Vliv velikosti nádorové masy a stavu p16 na léčebné výsledky – dosažení kompletní remise u prospektivně sledovaných pacientů s nádory orofaryngu

Effect of Tumor Size and p16 Status on Treatment Outcomes – Achievement of Complete Remission in Prospectively Followed Patients with Oropharyngeal Tumors

Slávik M.[1], Kazda T.[1], Selingerová I.[2], Šána J.[3], Ahmad P.[3], Gurín D.[4], Hermanová M.[4], Novotný T.[1], Červená R.[1], Dymáčková R.[1], Burkoň P.[1], Slabý O.[3], Šlampa P.[1]

[1] Klinika radiační onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno
[2] RECAMO – Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno
3 CEITEC – Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno
[4] I. patologicko-anatomický ústav, LF MU a FN u sv. Anny v Brně

Souhrn

Východiska: Orofaryngeální spinocelulární karcinomy asociované s infekcí lidským papilomavirem (p16 pozitivní tumory) jsou navzdory často pokročilejšímu stadiu onemocnění spojeny s lepší prognózou. Objem nádorové masy (gross tumor volume – tumor + nodes – GTVt+n) je důležitým faktorem ovlivňujícím výsledky léčby ionizujícím zářením. Cílem této prospektivní nerandomizované studie je zhodnotit vliv velikosti nádorové masy na léčebnou odpověď ve skupině pacientů s p16 negativními a p16 pozitivními nádory orofaryngu. ***Soubor pacientů:*** Pacienti s nově diagnostikovanými karcinomy orofaryngu stadia III a IV. Hlavními vylučujícími kritérii byl paliativní záměr léčby nebo podání neoadjuvantní chemoterapie či terapie cetuximabem. Objem primárního tumoru (gross tumor volume – tumor – GTVt) a postižených uzlin (gross tumor volume – nodes – GTVn) byl odečten v plánovacím systému pro radioterapii pro následné statistické testování rozdílů velikosti nádorové masy s posouzením dosažení kompletní remise (complete remission – CR) onemocnění v obou skupinách (dle p16). ***Výsledky:*** Celkem 49 pacientů (84 % muži, medián věku 60,5 roku, 25 (51 %) pacientů p16 pozitivních). Medián GTVt v celém souboru je 40,2 cm^3, GTVn 11,78 cm^3 a medián GTVt+n 70,21 cm^3. Objem GTVn byl větší u p16 pozitivní skupiny pacientů ($p = 0,041$). Medián doby do dosažení CR od konce radioterapie byl v celém souboru 91 dní. Ve skupině p16 negativních pacientů dosáhlo CR 14 (61 %) z celkem 23 pacientů, v p16 pozitivní skupině 20 (80 %) z 25 pacientů ($p = 0,111$). P16 negativní pacienti měli delší dobu do dosažení CR ($p = 0,196$; HR = 1,58; 95% CI 0,79–3,18). U p16 pozitivní kohorty neměl na dosažení CR vliv ani jeden ze samostatně hodnocených objemových parametrů tumoru, tedy GTVt, GTVn ani GTVt+n, zatímco u p16 negativní kohorty byl celkový GTVt+n významným faktorem na dosažení CR (medián 58,1 cm^3 u pacientů s CR vs. 101,9 cm^3; $p = 0,018$). ***Závěr:*** Popsali jsme menší závislost GTVt+n u p16 pozitivních tumorů na dosažení CR než u p16 negativních tumorů. U p16 pozitivních nádorů orofaryngu nelze automaticky na základě pouhého GTVt+n ustoupit od kurativního záměru léčby.

Klíčová slova

nádory orofaryngu – p16 status – léčebné výsledky – velikost tumoru – kompletní remise

Práce byla vypracována s grantovou podporou Ministerstva zdravotnictví České republiky, grant č. 15-31627A. Tato práce byla částečně podpořena Ministerstvem zdravotnictví České republiky – Koncepční rozvoj výzkumné organizace (MMCI 00209805).

This work was supported by grant of the Ministry of Health of the Czech Republic AZV 15-31627A and by grant of the Ministry of Health of the Czech Republic – Conceptual development of a research organization (MMCI 00209805).

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

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

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

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

MUDr. Tomáš Kazda, Ph.D.
Klinika radiační onkologie
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno
e-mail: tomas.kazda@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 2. 11. 2018
Přijato/Accepted: 11. 11. 2018

doi: 10.14735/amko201958

Summary

Background: Oropharyngeal squamous cell tumors associated with human papillomavirus infection (p16 positive tumors) have better prognosis than p16 negative tumors regardless of the more advanced stage of the disease. Tumor volume (GTVt+n) is generally an important factor affecting treatment results of ionizing radiation. The aim of this prospective non-randomized study is to evaluate the effect of tumor volume on the (chemo)radiation treatment results in a group of patients with p16 negative and p16 positive oropharyngeal tumors. ***Patients and Methods:*** Patients with confirmed squamous cell tumor of the oropharynx of stages III and IV, according to the 7th version of the TNM (tumor–nodes–metastases) classification, were eligible for this study. The main exclusion criteria were palliative treatment, neoadjuvant chemotherapy or planned concomitant therapy with cetuximab. Patients were treated according to standardized protocols with curative intent. Primary tumor volume (GTVt) and involved nodes volume (GTVn) were obtained from radiotherapy planning system for further statistical analysis. The differences in tumor volumes between the groups according to p16 expression were assessed with subsequent testing of probability to achieve complete remission (CR) of the disease in both groups. ***Results:*** In total, 49 patients – 84% men, median age 60.5 years, 25 (51%) patients p16 positive, 40 (82%) underwent concomitant chemoradiotherapy. Median of GTVt in the whole patients group is 40.2 ccm, GTVn 11.78 ccm and median volume of the whole tumor burden (GTVt+n) 70.21 ccm (range 11.05–249). Median of GTVn was greater in the p16 positive cohort ($p = 0.041$). In the entire group, the median time to reach CR was 91 days (95% CI 86–107 days) from the end of radiotherapy. In the group of p16 negative patients, 14 achieved CR (61%) out of 23 patients, in p16 positive group 20 (80%) out of 25 patients ($p = 0.111$). P16 negative patients had a longer time to CR ($p = 0.196$, HR 1.58, 95% CI 0.79–3.18). None of the independently assessed volumetric parameters of the tumor (GTVt, GTVn, GTVt+n) affected CR in the p16 positive patients group, while there was a significant impact of the whole tumor burden (GTVt+n) in the p16 negative cohort (median 58.1 ccm in CR patients vs. 101.9 ccm, $p = 0.018$). ***Conclusion:*** We have showed less GTVt+n dependence to achieve CR in p16 positive tumors in comparison with p16 negative tumors. Thus, p16 positive oropharyngeal squamous cell cancers should not be withdrawn from the curative treatment intent based on the greater GTVt+n.

Key words

oropharyngeal neoplasms – p16 status – treatment outcome – tumor burden – complete remission

Úvod

Nádory orofaryngu jsou v řadě případů i přes pokročilý lokální nález léčeny s kurativním záměrem. V poslední době významně stoupá incidence orofaryngeálních spinocelulárních karcinomů asociovaných s infekcí lidským papilomavirem (human papillomavirus – HPV) [1]. Oproti „klasickému" typu s prokázanou etiologií spojenou s konzumací alkoholu a kouřením cigaret jsou tyto nádory typické pro mladší, relativně zdravé lidi a jejich vyšší incidence nejspíše souvisí se změnou sexuálního chování [1,2].

HPV infekce je pozorována u přibližně 20 % všech nádorů hlavy a krku a u více než 60 % nádorů orofaryngu [2]. Její incidence celosvětově roste přibližně o 5 % každým rokem a je zároveň nezávislým příznivým prognostickým a prediktivním faktorem [3–6], čemuž odpovídají i slibné výsledky studií zabývajících se deeskalací dávky radioterapie (RT) [7] u HPV asociovaných tumorů orofaryngu. Zástupným markerem HPV infekce je v běžné rutinní praxi hodnocení exprese tumor supresorového proteinu p16.

Objem nádorové masy (gross tumor volume – tumor + nodes – GTVt+n) je u nádorů oblasti hlavy a krku dalším důležitým faktorem majícím vliv na výsledky léčby ionizujícím zářením [8,9]. Prací hodnotících vliv velikosti nádorového objemu ve spojitosti s HPV infekcí na léčebné výsledky však zatím není mnoho [10,11]. Cílem této prospektivní nerandomizované studie je zhodnotit vliv velikosti nádorové masy na léčebnou odpověď ve skupině pacientů s p16 negativními a p16 pozitivními nádory orofaryngu, kteří byli léčeni kurativní RT, resp. kurativní radiochemoterapií.

Materiál a metody

Pacienti

Jedná se o sekundární analýzu dat prospektivně sledovaných pacientů léčených v rámci výzkumného projektu Možnosti molekulárně řízené radikální radioterapie nebo radiochemoterapie dle profilu mikroRNA u pacientů se spinocelulárními karcinomy hlavy a krku (AZV 2014 No. 15-31627A) schváleného etickou komisí Masarykova onkologického ústavu (MOÚ) a podmíněného podpisem informovaného souhlasu u všech zařazených pacientů. Do této subanalýzy jsou zahrnuti pacienti s nově diagnostikovanými spinocelulárními karcinomy orofaryngu referovaní ke kurativní RT nebo kurativní radiochemoterapii v období od května 2015 do prosince 2017 na Klinice radiační onkologie MOÚ. Vstupní kritéria jsou karcinom orofaryngu klinického stadia III a IV dle 7. verze TNM (tumor–nodes–metastases) klasifikace (American Joint Committee on Cancer, cancer staging manual vision 2011). V době náborů pacientů ještě nebyla v platnosti nová 8. verze této klasifikace, která již v případě spinocelulárních karcinomů orofaryngu zohledňuje i HPV etiologii, proto byla použita a pro zpracování ponechána 7. verze TNM klasifikace. Podmínkou vstupu do studie byla dále plánovaná kurativní RT (resp. konkomitantní radiochemoterapie s platinovým derivátem) jako základní léčebná modalita. Vylučujícími kritérii byly paliativní záměr léčby, neoadjuvantní chemoterapie před RT nebo radiochemoterapie, konkomitantní cílená léčba cetuximabem, jiný než diagnostický chirurgický výkon v oblasti primárního nádoru nebo postižených uzlin, metastatická nemoc. Dále aktivní sekundární malignita, těhotenství, účast v jiné studii či klinickém hodnocení. Pacienti splňující výše uvedená kritéria byli zařazeni do této sekundární analýzy.

Standardní léčba a sledování po léčbě

RT byla provedena v souladu s institucionálním protokolem MOU. Plánovací CT vyšetření bylo provedeno v supinační

poloze na zádech, šířka řezů 3 mm. Na oblast primárního tumoru a postižených mízních uzlin byla předepsaná dávka biologicky ekvivalentní 70 Gy. Uzlinové oblasti ve vyšším, resp. nižším riziku postižení byly ozářeny dávkou biologicky odpovídající 60, resp. 50 Gy dle rozhodnutí radiačního onkologa bez vztahu k protokolu studie.

U většiny pacientů bylo v případě konkomitantní radiochemoterapie použito techniky simultánního integrovaného boostu (SIB) buď s využitím dávek 69,95/62,7/56,1 Gy ve 33 frakcích, nebo nejdříve SIB 60/54 Gy ve 30 frakcích a následně 10 Gy v 5 frakcích do celkové dávky 70 Gy (v případě samostatné definitivní RT pak dávky 66/60/54 Gy ve 30 frakcích). U některých pacientů byla použita tzv. technika postupně se zmenšujících polí neboli sekvenčního boostu. Oblast objemu primárního tumoru (gross tumor volume – tumor – GTVt) byla definována jako tumor a postižené mízní uzliny viditelné při vyšetření počítačovou tomografií (computed tomography – CT), případně magnetickou rezonancí (magnetic resonance imaging – MRI). Jako postižené uzliny (gross tumor volume – nodes – GTVn) byly definovány mízní uzliny větší než 1 cm nebo uzliny s nekrotickým středem (případně i menší uzliny, které byly PET pozitivní, přičemž ale hranice patologie určovalo CT vyšetření).

Lem k vytvoření klinického cílového objemu byl v případě primárního tumoru 5–10 mm k pokrytí mikroskopické nemoci, v případě postižených uzlin 3–5 mm (se zahrnutím případného extrakapsulárního šíření). Bezpečnostní lemy na plánovací cílový objem byly 5 mm (event. 7 mm v subklavikulární oblasti, kde je větší riziko intrafrakčních a interfrakčních pohybů pacienta). Při definici cílových objemů byl brán zřetel i na klinické vyšetření a endoskopický nález. Konkomitantní chemoterapie sestávala primárně z cisplatiny v monoterapii a byla aplikována buď jednou za 3 týdny v dávce 100 mg/m^2, nebo jednou týdně v dávce 40 mg/m^2. U jednoho pacienta byla již iniciálně po dobu RT aplikována karboplatina jednou týdně vzhledem k renální insuficienci.

Po absolvování kurzu RT byli pacienti prospektivně sledováni v pravidelných intervalech. Otorinolaryngologické (ORL) vyšetření bylo provedeno v rozmezí 4–6 týdnů po ukončení RT, kontrolní CT nebo pozitronové emisní tomografie (PET)/CT po léčbě v rozmezí 10–12 týdnů. Další zobrazovací vyšetření byla indikována dle rozhodnutí radiačního onkologa. V případě nejasnosti na prvním zobrazovacím vyšetření po léčbě bylo toto opakováno v rozmezí 2–3 měsíců. Pravidelné ORL vyšetření bylo v prvních 2 letech v intervalech po 1–2 měsících, dále v intervalech po 3 měsících. Kontrola radiačním onkologem probíhala v pravidelných intervalech po 3 měsících. Jako kompletní remise (complete remission – CR) byla v této analýze hodnocena kompletní odpověď na kontrolním CT nebo PET/CT (tedy bez známek primárního tumoru v popisu daného vyšetření), ale zároveň i klinická CR při ORL vyšetření. Všechny ostatní případy byly hodnoceny jako parciální remise. V případě, že byla splněna radiologická kritéria pro stabilizaci nemoci (stable disease – SD) a zároveň byly přítomny i známky tumoru při ORL, byla léčebná odpověď klasifikována jako SD. V případě diskrepance mezi ORL a CT vyšetřením byla vyšetření opakována v intervalu 2–3 měsíců. V případě, že byl po RT proveden „salvage" chirurgický výkon s nálezem vitálních nádorových buněk, odpověď po RT byla hodnocena jako nedosažení CR. Naopak v případě nálezu avitálních, resp. kompletně regredovaných nádorových buněk nebo jiných změn bez nálezu zhoubného novotvaru byla odpověď hodnocena jako CR k datu posledního CT vyšetření. Sledovaný iniciální GTVt a GTVn byl následně posouzen ve vztahu k dosažení CR.

Imunohistochemická analýza a stanovení GTVt+n

Status p16 byl stanoven dle standardního semikvantitavního imunohistochemického vyšetření, přičemž jako pozitivní byla hodnocena difuzní nukleární nebo cytoplazmatická pozitiva v 75 % tumorózních buněk.

Objem primárního tumoru odpovídající GTVt a postižených uzlin odpovídající GTVn byl odečten radiačním onkologem v plánovacím systému pro RT (software Eclipse, Palo Alto, Kalifornie, USA) po zakonturování těchto struktur v plánovacím CT. Jejich matematickým sečtením byl získán GTVt+n. Pro eliminaci interindividuální variability byly kontury jednotlivých struktur zhodnoceny a schváleny dvěma radiačními onkology.

Statistické zpracování

Pro popis souboru pacientů byly použity standardní nástroje deskriptivní statistiky – počty a procenta pro kategoriální data a medián a rozsah pro spojitá data. Pro testování nezávislosti kategoriálních proměnných ve dvou skupinách byl využit Fisherův exaktní test. Testování rozdílů ve velikosti nádorové masy ve dvou skupinách bylo provedeno využitím Mann-Whitneyho testu. Doba do dosažení CR byla analyzována pomocí metod analýzy přežití (Kaplan-Meierův odhad křivky přežití, log-rank test). Výsledné objemy byly posuzovány ve vztahu k dosažení CR jednak nezávisle jako GTVt a GTVn a jednak společně jako GTVt+n.

Výsledky

Pacienti a léčba

Od května 2015 do prosince 2017 bylo hodnoceno celkem 49 pacientů (41 mužů; 83,7 %). Medián věku byl 60,5 roku (rozsah 47–79 let). Klinické stadium III dle 7. verze TNM klasifikace bylo u 19 (38,8 %) a stadium IV u 30 (61,2 %) pacientů. V souboru bylo celkem 23 (46,9 %) pacientů p16 negativních a 25 (51 %) pacientů p16 pozitivních. U jednoho pacienta nebylo možné určit status p16 pro nedostatek bioptického materiálu pro tuto analýzu. V souboru bylo celkem 37 kuřáků (75,5 %) a 12 nekuřáků (24,5 %). Celková zátěž kouřením vyjádřená v balíčkorocích (packyears) je v mediánu 22,5 balíčkoroku (rozsah 0–156). Všichni pacienti absolvovali předepsanou léčbu, konkomitantní radiochemoterapii podstoupilo 40 pacientů (81,6 %), 9 (18,4 %) pacientů mělo samostatnou RT. V případě aplikace cisplatiny v dávce 100 mg/m^2 byly ve skupině p16– pacientů aplikovány tři cykly u 5 pacientů a ve skupině p16+ u 4 pacientů, všichni ostatní pacienti měli počet cyklů dva, kromě pacientů, u nichž byla pro nežádoucí účinky použita kombinovaná chemoterapie v tří-

Tab. 1. Základní charakteristiky pacientů a jejich léčby.

Charakteristika	p16 negativní n = 23, (NA = 1)	p16 pozitivní n = 25
věk (roky)		
medián (rozmezí)	58,5 (51–76)	64 (48–79)
pohlaví		
muži – n (%)	18 (78 %)	22 (88 %)
kuřáci – n (%)	22 (95,6 %)	14 (56 %)
nekuřáci – n (%)	1 (4,4 %)	11 (44 %)
kouření – balíčkoroky		
medián (rozmezí)	37 (0–156)	2,5 (0–55)
1. a 3. kvartil	22,5 a 46	0 a 20
tumor – n (%)		
T1	–	2 (8 %)
T2	1 (4,4 %)	3 (12 %)
T3	9 (39,1 %)	4 (16 %)
T4a	12 (52,1 %)	14 (56 %)
T4b	1 (4,4 %)	2 (8 %)
uzliny – n (%)		
N0	4 (17,4 %)	2 (8 %)
N1	4 (17,4 %)	1 (4 %)
N2a	–	1 (4 %)
N2b	9 (39,1 %)	12 (48 %)
N2c	5 (21,7 %)	7 (28 %)
N3	1 (4,4 %)	2 (8 %)
radioterapie		
SIB – n (%)	15 (65,3 %)	21(84 %)
SIB + boost – n (%)	3 (13 %)	2 (8 %)
shrinking field – n (%)	5 (21,7 %)	2 (8 %)
CHT (konkomitantní) – n (%)	18 (78 %)	21 (84 %)
cisDDP 40 mg/m^2/týden – n (%)	8 (78,2 %)	3 (12 %)
medián cyklů, rozmezí	5 (1–8)	4 (2–5)
cisDDP 100 mg/m^2/3 týdny – n (%)	10 (43,5 %)	14 (56 %)
medián cyklů, rozmezí	2 (2–3)	2 (2–3)
cisDDP 100 mg/m^2/3 týdny + 40mg/m^2 1× týdně – n (%)	–	1 (4 %)
cisDDP 100 mg/m^2/3 týdny + CBDCA dle AUC 1,5 1× týdně – n (%)	1 (4,3 %)	2 (8 %)
CBDCA dle AUC1,5 1× týdně – n (%)	–	1 (4 %)

SIB – simultánní integrovaný boost, CHT – chemoterapie, cisDDP – cisplatina, CBDCA – karboplatina, AUC – plocha pod křivkou koncentrace léku

týdenním a následně týdenním režimu. Podrobnější data o léčbě jsou v tab. 1. Radioterapií technikou SIB bylo léčeno celkem 37 pacientů (75,5 %), kombinací SIB s následným boostem na tumor a postižené uzliny celkem 5 pacientů (10,2 %) a technika normofrakcionované RT s postupně se zmenšujícím polem (shrinking field technika) byla použita u 7 pacientů (14,3 %). Celkovou předepsanou dávku záření absolvovalo 44 pacientů (89,8 %), k dávkové redukci došlo u 5 (10,2 %) pacientů z důvodu lokální toxicity související s velikostí ozařovaného objemu. Ve skupině p16+ pacientů byla redukce v dávce u jednoho pacienta o 1 frakci u dalšího pacienta o 4 frakce. Ve skupině p16– pacientů byla ve 2 případech normofrakcionace dávka redukována o 2, resp. 5 frakcí. Všichni ostatní pacienti obdrželi předepsanou dávku RT. Detailní charakteristika souboru pacientů a jejich léčby po rozdělení na p16 negativní a p16 pozitivní je v tab. 1.

Velikosti nádorové masy

Medián GTVt v celém souboru je 40,2 cm^3 (rozsah 0,56–210,4), GTVn 11,78 cm^3 (rozsah 0–170) a medián GTVt+n je 70,21 cm^3 (rozsah 11,05–249). Medián GTVt byl větší u p16 negativní skupiny pacientů na hranici statistické významnosti p = 0,069, naopak GTVn byl větší u p16 pozitivní skupiny pacientů, a to statisticky významně p = 0,041. GTVt+n byl pro obě skupiny velmi podobný. Podrobněji viz tab. 2, graf 1.

Vliv exprese p16 a dalších proměnných na dosažení CR

Medián doby sledování byl 17,2 měsíce, (95% CI 12,1–21,3), odhad dvouletého přežití v celém souboru je 75,9 % (95% CI 62,4–92,4). Medián doby do dosažení CR od konce RT byl v celém souboru 91 dní (95% CI 86–107 dní). Ve skupině p16 negativních pacientů dosáhlo CR 14 (61 %) z celkem 23 pacientů, v p16 pozitivní skupině 20 (80 %) z 25 pacientů (p = 0,111). P16 negativní pacienti měli delší dobu do dosažení CR (p = 0,196; HR 1,58; 95% CI 0,79–3,18). V celém souboru pacientů měl vliv na dosažení CR samostatně hodnocený GTVt a GTVt+n (medián 33,5 vs. 61,3 cm^3; p = 0,030, resp. medián 63,3 vs. 96,5 cm^3; p = 0,042). Sa-

Tab. 2. Objemové charakteristiky nádorové masy v cm³ v celém souboru a v p16 negativní a p16 pozitivní skupině pacientů.

	celý soubor, n = 49 (cm³)			p16 negativní*, n = 23 (cm³)			p16 pozitivní*, n = 25 (cm³)		
	GTVt	GTVn	GTVt+n	GTVt	GTVn	GTVt+n	GTVt	GTVn	GTVt+n
min.	0,56	0	11,05	15,66	0	18,77	0,56	0	11,05
1. kvartil	22,88	6,17	42,32	34,06	5,34	48,62	21,86	8,51	37,74
medián	40,2	11,78	70,21	50,86	7,85	66,16	33,4	26,52	70,9
průměr	53,08	24,96	78,04	60,17	17,34	77,5	46,55	31,98	78,53
2. kvartil	65,8	33,39	97,25	72,12	15,5	99,2	47,49	38,86	93,68
max.	210,4	170	249	205,3	142,7	216,7	210,4	170	249

*exprese p16 nebyla stanovena u jednoho pacienta
GTVt – objem primárního tumoru, GTVn – objem postižených uzlin, GTVt+n – objem primárního tumoru a postižených uzlin

mostatně hodnocený GTVn na dosažení CR vliv neměl (medián 14,8 vs. 11, 4 cm³; p = 0,739).

V analýze p16 negativní kohorty se projevil objem GTVt+n jako významný pro dosažení CR (medián 58,1 vs. 101,9 cm³; p = 0,018), jistý statisticky nevýznamný trend pro dosažení CR měl i GTVt (medián 44,5 vs. 70,9 cm³; p = 0,073), GTVn na dosažení CR vliv neměl (medián 7,6 vs. 11,4 cm³; p = 0,549).

U p16 pozitivní kohorty na dosažení CR neměl vliv ani jeden ze samostatně hodnocených objemových parametrů tumoru, tedy GTVt a GTVn (medián 31,0 vs. 53,4 cm³; p = 0,373, resp. medián 28,1 vs. 17,9 cm³; p = 0,698) a ani GTVt+n (medián 71,4 vs. 78,4 cm³; p = 0,727). Rozložení objemových charakteristik podle dosažení CR je zobrazeno v grafu 2.

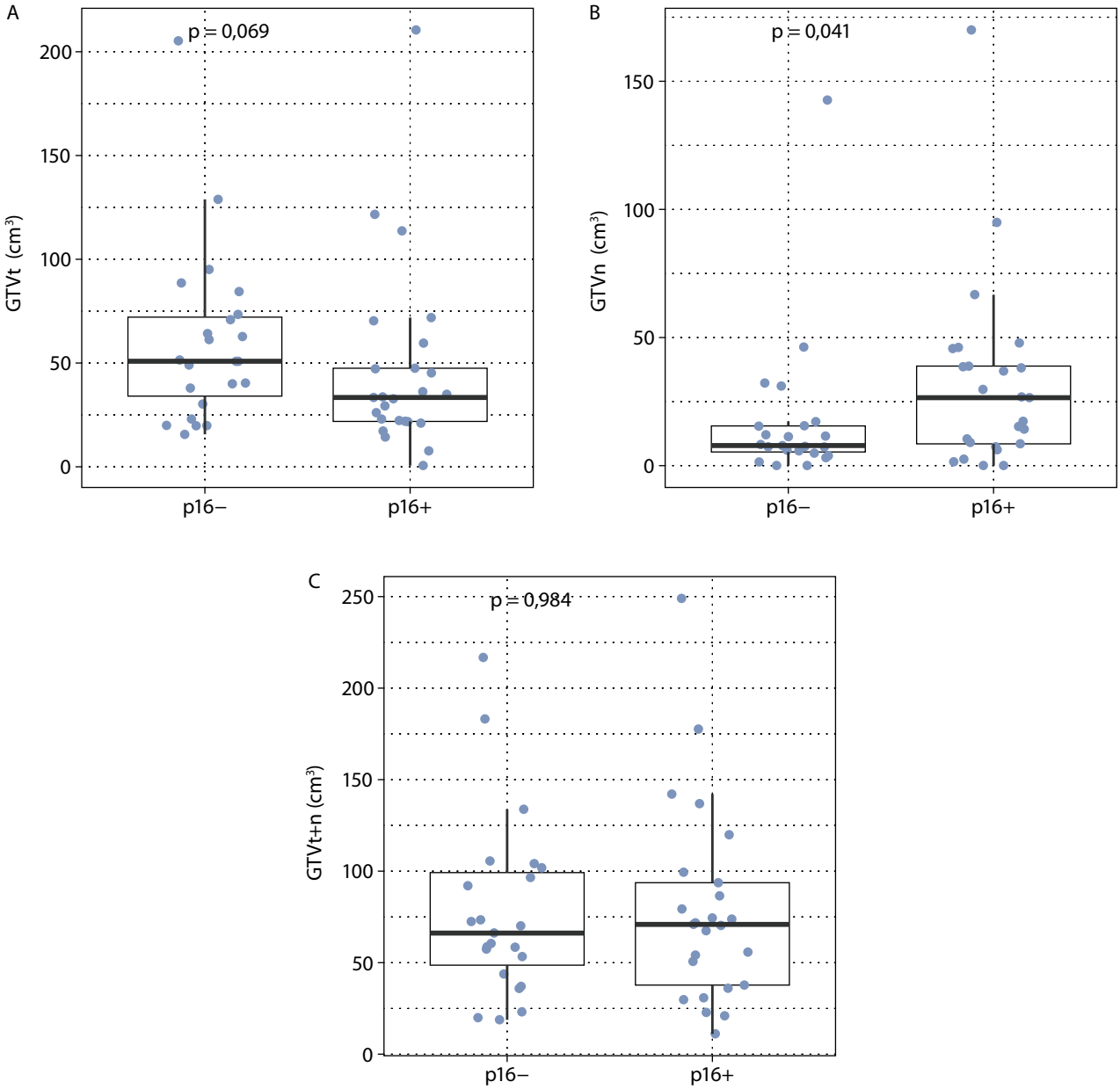
Z dalších hodnocených faktorů na dosažení CR nemělo vliv kouření, a to jak v celém souboru (p > 0,999), tak u p16 negativní, resp. p16 pozitivní skupiny samostatně (p > 0,999, resp. p = 0,300).

Při hodnocení vlivu T stadia (7. verze TNM klasifikace), a to stadia T1–3 oproti T4, byl pozorován signifikantní rozdíl v dosažení CR v celém souboru (p = 0,046), dále i samostatně u p16 negativní skupiny (p = 0,029). U p16 pozitivní skupiny vliv T stadia na CR prokázán nebyl (p > 0,999). Vliv stadia onemocnění nebyl hodnocen vzhledem k malému počtu pacientů (celkem 5) ve stadiu III. Vliv konkomitantní chemoterapie na dosažení CR se potvrdil v celém souboru (p = 0,027). Při nezávislém vyhodnocení p16 pozitivní skupiny byl pozorován jistý nesignifikantní trend k vlivu CHT na CR (p = 0,061). U samostatně vyhodnocené p16 negativní skupiny nebyl vliv konkomitantní chemoterapie prokázán (p = 0,342). Malý počet pacientů v této pilotní analýze neumožňoval validní hodnocení pomocí multivariační analýzy.

Diskuze

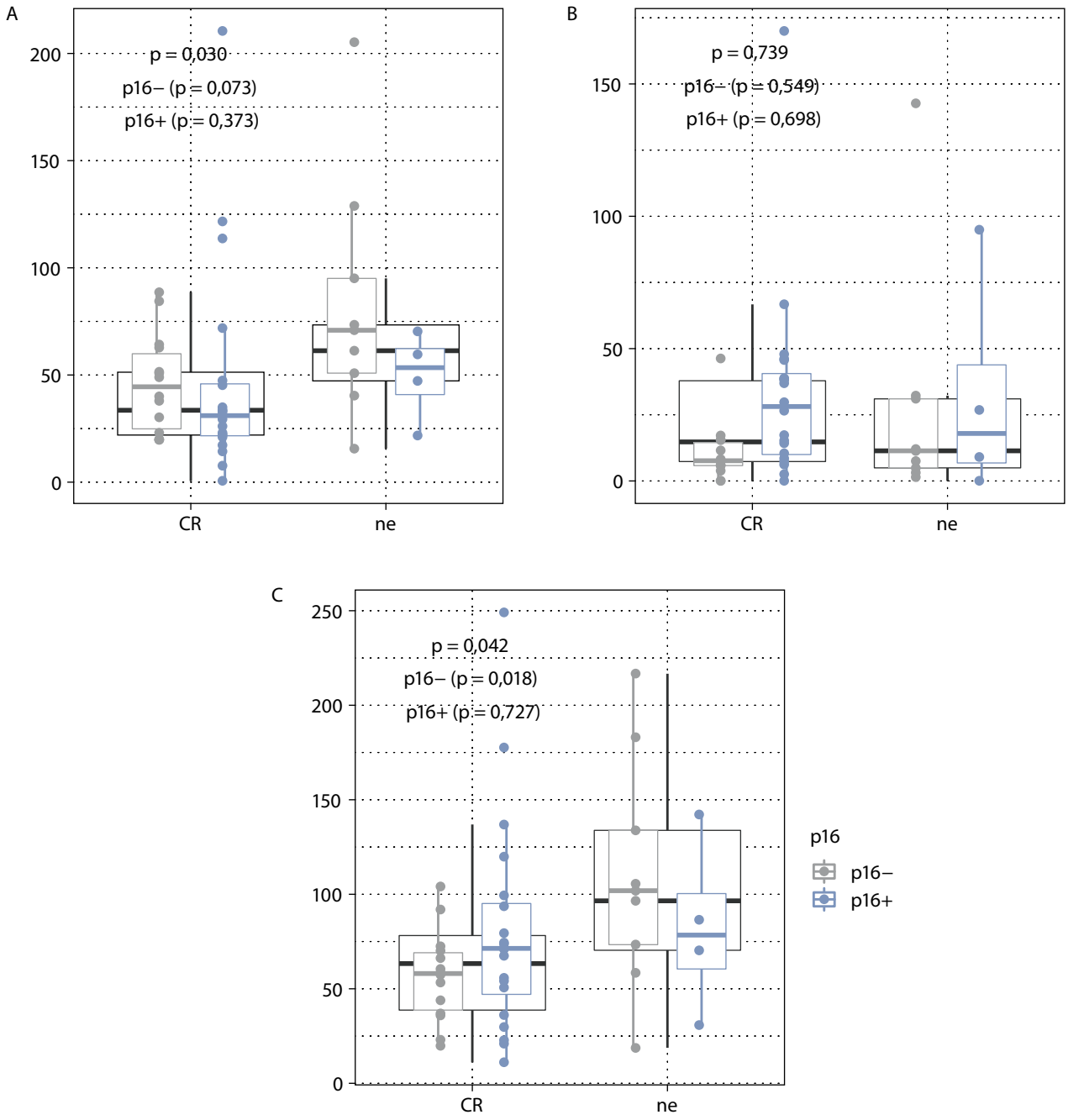
V této prospektivní studii jsme hodnotili vliv GTVt+n na dosažení CR v souvislosti s expresí p16 u pacientů léčených s kurativním záměrem pro nově diagnostikovaný spinocelulární karcinom orofaryngu. V souladu s teoretickým předpokladem jsme popsali, že větší GTVt+n je spjatý s menší pravděpodobností dosažení CR v celém souboru pacientů (bez ohledu na stav p16) a také u podskupiny p16 negativních pacientů. Naopak u p16 pozitivní podskupiny pacientů nebyl vliv GTVt+n na dosažení CR prokázán. S tímto nálezem koreloval i vliv velikosti, resp. rozsahu primárního tumoru T (dle 7. verze TNM klasifikace) – tedy byl prokázán v celém souboru pacientů a u p16 negativní kohorty, ale nebyl naopak prokázán u p16 pozitivní skupiny pacientů. Z těchto zjištění je patrná i velmi pravděpodobná terapeutická konsekvence, a sice to, že p16 pozitivní tumor orofaryngu nelze na základě jeho rozsahu v terapeutickém přístupu označit za „jednoznačně indikovaný paliativní postup". Analogicky je proto velmi důležité a nutné rutinní stanovování p16 u každého spinocelulárního karcinomu orofaryngu. Z dalších faktorů jsme prokázali pozitivní vliv konkomitantní chemoterapie, který byl kromě celého souboru patrný zejména u p16 pozitivní kohorty. Dále se nepotvrdil vliv kouření v souvislosti s dosažením CR – rozdíl nebyl patrný ve skupině kuřáků či nekuřáků, a nebyl prokázán ani v samostatné skupině kuřáků dle větší či menší kontinuální zátěže kouření vyjádřené v balíčkorocích (data nepublikována).

GTVt+n u nádorů hlavy a krků léčených RT je známým prognostickým faktorem [8,12–14]. Tento vliv je výrazný při hodnocení celé skupiny spinocelulárních nádorů oblasti hlavy a krku, při rozdělení na podskupiny je nejpatrnější při nádorech hypofaryngu a laryngu vč. jeho supraglotické části. U nádorů orofaryngu jsou výsledky variabilnější [14], to nejspíše proto, že při hodnocení nebyla brána do úvahy HPV etiologie části těchto tumorů nebo jiných prognostických faktorů [14–16]. V souvislosti s posouzením vlivu GTVt+n u tumorů orofaryngu v závislosti od exprese p16 a tím *de facto* HPV etiologie bylo recentně publikováno několik retrospektivních prací [10–11]. V našem případě se jedná o první publikovanou prospektivní analýzu této problematiky, v níž byli zařazení pacienti prospektivně sledováni dle studiového protokolu k validnímu stanovení CR v obou skupinách pacientů. Vzhledem ke krátké době sledování však naše pilotní analýza hodnotí zatím dosa-



Graf 1. Velikost objemu nádorové masy s ohledem na expresi p16 v celém souboru pacientů.
A. Objem primárního tumoru v cm^3 (GTVt) v p16 negativní skupině (p16–) a p16 pozitivní skupině (p16+).
B. Objem postižených uzlin v cm^3 (GTVn) v p16– a p16+ skupině (p16+).
C. Velikost celé nádorové masy v cm^3 (GTVt+n) v p16– a p16+ skupině.

žení či nedosažení CR ve vztahu k GTVt+n a expresi p16. Naproti tomu uvedené retrospektivní práce hodnotily GTVt a GTVn také ve vztahu k intervalu bez známek onemocnění (disease free survival – DFS) a k celkovému přežití (overall survival – OS). První uvedená práce Davise et al hodnotila tyto vlivy jenom ve skupině p16 pozitivních tumorů orofaryngu napříč všemi stadii [10]. Nejdůležitějším závěrem této práce je zjištění, že GTVn byl asociován s DFS, což se nepotvrdilo u GTVt. Objemová charakteristika celého nádorového postižení byla dále více asociovaná s DFS a OS než klasický TNM staging. Také nebyl prokázán vliv T stadia na DFS či OS. Je nutné podotknout, že se jednalo o 7. verzi TNM klasifikace, která ještě status p16 nezohledňuje. Další citovaná práce Carpéna et al naopak posuzuje, podobně jako naše práce, objemové charakteristiky tumoru u p16 pozitivních, ale i negativních tumorů orofaryngu [11]. Vyu-



Graf 2. Vliv exprese p16 na objemové charakteristiky nádorového onemocnění dle dosažení kompletní remise onemocnění.
A. Vliv exprese p16 na objem primárního tumoru (GTVt).
B. Vliv exprese p16 na objem uzlinového postižení (GTVn).
C. Vliv exprese p16 na objem celé nádorové masy (GTVt+n).

žívá ale již 8. verze TNM klasifikace, která expresi p16 u tumoru orofaryngu široce zohledňuje [4]. GTVt byl v této práci signifikantním nezávislým prognostickým faktorem pro OS u p16 negativní skupiny pacientů. GTVn byl spjat s horším OS i DFS a lokální kontrolou (loco-regional control – LRC) u p16 negativní kohorty, u p16 pozitivní byl spjat jen s DFS a LRC. Vliv stadia (III a IV) byl v této práci pozorován jen u p16 negativních tumorů v souvislosti s OS. GTVt tak může být použit jako nezávislý prognostický faktor u p16 negativních tumorů a GTVn by mohl být nezávislým prognostickým faktorem u p16 pozitivní, ale i negativní skupiny pacientů léčených kurativní RT, resp. radioche-

moterapií. Naše práce se s uvedenými studiemi nedá přímo srovnat, nicméně její pilotní výsledky jsou v některých aspektech podobné citovaným pracím. Zejména jde o menší vliv GTVt+n a stadia T na výsledky léčby u p16 pozitivních tumorů. Neprokázali jsme sice vliv GTVn na výsledky léčby, resp. CR, ale tento fakt nemusí znamenat, že se během dalšího sledování neprojeví GTVn jako prognostický faktor pro některé z parametrů, jako je DFS či OS nebo LRC při pozdější analýze s delším follow up. Podobně se může následně projevit i vliv kouření na výsledky léčby, který v naší analýze vliv na dosažení CR neměl. Je však známým rizikovým faktorem [17], a to i přes některé nedostatky související se subjektivním faktorem při sběru anamnestických dat týkajících se právě kouření a počtu vykouřených cigaret [18].

I přes prospektivní charakter má studie několik limitací. I když je celkový soubor poměrně robustní a homogenní, při rozdělení na skupiny je v obou ramenech menší počet pacientů znemožňující zatím robustnější analýzu parametrů přežití. Dále celkem 5 pacientů nedokončilo RT v předepsané dávce, ale došlo u nich k dávkové redukci, což může být příčinou jistého bias při hodnocení CR. Ne všichni pacienti absolvovali konkomitantní chemoterapii, jejíž vliv se v naší studii potvrdil jako významný na dosažení CR a je dobře známý i z publikovaných dat [19]. I přes své nedostatky naše analýza ilustrovala rozdíly mezi p16 pozitivními a negativními tumory, a to nejen v objemových charakteristikách, ale i v menším vlivu těchto charakteristik na dosažení CR u p16 pozitivních tumorů.

Závěr

Lepší prognóza HPV asociovaných tumorů orofaryngu je již široce známá. V této pilotní studii jsme potvrdili menší závislost vlivu GTVt+n u p16 pozitivních tumorů na dosažení CR než u p16 negativních tumorů. Tento fakt může být nakonec i v souladu se slibnými výsledky deeskalačních studií u HPV asociovaných tumorů orofaryngu. I přes tyto nadějné parciální výsledky je však nutné další studium možných prediktivních a prognostických faktorů, které budou mít v budoucnu potenciál k individualizaci léčby těchto pacientů.

Literatura

1. Larsen CG, Gyldenløve M, Jensen DH et al. Correlation between human papillomavirus and p16 overexpression in oropharyngeal tumours: a systematic review. Br J Cancer 2014; 110: 1587–1594. doi: 10.1038/bjc.2014.42.
2. Shaw R, Beasley N. Aetiology and risk factors for head and neck cancer: United Kingdom National Multidisciplinary Guidelines. J Laryngol Otol 2016; 130 (Suppl 2): S9–S12. doi: 10.1017/S0022215116000360.
3. Ang KK, Sturgis EM. Human papillomavirus as a marker of the natural history and response to therapy of head and neck squamous cell carcinoma. Semin Radiat Oncol 2012; 22(2): 128–142. doi: 10.1016/j.semradonc.2011.12.004.
4. Lydiatt WM, Patel SG, O'Sullivan B et al. Head and neck cancers-major changes in the American Joint Committee on cancer eighth edition cancer staging manual. CA Cancer J Clin 2017; 67(2): 122–137. doi: 10.3322/caac.21389.
5. Gurin D, Slavik M, Hermanova M et al. Prognostic impact of combined immunoprofiles in oropharyngeal squamous cell carcinoma patients with respect to AJCC 8th edition. J Oral Pathol Med 2018; 47(9): 864–872. doi: 10.1111/jop.12772.
6. Slavik M, Shatokhina T, Sana J et al. Expression of CD44, EGFR, p16, and their mutual combinations in patients with head and neck cancer: impact on outcomes of intensitymodulated radiation therapy. Head Neck 2018; 2018: 1–10. doi: 10.1002/hed.25533.
7. Mirghani H, Blanchard P. Treatment de-escalation for HPV-driven oropharyngeal cancer: Where do we stand? Clin Transl Radiat Oncol 2017; 8: 4–11. doi: 10.1016/j.ctro.2017.10.005.
8. Knegjens JL, Hauptmann M, Pameijer FA et al. Tumor volume as prognostic factor in chemoradiation for advanced head and neck cancer. Head Neck 2011; 33(3): 375–382. doi: 10.1002/hed.21459.
9. Linge A, Lohaus F, Löck S et al. HPV status, cancer stem cell marker expression, hypoxia gene signatures and tumour volume identify good prognosis subgroups in patients with HNSCC after primary radiochemotherapy: a multicentre retrospective study of the German Cancer Consortium Radiation Oncology Group (DKTK-ROG). Radiother Oncol 2016; 121(3): 364–373. doi: 10.1016/j.radonc.2016.11.008.
10. Davis KS, Lim CM, Clump DA et al. Tumor volume as a predictor of survival in human papillomavirus-positive oropharyngeal cancer. Head Neck 2016; 38 (Suppl 1): E1613–E1617. doi: 10.1002/hed.24287.
11. Carpén T, Saarilahti K, Haglund C et al. Tumor volume as a prognostic marker in p16-positive and p16-negative oropharyngeal cancer patients treated with definitive intensity-modulated radiotherapy. Strahlenther Onkol 2018; 194(8): 759–770. doi: 10.1007/s00066-018-1309-z.
12. Chao KS, Ozyigit G, Blanco AI et al. Intensity-modulated radiation therapy for oropharyngeal carcinoma: impact of tumor volume. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2004; 59(1): 43–50. doi: 10.1016/j.ijrobp.2003.08.004.
13. Strongin A, Yovino S, Taylor R et al. Primary tumor volume is an important predictor of clinical outcomes among patients with locally advanced squamous cell cancer of the head and neck treated with definitive chemoradiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2012; 82(5): 1823–1830. doi: 10.1016/j.ijrobp.2010.10.053.
14. Mendenhall WM, Mancuso AA, Strojan P et al. Impact of primary tumor volume on local control after definitive radiotherapy for head and neck cancer. Head Neck 2014; 36(9): 1363–1367. doi: 10.1002/hed.23454.
15. Ahmad P, Slavik M, Sana J et al. MicroRNAs in prediction of response to radiotherapy in head and neck cancer patients – pilot study. Klin Onkol 2018; 31 (Suppl 1): 137–139.
16. Ahmad P, Sana J, Slavik M et al MicroRNAs involvement in radioresistance of head and neck cancer. Dis Markers 2017; 2017: 8245345. doi: 10.1155/2017/8245345.
17. Sterba KR, Garrett-Mayer E, Carpenter MJ et al. Smoking status and symptom burden in surgical head and neck cancer patients. Laryngoscope 2017; 127(1): 127–133. doi: 10.1002/lary.26159.
18. Alberg AJ, Worley ML, Tooze JA et al. The validity of self-reported recent smoking in head and neck cancer surgical patients. Otolaryngol Head Neck Surg 2015; 153(6): 990–995. doi: 10.1177/0194599815594385.
19. Blanchard P, Landais C, Petit C et al. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): an update on 100 randomized trials and 19,248 patients, on behalf of MACH-NC group. Ann Oncol 2016; 27 (Suppl 6): 950. doi: 10.1093/annonc/mdw376.02.