

Małgorzata Klonowicz<sup>1</sup>, Michał Spych<sup>2</sup>, Jacek Fijuth<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Teleradioterapii, Regionalny Ośrodek Onkologiczny w Łodzi

<sup>2</sup>Zakład Radioterapii Katedry Onkologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

# Pooperacyjna radiochemioterapia — nowy standard w leczeniu glejaka wielopostaciowego?

Postoperative radio-chemotherapy — a new standard in treatment for glioblastoma?

## Adres do korespondencji:

lek. Małgorzata Klonowicz  
 Zakład Teleradioterapii, Regionalny  
 Ośrodek Onkologiczny w Łodzi  
 ul. Paderewskiego 4, 93-509 Łódź  
 tel.: (042) 689 55 51, faks: (042) 689 55 52  
 e-mail: spychmichal@o2.pl

## STRESZCZENIE

U chorych na glejaka wielopostaciowego po leczeniu operacyjnym i radioterapii w wysokiej dawce mediana przeżycia jest krótsza niż rok. Obiecujące perspektywy w leczeniu tych pacjentów stwarza wieloośrodkowe badanie III fazy z jednoczesnym zastosowaniem pooperacyjnej radiochemioterapii z użyciem temozolomidu. Jest to alkilujący lek podawany doustnie, który ma zdolność przenikania bariery krew–mózg. W przypadku tego cytostatyku alkilacja polega na dołączaniu do DNA grup alkilowych (w tym metylowych) i dotyczy najczęściej guaniny. Enzym naprawiający DNA — metylotransferaza O<sup>6</sup> metyloguaniny (MGMT) — usuwa grupę metylową ze zmetylowanej guaniny i tym samym może hamować śmierć komórek wywołaną przez lek alkilujący. Metylacja promotora genu MGMT uniemożliwia transkrypcję, czyli zahamowanie produkcji MGMT, co może skutkować brakiem naprawy DNA zalkilowanego lekiem, a tym samym jego większą skutecznością i dłuższym przeżyciem chorych na glejaka.

**Słowa kluczowe:** glejak wielopostaciowy, radioterapia, temozolomid, MGMT

## ABSTRACT

A median survival in patients with glioblastoma multiforme after surgical resection and high dose radiation therapy is less than 1 year. Promising prospects in treatment these patients create phase III multicenter trials with concomitant usage of postoperative radiochemotherapy with temozolomid. This is an orally administered alkylating agent, that is able to cross the blood-brain barrier. In this agent case alkylation is the transfer of an alkyl group (in this particular case — methyl group) to the DNA and it usually concern a guanine as a target. The DNA-repair enzyme — O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) removes a methyl group from methylated guanine and that way possibly inhibits the killing of tumor cells by alkylating agents. Methylation of the MGMT's promoter makes impossible to proceed with transcription, and the same inhibits producing of MGMT. It may results in lack of DNA repair which is alkylated by agent and the same may be associated with longer survival in patients with glioblastoma.

**Key words:** glioblastoma multiforme, radiation therapy, temozolomid, MGMT

Onkologia w Praktyce Klinicznej  
 Tom 3, nr 1, 28–31  
 Copyright © 2007 Via Medica  
 ISSN 1734-3542  
 www.opk.viamedica.pl

Pierwotne nowotwory mózgu stanowią 2% wszystkich nowotworów złośliwych u dorosłych, a 50–60% z nich to glejaki pochodzenia astrocytarnego. Mimo że nowotwory te są względnie rzadkie, stanowią istotny problem kliniczny, ponieważ ich naciekający wzrost, agresywny przebieg i progresja złośliwości powodują, że wyniki leczenia są złe [1].

Według aktualnie obowiązującej klasyfikacji Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) wyróżnia się 3 stopnie złośliwości glejaków szerzących się w sposób rozlany (G2–4). Najbardziej złośliwy w tej grupie pierwotnych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego — zarówno pod względem obrazu histopatologicznego, jak i oczekiwanego okresu przeżycia

— glejak wielopostaciowy (G4) występuje z częstością 2–4 przypadków na 100 000 ludności. Zachorowalność rośnie z wiekiem, osiągając szczyt w populacji w 6–8 dekadzie życia. Średnie przeżycie chorych leczonych wynosi 9–12 miesięcy i jest krótsze w starszych grupach wiekowych.

Wyróżnia się postać pierwotną glejaka wielopostaciowego, który tworzy się *de novo*, oraz postać wtórną rozwijającą się na podłożu glejaka o niższej złośliwości. Pierwotny glejak wielopostaciowy występuje najczęściej u osób po 55 roku życia, a czas rozwoju objawów klinicznych jest krótki. Typowa postać wtórna dotyczy młodszych osób — poniżej 45 roku życia, a czas, w jakim dochodzi do progresji złośliwości, może wynosić 1–10 lat (średnio 4–5 lat) [2].

Mimo że obraz histopatologiczny obydwu tych postaci jest taki sam, udowodniono, że dwa opisane podtypy glejaka wielopostaciowego różnią się nie tylko profilem epidemiologicznym, ale także molekularnym. W pierwotnych glejakach wielopostaciowych stwierdza się takie zmiany molekularne, jak: amplifikacja receptora nabłonkowego czynnika wzrostu, delecja genu supresorowego p16, kontrolującego wzrost komórek przez inhibicję kinaz CDK4 i CDK6, oraz delecja genu supresorowego PTEN na chromosomie 10. Wtórny glejak wielopostaciowy cechują mutacja genu białka p53 oraz nadekspresja receptora czynnika płytkowego, co odpowiada za zaburzenia obserwowane w glejakach rozlanych G2 [3, 4].

Podstawowym sposobem leczenia chorych na złośliwe nowotwory śródczaszkowe jest zabieg operacyjny z następową uzupełniającą radioterapią. Wykonanie bezpiecznej resekcji, czyli usunięcie jak największej masy guza bez uszkodzenia ważnych czynnościowo struktur, niweluje objawy choroby, poprawia jakość życia pacjenta i umożliwia pozyskanie materiału do badania histopatologicznego. Całkowite usunięcie guza jest w większości przypadków niemożliwe ze względu na jego wybitnie naciekający wzrost, chociaż zakres resekcji guza jest czynnikiem wpływającym na czas życia chorych.

Celem uzupełniającej radioterapii jest zniszczenie komórek nowotworowych pozostałych po zabiegu operacyjnym. We wczesnych badaniach nad rolą radioterapii w leczeniu glejaków udowodniono jej skuteczność. Radioterapia przedłuża i poprawia jakość życia chorych. Taktyka leczenia promieniami powinna uwzględnić poznane czynniki prognostyczne, takie jak: wiek, obraz histopatologiczny, stan ogólny i stan neurologiczny, czas trwania objawów przed operacją, zakres zabiegu operacyjnego. Młodych chorych w dobrym stanie ogólnym kwalifikuje się do napromieniania radykalnego techniką konformalną, dawką 60 Gy we frakcjach po 2,0 Gy. Obszar napromieniania obejmuje łożę guza z marginesem 2–3 cm. U tych chorych po uzyskaniu regresji procesu można zastosować metody radiochirurgiczne. Pa-

cjenci starsi w gorszym stanie ogólnym są napromieniani w przyspieszony sposób według różnych sposobów frakcjonowania dawki [5, 6].

Rolę leczenia chemicznego określono w kilku randomizowanych badaniach klinicznych. Oceniano efekt leczenia według różnych schematów dawkowania cytostatyków w skojarzeniu z napromienianiem. W żadnym z badań III fazy, oceniających skuteczność chemioterapii opartej na pochodnych nitrozomocznika, nie wykazano znamiennej poprawy przeżyć odległych w porównaniu z samodzielną radioterapią [7, 8].

Wprowadzony przed kilku laty temozolomid okazał się skuteczny w leczeniu chorych na glejaka wielopostaciowego. W wieloośrodkowych badaniach II i III fazy udowodniono, że połączenie radioterapii z leczeniem układowym temozolomidem znamienne wydłuża czas przeżycia chorych z nowo rozpoznanymi glejakami wielopostaciowymi [8]. Temozolomid, zaliczany do grupy leków alkilujących, w warunkach fizjologicznych ulega szybkiej przemianie do aktywnego metabolitu MTIC (monometylotriasenoimidazolokarboksamidu). Cytotoksyczność MTIC wynika przede wszystkim z alkilacji O<sup>6</sup> guaniny.

W przypadku temozolomidu alkilacja polega na dołączeniu do łańcucha DNA grupy metylowej (metylacji) i dotyczy przede wszystkim guaniny.

Metylacja genów jest nie tylko wynikiem stosowania leków. Szacuje się, że około 1% ludzkiego DNA jest zmetylowane i taka „fizjologiczna” metylacja obejmuje przede wszystkim cytozynę (5-metylocytozyna) w obrębie powtarzalnego dwunukleotydu CpG (wyspy CpG), i to w obrębie „śmieciovych” fragmentów niekodujących.

Wyspy CpG występują dość licznie w rejonach 5' genów — czyli w rejonach promotorowych — tych, które rozpoczynają i umożliwiają transkrypcję genów. Rejony promotorowe są zazwyczaj niemetylowane. Warto jednak zwrócić uwagę, że metylacja promotora powoduje niemożność rozpoczęcia transkrypcji i produkcji białka, co wyłącza (wycisza) gen. Taka sytuacja może mieć miejsce w przypadkach stosowania leków alkilujących, ale nie tylko. Występuje także w warunkach fizjologicznych, odpowiadając za wyłączenie jednego z chromosomów X u kobiet lub za mechanizm imprintingu (aktywny jest gen tylko od jednego z rodziców, natomiast drugi jest „uśpiony”).

Leki alkilujące powodują między innymi hipermetylację genów skutkującą wyłączeniem wielu funkcji komórki, co prowadzi do jej śmierci. Jednak istnieją mechanizmy naprawy zmetylowanego DNA, polegające na „wycinaniu” grup metylowych przez specjalne enzymy. Jednym z nich jest metylotransferaza O<sup>6</sup>-metyloguaniny (MGMT). Stwierdzono, że chorzy na glejaka wielopostaciowego leczeni temozolomidem cechowali się dłuższymi okresami przeżycia, jeśli stwierdzano u nich hi-

permetylację regionu promotorowego MGMT, co można tłumaczyć brakiem naprawy uszkodzeń spowodowanych terapią i jego większą cytotoksycznością.

Gen MGMT jest zlokalizowany na chromosomie 10q26 i koduje białko naprawcze DNA, usuwając grupy alkilowe z pozycji O<sup>6</sup> guaniny, miejsca alkilacji DNA. Naprawa DNA prowadzi do zużycia enzymu MGMT, który jest uzupełniany. Brak enzymu spowodowany metylacją jego promotora powoduje nienaprawianie obszarów DNA uszkodzonych czynnikiem alkilującym, czego efektem jest działanie cytotoksyczne i apoptoza komórek [9, 10]. Wysoka aktywność enzymu MGMT w komórkach nowotworowych tworzy fenotyp oporny na leczenie środkami alkilującymi i determinuje niepowodzenie terapii. „Wyciszenie” aktywności genu MGMT przez metylację jego promotora wiąże się z utratą ekspresji MGMT i ze zmniejszeniem aktywności procesów naprawczych DNA. Zachęcające wyniki II fazy stworzyły warunki realizacji badania III fazy, zaplanowanego przez Europejską Organizację Badań Naukowych i Leczenia Nowotworów (EORTC, *European Organization for Research into the Treatment of Cancer*) i Narodowy Instytut Raka w Kanadzie (NCIC, *National Cancer Institute of Canada*). W badaniu przeprowadzonym w grupie 573 chorych Stupp i wsp. porównali skuteczność jednoczesnej radiochemioterapii opartej na temozolomidzie z uzupełniającym leczeniem tym cytostatykiem. Głównym celem badania była ocena ogólnego przeżycia. Do badania włączono chorych w wieku 18–70 lat (średnia 56) z nowo rozpoznany glejakiem wielopostaciowym. Pacjentów podzielono losowo na dwie grupy. Chorych z badanej grupy leczono jednocześnie napromienianiem i temozolomidem, a w grupie kontrolnej stosowano tylko napromienianie. Chorych w obu grupach napromieniano techniką konformalną na obszar guza z marginesem 2–3 cm, fotonami o energii 6 MV lub większej. Dawka całkowita wynosiła 60 Gy we frakcjach po 2,0 Gy. Temozolomid podawano w dawce 75 mg/m<sup>2</sup> codziennie od pierwszego do ostatniego dnia radioterapii. Po 4 ty-

godniach przerwy chorzy otrzymywali 6 kursów leczenia uzupełniającego, 150–200 mg/m<sup>2</sup> temozolomidu przez 5 dni co 28 dni. Mediana wydłużenia czasu przeżycia wyniosła 2,5 miesiąca, średni czas chorych w grupie leczonych w sposób skojarzony wyniósł 14,6 miesiąca, a w grupie kontrolnej 12,1 miesiąca. Odsetki przeżyć 2-letnich w obu grupach wynosiły odpowiednio 26,5% i 10,4%. Wydłużenie średniego czasu przeżycia o 2,5 miesiąca odpowiada względnemu zmniejszeniu ryzyka zgonu o 37% [11]. Hegi i wsp. [12] opisują korelację między „wyciszeniem” aktywności genu MGMT przez metylację jego promotora a dłuższym przeżyciem chorych na nowo rozpoznany glejaka wielopostaciowego i poddanych skojarzonej radiochemioterapii. Analizowana grupa to chorzy uczestniczący w badaniu klinicznym III fazy, zaplanowanym przez EORTC i NCIC, przydzieleni do grup i leczeni we wcześniej opisany sposób. Spośród 573 preparatów w 307 przypadkach udało się przeprowadzić reakcję polimerazy łańcuchowej PCR (53,6%), z czego w 206 przypadkach można było określić status metylacji promotora genu MGMT (mpgMGMT). Opisana grupa 206 osób była reprezentatywna dla całej populacji chorych uczestniczących w badaniu i stanowiła jej 36%. W analizowanej grupie w 45% przypadków odnotowano mpgMGMT, której obecność okazała się niezależnym czynnikiem prognostycznym dłuższego okresu przeżycia ( $p < 0,001$ ). W grupie chorych, u których wykazano mpgMGMT, i poddanych skojarzonej radiochemioterapii odsetek przeżyć 2-letnich wynosił 46% w porównaniu z 14% w grupie chorych leczonych tylko napromienianiem. Mediany przeżycia wynosiły w obu grupach odpowiednio 21,7 i 15,3 miesiąca ( $p = 0,007$ ). W przypadku braku detekcji mpgMGMT różnice przeżyć w obu grupach były mniejsze i nieznamiennie statystycznie. Mediany przeżycia w grupie chorych leczonych w sposób skojarzony i przy użyciu tylko napromieniania wynosiły odpowiednio 11,8 i 12,7 miesiąca [12]. Zestawienie wyników badań Stuppa i Hegi przedstawiono w tabeli 1.

**Tabela 1. Zestawienie wyników prac Stuppa i Hegi**

**Table 1. Stupp and Hegi studies' data specification**

		Radioterapia + temozolomid	Radioterapia	
Stupp i wsp. [11]	Mediana czasu przeżycia	14,6 miesiąca	12,1 miesiąca	
	Odsetek przeżyć 2-letnich	26,50%	10%	
Hegi i wsp. [12]	Metylacja MGMT	Mediana czasu przeżycia	15,3 miesiąca	
		Odsetek przeżyć 2-letnich	23%	
	Brak metylacji MGMT	Mediana czasu przeżycia	11,8 miesiąca	12,7 miesiąca
		Odsetek przeżyć 2-letnich	< 2%	1,4%

Przedłużona ekspozycja komórek nowotworowych na temozolomid prowadzi do ciągłej dezaktywacji MGMT, którego stężenie musi być stale uzupełniane na drodze syntezy *de novo*. W obecnie obowiązującym schemacie dawkowania temozolomidu w ciągu 3-tygodniowej przerwy pomiędzy kolejnymi cyklami może dochodzić do uzupełnienia stężenia MGMT i odzyskania potencjału naprawczego komórki na lek [13]. Obecnie przedłużone podawanie leku testuje się w celu sprawdzenia hipotezy zakładającej, że im głębsza jest redukcja aktywności (wyciszenie) MGMT, tym większa efektywność i dłuższy czas przeżycia chorych. W badaniu RTOG 0525 planuje się porównanie czasu ogólnego przeżycia w 2 schematach dawkowania temozolomidu. Po leczeniu skojarzonym (temozolomid + radioterapia) chorych przydziela się do 2 grup: w pierwszej grupie podaje się temozolomid dawkowany w sposób standardowy, w drugiej grupie stosuje się lek w schemacie przedłużonym — przez 21 kolejnych dni co 4 tygodnie. W badaniach I fazy potwierdza się słuszność tej teorii [14].

Coraz ważniejszy okazuje się wgląd w molekularne podłoże powstawania i progresji glejaków złośliwych. Opisane doniesienia wyznaczają nowe cele dla terapii glejaków i ustalenia ich klasyfikacji na podstawie ich biologii. Zidentyfikowany gen MGMT i detekcja metylacji jego promotora umożliwiają prognozowanie wyników leczenia, a tym samym dobieranie chorych do metody terapii, która stwarza największe prawdopodobieństwo wyleczenia. Temozolomid został zarejestrowany do skojarzonego z radioterapią leczenia I rzutu chorych z nowo rozpoznanym glejakiem wielopostaciowym mózgu w marcu 2005 roku w Stanach Zjednoczonych, a w czerwcu 2005 roku na terenie Unii Europejskiej.

## Piśmiennictwo

1. DeAngelis L.M. Medical progress: brain tumors. *N. Engl. J. Med.* 2001; 344: 114–123.
2. Kleihues P., Louis D.N., Scheithauer B.W. i wsp. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2002; 61: 215–225.
3. Cairncross J.G., Ueki K., Zlatescu M.C. i wsp. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 1998; 90: 1473–1479.
4. Smith J.S., Perry A., Borell T.J. i wsp. Alteration of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J. Clin. Oncol.* 2000; 18: 636–645.
5. Fijuth J., Krzakowski M. Nowotwory złośliwe ośrodkowego układu nerwowego. W: Krzakowski M. (red.). Tom II. Wyd. I. Wydawnictwo Medyczne Borgis, Warszawa, 2001; 66–87.
6. Scott C.B., Scarantino C., Urtasun R. i wsp. Validation and predictive power of Radiation Therapy Group (RTOG) recursive partitioning analysis classes for malignant gliomas patients: a report using RTOG 90–06. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998; 40: 51–55.
7. Medical Research Council Brain Tumor Working Party: randomized trial of procarbazine, lomustine and vincristine in the adjuvant treatment of high-grade astrocytoma: a Medical Research Council Trial. *J. Clin. Oncol.* 2001; 19: 509–518.
8. Gliński B., Ząbek M., Urbański J. Glejak wielopostaciowy: impas czy postęp w pooperacyjnym leczeniu adiuwantowym. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2006; 2: 59–53.
9. Newlands E.S., Stevens M.F.G., Wedge S.R., Wheelhouse R.T., Brock C. Temozolomide: a review of its discovery, chemical properties, preclinical development and clinical trials. *Cancer Treat. Rev.* 1997; 23: 35–61.
10. Stupp R., Gander M., Leyvraz S. i wsp. Current and future developments in the use of temozolomide in the treatment of brain tumors. *Lancet Oncol.* 2001; 2: 552–560.
11. Stupp R., Manson W.P., van den Bent M.J. i wsp. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 987–996.
12. Hegi M.E., Diserens A.C., Gorlia T. i wsp. MGMT gen silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 997–1003.
13. Tolcher A.W., Gerson S.L., Denis L. i wsp. Marked inactivation of O<sup>6</sup>-alkylguanine-DNA alkyltransferase activity with protracted temozolomide schedules. *Br. J. Cancer* 2003; 88: 1004–1011.
14. Brock C.S., Newlands E.S., Wedge S.R. i wsp. Phase I trial of temozolomide using an extended continuous oral schedule. *Cancer Res.* 1998; 58: 4363–4367.