosti ob proženju imunskega sistema in bolečine zaradi ve-zave protiteles na gangliozide živčnih celic s potrebo po intravenskem zdravljenju z morfijem) je bila randomizacija R2 predčasno ukinjena, saj velik del bolnikov v ročici z IL-2 ni prejel predvidenega odmerka protiteles.

Pri bolnikih z relapsom nevroblastoma, ki so prejemali imunoterapijo kot rešilno zdravljenje, so ob dolgotrajni infuziji protiteles potrdili ugodno farmakokinetiko in enako učinkovitost ter hkratno znatno omilitev neželenih učinkov (10). Zmanjšala se je potreba po intravenskih infuzijah morfija, sindrom povečane kapilarne prepustnosti pa je bil obvladljiv brez potrebe po intenzivnem zdravljenju. Leta 2014 sov raziskavi sodelujoči bolniki pričeli prejemati protitelo v dolgotrajni infuziji, kar velja tudi za vse naše vključene bolnike.

V raziskavi sodeluje 24 evropskih držav s skupaj 3236 bolnikov. Poleg imunoterapije so odgovorili na naslednja pomembna vprašanja:

- **Uporaba granulocitnega rastnega faktorja** v indukcijski kemoterapiji zmanjša število epizod febrilne nevtropenije in omogoča časovno predvideno dajanje intenzivne kemoterapije brez daljših premorov (angl. *dose intensity*) (11).
- **Standardna kemoterapija v visokih odmerkih je busulfan-melfalan (BuMel)**. Bolniki, ki jo prejemajo, imajo višje celokupno 5-letno preživetje kot bolniki, ki so v enaki shemi zdravljenja prejeli kemoterapijo v visokih odmerkih v sestavi karboplatin, etopozid, melfalan (60 % proti 48 %). Število neželenih učinkov – razen venookluzivne jetrne bolezni – je bilo v shemi BuMel pomembno nižje (12).
- **Imunoterapija s protitelesi ch14.18** pomembno izboljša celokupno preživetje bolnikov (5-letno celokupno preživetje 63 %, 5-letno preživetje brez dogodka 53 %) (SIOPEN,

R. Ladenstein, ustno poročilo, v pripravi). Čeprav v ZDA protitelo dajejo skupaj z ravnim faktorjem za granulocite in monocite ter interlevkinom 2, so priporočila na podlagi izsledkov evropske raziskave v prid dajanju protitelesa brez dodatka interlevkina 2 (statistično značilnih razlik v celokupnem preživetju ni) (SIOPEN, R. Ladenstein, ustno poročilo).

- Primerjali so tudi **učinkovitost dveh različnih vrst indukcijske kemoterapije**; shema bolnišnice Memorial Sloan Kettering (modified N7) v prvi liniji uporablja antracikline in evropsko shemo (rapid COJEC). Dokazali so, da sta bili obe shemi enako učinkoviti, saj je remisijo bolezni na mestih zasevkov doseglo 80 % bolnikov, pri čemer je imela evropska shema pomembno manj neželenih učinkov (ASCO, ustna predstavitev, publikacija v pripravi).
- Molekularnobiološka analiza vzorcev tumorjev je omogočila bolj natančno razvrstitev bolnikov znotraj navidezno homogene skupine. Eno ključnih spoznanj raziskave je, da je pri bolnikih z **metastatsko obliko nevroblastoma, starih 12–18 mesecev, brez amplifikacije MycN in SCA** napoved izida bolezni zelo dobra, zato zdravljenje obsega izključno indukcijsko kemoterapijo in operacijo.

Slovenija je z dejavnim sodelovanjem v raziskavi bolnikom omogočila dostop do imunoterapije. V Sloveniji za nevroblastomom z visokim tveganjem zbolita 1–2 otroka letno. V obdobju štirih let smo v raziskavo vključili 6 bolnikov, pet bolnikov v starosti 1,5–5 let, kar je najpogostejša starostna skupina. Vključili smo tudi dojenčka, ki je bil ob postavitvi diagnoze star 3 mesece, kar je velik izziv za visokointenzivno specifično onkološko zdravljenje. Zdravljenje smo v celoti – vključno z zbiranjem perifernih krvotvornih matičnih celic in avtologno presaditvijo s kemoterapijo v visokih odmerkih – izpeljali na Pediatrični kliniki. Bolnike smo v poteku zdravljenja randomizirali dvakrat (indukcijska kemoterapija in imunoterapija), v randomizacijo pa so privolili vsi starši. Ne glede na izbrano terapev-

tsko ročico noben bolnik ni utrpel trajnih življenjsko ogrožajočih posledic. Bolniki, ki so bili randomizirani v skupino imunoterapija s protitelesi in interleukinom 2, so ob pojavu neobvladljivega sindroma povečane kapilane prepustnosti brez intenzivnega zdravljenja zdravljenje zaključili le s protitelesi v polnem odmerku.

Dodatno smo bolnike ob diagnosticiranju obremenili z bolj invazivnimi postopki (debeloigelnna ali odprta biopsija tumorja) in prispevali biološki material za analize, ki bodo omogočale boljše razumevanje biologije bolezni in natančnejšo opredelitev napovedi izida bolezni pri posameznih bolnikih v okviru skupine z visokim tveganjem. Dodatnih zapletov ob tem nismo zaznali. Vsi omenjeni postopki so standardni operativni postopki ob diagnosticiranju in oceni razširjenosti bolezni pred zdravljenjem in med zdravljenjem v vključenih državah.

## ZAKLJUČEK

Zdravljenje otrok z nevroblastomom je tudi danes velik izziv. Sodelovanje v velikih multicentričnih raziskavah bolnikom omogoča dostop do standardnega in s tem najboljšega možnega specifičnega onkološkega zdravljenja. Dejavnost udeležba v raziskavah glavnemu raziskovalcu omogoči, da tesno sodeluje z največjimi strokovnjaki s tega področja, se nepretrgano izobražuje in sproti seznanja z aktualnih spoznanji, pridobljenimi med potekom raziskave. To je pogosto v izjemno pomoč pri zahtevnem odločanju o zdravljenju pri posameznih bolnikih.

## LITERATURA

1. Monclair T, Brodeur GM, Ambros PF, Brisse HJ, Cecchetto G, Holmes K et al. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) staging system: an INRG Task Force report. *J Clin Oncol* 2009; 27(2): 298–303.
2. Ambros IM, Brunner C, Abbasi R, Frech C, Ambros PF. Ultra-High Density SNParray in Neuroblastoma Molecular Diagnostics. *Frontiers in Oncology* 2014; 4: 202.
3. Rubie H, Hartmann O, Michon J, Frappaz D, Coze C, Chastagner P et al. N-Myc gene amplification is a major prognostic factor in localized neuroblastoma: results of the French NBL 90 study. Neuroblastoma Study Group of the Société Française d'Oncologie Pédiatrique. *J Clin Oncol* 1997; 15(3): 1171–82.
4. Schleiermacher G, Michon J, Huon I, d'Enghien CD, Kljanić J, Brisse H et al. Chromosomal CGH identifies patients with a higher risk of relapse in neuroblastoma without MYCN amplification. *Br J Cancer* 2007; 97(2): 238–46.
5. Brodeur GM, Pritchard J, Berthold F, Carlsen NL, Castel V, Castelberry RP et al. Revisions of the international criteria for neuroblastoma diagnosis, staging, and response to treatment. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1466–1477.
6. Schleiermacher G, Rubie H, Hartmann O, Bergeron C, Chastagner P, Mechinaud F et al. Treatment of stage 4s neuroblastoma – report of 10 years' experience of the French Society of Paediatric Oncology (SFOP). *Br J Cancer* 2003; 89(3): 470–476.
7. Ladenstein R., Potscheger U, Hartmann O, Pearson AD, Klingebiel T, Castel V et al. 28 years of high-dose therapy and SCT for neuroblastoma in Europe: lessons from more than 4000 procedures. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41(2): 1–10.
8. Yu AL., Gilman AL, Ozkaynak MF, London WB, Kreissman SG, Chen HX et al. Anti-GD2 antibody with GM-CSF, interleukin-2, and isotretinoin for neuroblastoma. *N Engl J Med* 2010; 363(14): 1324–34.
9. Seeger RC. Immunology and Immunotherapy of Neuroblastoma. *Semin Cancer Biol* 2011; 21(4): 229–237.
10. Lode HN, Valteau-Couanet D, Troschke-Meurer S, Manzitti C, Gray J, Castel V et al. SI-

- OPEN group Phase II clinical trial with long-term infusion of anti-GD<sub>2</sub> antibody ch14.18/CHO in combination with interleukin-2 (IL2) in patients with high risk neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2016; 34:15.
11. Ladenstein R, Valteau-Couanet D, Brock P, Yaniv I, Castel V, Laureys G et al. Randomized Trial of prophylactic granulocyte colony-stimulating factor during rapid COJEC induction in pediatric patients with high-risk neuroblastoma: the European HR-NBL1/SIOPEN study. *J Clin Oncol* 2010; 28(21): 3516–24.
  12. Ladenstein RL, Poetschger U, Luksch R, Brock P, Castel V, Yaniv I et al. Busulphan-melphalan as a myeloablative therapy (MAT) for high-risk neuroblastoma: Results from the HR-NBL1/SIOPEN trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 18.

**Kontaktna oseba / Contact person:**

Maja Česen Mazić, dr. med.

Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo

Pediatrična klinika

Univerzitetni klinični center Ljubljana

Bohoričeva 20

SI-1000 Ljubljana

Slovenija

E-pošta: maja.cesen@kclj.si

**Prispelo/Received: 24. 4. 2018**

**Sprejeto/Accepted: 13. 8. 2018**