

Lek. Katarzyna Pasternak-Pietrzak

## **OCENA CZYNNIKÓW PROGNOSTYCZNYCH NAWROTU CHOROBY I JAKOŚCI ŻYCIA PACJENTÓW Z CHOROBAŃ CUSHINGA W MATERIALE OŚRODKA INSTYTUT „POMNIK - CENTRUM ZDROWIA DZIECKA”.**

Streszczenie

### **1. WSTĘP**

Choroba Cushinga (CD) jest definiowana jako stan hiperkortyzolemii spowodowany nadmiernym wydzielaniem adrenokortykotropiny (ACTH) przez gruczolaka kortykotropowego przysadki. CD jest najczęstszą przyczyną endogennego zespołu Cushinga (CS), szczególnie u dzieci powyżej 5 roku życia. Patogeneza CD u dzieci nie jest w pełni poznana a dane w piśmiennictwie na ten temat są ograniczone. Jako najczęstsze zmiany u pacjentów z CD zidentyfikowano ostatnio mutacje somatyczne w genie kodującym proteazę 8 specyficzną dla ubikwityny (*USP8*) z częstością szacowaną na 31-63%. Spośród innych możliwych zmian somatycznych stwierdzonych u pacjentów z CD wymienia się mutacje w genach, takich jak: *GNAS1*, *TP53*, *NR3C1*, *NROB1*, *Brg1* i *HDAC2*. Ponadto niektóre czynniki transkrypcyjne związane z proliferacją i różnicowaniem komórek progenitorowych, a także mutacje somatyczne w genach, które powodują syndromy związane z gruczolakami przysadki: *MEN1*, *PRKARIA*, *AIP* mogą być związane ze zmianami molekularnymi prowadzącymi do CD.

Leczeniem z wyboru CD jest zabieg transfenoidalnego usunięcia gruczolaka przysadki (TSS). Wskaźniki remisji w populacji pediatrycznej różnią się w zależności od ośrodka, doświadczenia neurochirurga i innych czynników i wynoszą od 45 do 95%. Wskaźniki nawrotu u dzieci po uzyskaniu wstępnej remisji wynoszą 6-27% i są niższe w porównaniu do dorosłych, u których nawrót występuje w 3-47%. Nawrót CD dokumentowano nawet 15 lat od skutecznej operacji, stąd istnieje potrzeba długoterminowej opieki nad pacjentami. Choć wielu badaczy podejmowało próby znalezienia czynnika predykcyjnego nawrotu CD, wyniki są rozbieżne i nie jest znany obecnie konkretny, uniwersalny czynnik prognostyczny choroby, który znajdowałby potwierdzenie we wszystkich badaniach.

Dostępne dane na temat jakości życia wskazują, że pacjenci z chorobą Cushinga wciąż doświadczają znaczących problemów w różnych dziedzinach życia, nawet po uzyskaniu biochemicznej remisji i wiele lat po skutecznym leczeniu choroby.

Hiperkortyzolemia spowodowana CD, mimo wyleczenia, może wpływać długoterminowo na

nastrój oraz funkcjonowanie w społeczeństwie. Dane na temat jakości życia pacjentów dorosłych po leczeniu choroby Cushinga w dzieciństwie są ograniczone.

## **2. MATERIAŁ**

Analizą objęto 29 pacjentów (15 dziewcząt i 14 chłopców) Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” (IPCZD) leczonych w latach 1994-2018. Leczenie neurochirurgiczne 24 pacjentów przeprowadzono w Klinice Neurochirurgii IPCZD, u pozostałych 5 pacjentów – w innych ośrodkach. Średni czas obserwacji wyniósł 10.23 lat (0.67-24.50).

## **3. METODY**

3.1. Dane zebrano retrospektywnie. Wszyscy pacjenci poza jednym zostali przyjęci do Kliniki Endokrynologii IPCZD przed operacją neurochirurgiczną. Analizy stanu zdrowia pacjentów dorosłych (byłych pacjentów IPCZD) dokonano za pomocą ankiety własnej (zawierającej pytania m.in. o nawrót choroby, stosowane aktualnie leki czy choroby współistniejące) wypełnionej przez poszczególnego pacjenta (Załącznik nr 1, str. 110-112). Odpowiedzi uzyskano drogą korespondencyjną, telefonicznie lub elektronicznie i były one weryfikowane przez lekarza przeprowadzającego badanie. Osiemnastu spośród 24 dorosłych pacjentów odpowiedziało na ankietę (współczynnik odpowiedzi wyniósł 75%). Analizę stanu zdrowia pacjentów, którzy nie odpowiedzieli na ankietę, zakończono na ostatniej wizycie w IPCZD. W przypadku 1 pacjenta nie udało się przeprowadzić obserwacji po operacji neurochirurgicznej. Długoterminowej analizy stanu zdrowia pacjentów będących aktualnie pod opieką IPCZD dokonano na podstawie danych z ostatniej wizyty. W celu przedstawienia wyników potwierdzonych przez ocenę kliniczną, długoterminowa analiza 27 (93%) pacjentów została dokonana na podstawie danych z ostatniej oceny w IPCZD. Długoterminową remisję zdefiniowano jako konieczność substytucji glikokortykosteroidami lub poprzez kliniczne lub biochemiczne dowody normokortyzolemii (poranny kortyzol w surowicy w zakresie 5-25 µg/dl lub prawidłowy wynik wydalania dobowego kortyzolu w moczu lub 17-OHCS).

Jeśli chodzi o analizę czynników predykcyjnych nawrotu choroby, ustalono dwa punkty czasowe, w których zakończono obserwację pacjentów. Pierwszy punkt czasowy

(krótsza obserwacja (FU), 24 pacjentów) ustalono, gdy pacjenci zakończyli leczenie w IPCZD. Drugi punkt czasowy (dłuższa obserwacja, 26 pacjentów) ustalono na podstawie czasu jaki upłynął od operacji do momentu wypełnienia ankiety przez dorosłego pacjenta (byłego pacjenta IPCZD).

Analizę genetyczną częstości występowania zmian patogennych w genie *USP8* w grupie dzieci i młodzieży z CD przeprowadzono u 18 pacjentów. Badania genetyczne przeprowadzono w the National Institutes of Health, Bethesda, Stany Zjednoczone. Próbkę guzów zostały zanonimizowane, aby nie ujawniać danych osobowych ośrodkowi przeprowadzającemu badanie. Materiałem genetycznym była usunięta podczas operacji tkanka guza zabezpieczona w postaci bloków parafinowych.

Jakość życia 18 dorosłych pacjentów oceniono za pomocą krótkiej wersji kwestionariusza jakości życia Światowej Organizacji Zdrowia (WHOQoL-BREF) i przeanalizowano wpływ wybranych czynników prognostycznych na jakość życia pacjentów. Wyniki porównano z grupą kontrolną osób zdrowych w tym samym wieku i płci.

Komisja Bioetyczna (48/KBE/2018 i 10/KBE/2019) działająca przy IPCZD wydała zgodę na przeprowadzenie badania oraz na publikację uzyskanych wyników bez podawania danych identyfikujących pacjentów.

### 3.2 Analiza statystyczna

Rozkład zmiennych ciągłych sprawdzono pod kątem normalności. W przypadku rozkładu normalnego do określenia istotnych statystycznie różnic zastosowano test t-Studenta. Do porównania grup, w których nie uzyskano rozkładu normalnego, użyto testu Manna-Whitney'a. Testu dokładnego Fischera, testu Z dla jednej proporcji oraz testu Z dla dwóch proporcji dla małych prób użyto do porównania grup, w których sprawdzane zmienne wyrażono w skali dychotomicznej. Istotność statystyczną przyjęto, gdy  $P < 0.05$ . Dane analizowano za pomocą programu Statistica 13.0 PL dla Windows.

Czynniki predykcyjne nawrotu choroby analizowano za pomocą modelu regresji logistycznej oraz krzywej ROC (ang. *receiver operating characteristics*). Analizowanymi zmiennymi były: płeć, wiek w momencie wystąpienia objawów choroby, wiek w momencie operacji, różnica pomiędzy wiekiem podczas operacji a wiekiem w momencie wystąpienia objawów, średnie poranne stężenie kortyzolu przed leczeniem, średnie stężenie kortyzolu w nocy, maksymalne stężenie ACTH przed leczeniem, maksymalne stężenie ACTH po teście stymulacyjnym z owczą kortykoliberyną (oCRH) (przed operacją transfenoidalną), czas

substytucji hydrokortyzonem (po operacji), zobrazenie gruczołka w rezonansie magnetycznym, naciekanie zatoki skalistej lub opony twardej i potwierdzenie gruczołka w badaniu histopatologicznym.

#### 4. WYNIKI

4.1 Średni wiek w momencie początku choroby (definiowanym jako moment wystąpienia pierwszych objawów) wyniósł 10.20 lat (mediana wieku 10.80 lat, zakres 4.33-16.00). Dwudziestu trzech z dwudziestu ośmiu (83%) pacjentów uzyskało biochemiczną remisję po pierwszym zabiegu transfenoidalnym (pooperacyjne stężenie kortyzolu  $<1.8$   $\mu\text{g/dl}$ ), a 2/28 (7%) pacjentów po drugiej operacji transfenoidalnej przysadki. Całkowity wskaźnik uzyskania remisji po operacjach neurochirurgicznych wyniósł 89%. Jeden pacjent nie został włączony do analizy po zabiegu neurochirurgicznym z powodu braku obserwacji. Wskaźnik remisji po pierwszym TSS (TSS1) wykonanej przez tego samego neurochirurga z IPCZD wyniósł 83.3% (20/24 pacjentów), po drugim TSS (TSS2) 8.33% (2/24 pacjentów), łącznie 91.67%.

W momencie ostatniej obserwacji: 18 pacjentów (62%) uzyskało długoterminową remisję po TSS1, 2 pacjentów (6.9%) po TSS2, 1 pacjent (3.4%) po radioterapii przeprowadzonej po zabiegach neurochirurgicznych, a 3 pacjentów (10.3%) po obustronnej adrenalektomii. Jeden pacjent (3.4%) zmarł na skutek komplikacji pooperacyjnych po TSS2, jeden pacjent (3.4%) miał chorobę przetrwałą, u 1 pacjenta (3.4%) nie udało się przeprowadzić długoterminowej obserwacji. Nawrót choroby wystąpił u 4 z 28 pacjentów (14%) w średnim czasie 3.6 lat od skutecznego leczenia. Jeden pacjent (3.4%) był operowany z powodu zespołu Nelsona, który wystąpił po obustronnej adrenalektomii. Dwóch pacjentów (6.9%) miało podejrzenie nawrotu choroby na koniec obserwacji. W momencie ostatniej oceny: 17 pacjentów (63%) było leczonych lewotyroksyną od momentu skutecznego leczenia, 16 pacjentów (59%) stosowało leczenie hydrokortyzonem, 10 pacjentów (37%) stosowało hormonalną terapię zastępczą, 4 pacjentów (15%) – desmopresynę. Na podstawie danych z ostatniej oceny klinicznej w IPCZD, niedoczynność przysadki w zakresie tyreotropiny stwierdzono u 73.9% pacjentów, w zakresie adrenokortykotropiny u 56.2% pacjentów, gonadotropin u 43.4%, a hormonu antydiuretycznego u 21.7% pacjentów.

4.2 Nie stwierdzono czynników predykcyjnych nawrotu CD na poziomie istotności statystycznej  $P < 0.05$ . Biorąc pod uwagę dłuższy FU, dwa czynniki: średnie stężenie kortyzolu w nocy i max. stężenie ACTH po teście z oCRH były najbliżej ( $P = 0.10$ ) poziomu istotności

statystycznej. Stwierdzono istotną wartość progową ( $P < 0.001$ ) średniego kortyzolu w surowicy w nocy, a najlepsza wartość odcięcia dla rozróżnienia remisji i nawrotu wyniosła 17.5  $\mu\text{g/dl}$  (czułość 70%, swoistość 100%), pole pod krzywą ROC (AUC) wyniosło 0.81. Wykryto, że stężenie ACTH poniżej 98 pg/ml (po teście z oCRH) stanowiło najlepszą wartość odcięcia rozróżniającą pacjentów z długoterminową remisją od pacjentów z nawrotem choroby (czułość 63.2%, swoistość 100%,  $P=0.07$ ,  $\text{AUC}=0.70$ ).

4.3 W żadnej z próbek zbadanych genetycznie nie wykazano wariantu patogennego w znanym regionie hotspot genu *USP8*. W regionie tym zidentyfikowano jeden rzadki synonimiczny wariant (c.2154C>T / p.Ser718= / rs1261832527 / 0.0007%). Wokół obszaru hotspot genu *USP8* zidentyfikowano także nowy wariant typu *missense* (przewidywany jako łagodny przy użyciu narzędzia PolyPhen in silico - <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>): wariant p.Thr723Ile utworzony przez przejście w pozycji 2168 C na T (c.2168C>T).

4.4. Jeśli chodzi o analizę jakości życia, uczestnicy (10 kobiet i 8 mężczyzn) byli w średnim wieku 28.93 lat (19.75-40.33). Nie stwierdzono istotnej różnicy w QoL między analizowanymi pacjentami a grupą kontrolną. U pacjentów z niedoczynnością przysadki wykazano niższe wyniki w domenie 4 (środowisko funkcjonowania) w porównaniu z pacjentami bez niedoczynności przysadki ( $P = 0.31$ ) oraz niższe wyniki w domenie 2 (dziedzina psychologiczna) w porównaniu z grupą kontrolną ( $P = 0.045$ ). U pacjentów starszych w momencie wystąpienia choroby stwierdzono niższe wyniki QoL w domenie 1 (zdrowie fizyczne) ( $P = 0.031$ ).

## 5. WNIOSKI

5.1 Nawrót choroby Cushinga może wystąpić nawet po długim czasie od skutecznego leczenia.

5.2 Długoterminowa obserwacja pacjentów po leczeniu choroby Cushinga w dzieciństwie wskazuje na obecność deficytów hormonalnych u znacznej liczby pacjentów, co może być spowodowane bardziej rozległą operacją przysadki skutkującą wysokim wskaźnikiem remisji. Ponadto, analizowany materiał pochodzi z długiego okresu, kiedy dostępność metod diagnostycznych (np. cewnikowanie zatok skalistych) i techniki operacyjne nie były idealne, szczególnie u pacjentów z pierwszych lat analizy.

5.3 Istnieje możliwość, że średnie stężenie kortyzolu w nocy oraz wartości ACTH w teście z oCRH wykonanym przed TSS mogą być pomocne jako predyktory nawrotu choroby

po skutecznym leczeniu. Dalsze badania na większej próbie pacjentów są potrzebne, aby potwierdzić tę hipotezę.

5.4 Prezentowane badanie dowodzi, że warianty patogenne w genie *USP8* mogą nie być powszechną przyczyną choroby Cushinga w badanej populacji dzieci i młodzieży. Wiedza o molekularnym podłożu gruczolaków kortykotropowych przysadki wciąż nie jest do końca poznana.

5.5. W długoterminowej ocenie QoL pacjentów po leczeniu CD w dzieciństwie nie różni się istotnie od QoL osób zdrowych w tym samym wieku i płci. Niezbędne są dalsze badania, aby poszerzyć wiedzę na temat czynników, które mogą wpływać na jakość życia pacjentów z CD leczonych w dzieciństwie