

Hipogonadizem po zdravljenju raka v otroštvu

L. Zadavec Zaletel in N. Bratanič

Izvleček

Preživetje otrok z rakom se je v zadnjih desetletjih močno povečalo. Zdravljenje otroškega raka lahko povzroči posledice na različnih organih in organskih sistemih, tudi na spolnih žlezah. Ker je pričakovana življenjska doba mladih bolnikov dolga, so v zadnjih letih raziskave poznih posledic zdravljenja raka v otroštvu v ospredju zanimanja. Namen naše raziskave je bil ugotoviti pogostnost hipogonadizma pri populaciji ozdravljenih bolnikov, ki so se zaradi raka v otroštvu zdravili v Sloveniji od 1965 do 1995, in dejavnike tveganja za hipogonadizem pri teh bolnikih. **Preiskovanci in metode:** V študijo smo vključili 297 preiskovancev (115 žensk in 182 moških). Ob diagnozi malignega obolenja so bili stari 0 do 16 let (mediana 9 let), hormonsko testiranje pa so imeli 3 do 32 (med. 11,5) let po končanem zdravljenju v starosti 14 do 42 (med. 20) let. Večina (90 %) bolnikov je imela kombinirano zdravljenje, ki je vključevalo 2 ali 3 načine zdravljenja (operacijo (OP), kemoterapijo (KT), obsevanje (RT)). Največji delež bolnikov je imel kombinacijo zdravljenja s KT in RT (41 %). Delovanje spolnih žlez smo ovrednotili z anamnestičnimi podatki, s kliničnim pregledom in z laboratorijskim testiranjem (test GnRH). Za vrednotenje dejavnikov tveganja za hipogonadizem po zdravljenju raka v otroštvu smo uporabili multivariatno analizo – model klasifikacijskega odločitvenega drevesa, s katerim lahko istočasno študiramo vpliv posameznih neodvisnih spremenljivk in njihove medsebojne povezave na odvisno spremenljivko. **Rezultati:** Primarni hipogonadizem (PH) smo ugotovili pri 76 (26 %) preiskovancih, in sicer pri 62 (34 %) moških in pri 14 (12 %) ženskah. Velik delež PH so imeli bolniki, ki so se zdravili zaradi Hodgkinove bolezni (HB) ali tumorja kličnih celic (GCT) (50 %). Veliko tveganje za PH je imela skupina moških bolnikov, zdravljenih zaradi HB s KT (72 %), in skupina bolnikov, zdravljenih z RT medenice in KT, ki je vključevala tudi alkilirajoče agense (KT z AA) (79 %). Veliko tveganje za okvaro in disfunkcijo kličnega epitelijskega testisov so imeli bolniki, zdravljeni z RT medenice in KT z AA. Veliko tveganje za okvaro in disfunkcijo jajčnikov so imele bolnice, zdravljene zaradi GCT (89 %), in tiste, ki so bile zdravljene z RT medenice (50 %). Ugotovili smo, da je KT po shemi LOPP (levkeran in prednison) manj gonadotoksična za testise kot MOPP (nitrogen mustard, vinkristin, prokarbazin in prednison). Pri moških preiskovancih je bil odmerek ciklofosfamida 20 g/m² in platinola 1 g/m² združljiv z normalnim delovanjem kličnega

Raziskavo je denarno omogočilo Ministrstvo za znanost in tehnologijo

epitelijskega testisov. Ugotovili smo možnost pojava blage stopnje okvare jajčnikov oz. LC (Leydigovih celic) po KT z aktinomycinom D in vinkristinom, sicer pa po KT z antibiotiki, antimetaboliti (razen ara-C) in inhibitorji delitvenega vretena nismo ugotavljali pojava PH. Ugotovili smo možnost vpliva RT glave na nastanek primarne okvare gonad prek še neznanega mehanizma. **Sklep:** Okvara spolnih žlez po zdravljenju raka v otroštvu je pogosta, zato je testiranje delovanja spolnih žlez pri mladostnikih, zdravljenih zaradi raka v otroštvu, nujno. Jajčniki so za škodljivo delovanje KT in RT manj občutljivi kot testisi. V večji meri jih okvari RT medenice kot KT z AA, testisi pa so občutljivejši za kvarni učinek KT z AA. Po zdravljenju lahko pride do popravka poškodbe jajčnikov in kličnega epitelijskega testisov, z daljšanjem časa opazovanja nad 10 let pa se stopnja njihove okvare ne spreminja. KT z AA lahko povzroči sicer redko klinično pomembno disfunkcijo in okvaro LC.

Uvod

Preživetje otrok z rakom se je v zadnjih desetletjih močno povečalo. Zdravljenje otroškega raka je večinoma kombinirano (vključuje kirurgijo, kemoterapijo in obsevanje) in lahko povzroči posledice na različnih organih in organskih sistemih, tudi na žlezah z notranjim izločanjem (1). Ker je pričakovana življenjska doba mladih bolnikov dolga, pogostnost posledic bolezni in zdravljenja pa narašča z opazovalno dobo, so v zadnjih letih raziskave poznih posledic zdravljenja raka v otroštvu v ospredju zanimanja.

Hipogonadizem je najpogosteje posledica neposredne poškodbe s kemoterapijo (KT), radioterapijo (RT) in/ali operativnim posegom. Redkeje je vzrok poškodba hipotalamusa in/ali hipofize zaradi možganskega tumorja in/ali zdravljenja (1).

Fiziologija delovanja spolnih žlez

Moški:

Glavni moški spolni hormon je testosteron (T). Večinoma ga sintetizirajo Leydigove celice (LC) v testisu (2). Glavni regulator sinteze T je hipofizni hormon LH (luteinizirajoči hormon). Zvišanje androgenov v plazmi zavre izločanje LH neposredno z delovanjem na hipofizo in verjetno zaviralno učinkuje tudi na ravni hipotalamusa. V perifernih tkivih se T spremeni v močnejši androgen dihidrotestosteron (DHT) ter v ženska spolna hormona estron in estradiol (E₂). T in DHT izvajata njune biološke učinke z vezavo na enake androgene receptorje v tarčnih tkivih.

Spermatogeneza je kompleksen proces, ki vključuje različne parakrine dejavnike in krožeče hormone. Glavna regulatorja sta hipofizna hormona LH in FSH (folikel stimulirajoči hormon). FSH deluje neposredno na semenske kanalčke, LH pa na nastanek sperme vpliva prek stimulacije T. FSH v Sertolijevih celicah spodbuja tvorbo beljakovine, ki veže androgene in omogoča vzdrževanje visoke koncentracije T v semenskih kanalčkih. FSH je potreben za začetek in vzdrževanje spermatogeneze. Za polno dozorevanje spermijev pa je potreben tudi T. Sertolijeve celice zagotavljajo hrano in tvorijo pregrado »testis-kri«, ki ščiti semenske kanalčke. Imajo specifične membranske receptorje za FSH. Izločajo tudi nesteroidno snov inhibin, ki selektivno zavira izločanje FSH na ravni hipofize in Gn-RH (gonadotropine sproščujoči hormon) na ravni hipotalamusa. T, DHT in estradiol tudi lahko zavirajo izločanje FSH.

Ženske:

Ovarijski folikel je mesto tvorbe spolnih hormonov in sproščanja spolnih celic (jajčec). Tako sta tvorba ženskih spolnih hormonov in reproduktivno-ovulatorna funkcija koordinirani ter medsebojno tesno povezani, v nasprotju z moškimi, pri katerih sta endokrina in reproduktivna funkcija lahko ločeni (2). Tvorbo spolnih hormonov (estrogeni, progesterini, androgeni) uravnava predvsem hipofizna hormona LH in FSH. LH stimulira v celicah teke interne tvorbo androgenov, ki se pod vplivom FSH in LH pretvorijo v estrogene v celicah granuloze. Ob nastopu pubertete se prek koordinacije hipotalamusa, hipofize, jajčnikov in matrice začne ciklična menstruacija. Ob rojstvu je v jajčniku približno 10^6 oocitov, postopna atrezija zmanjša to število v puberteti na 400.000, ob menopavzi pa jih je le še nekaj. Ciklično sproščanje FSH in LH povzroči ciklično izločanje spolnih steroidov, kar se kaže v cikličnem dozorevanju foliklov in menstrualnem ciklu.

Okvara testisov zaradi ionizirajočega sevanja

Klični epitelij testisov lahko okvarijo že majhni odmerki RT. Od kličnih celic so najbolj občutljivejši spermatogoniji tipa A in B (3). Te občutljive celice lahko uniči že enkratni odmerek RT, velik 15 cGy. Spolne celice v poznejših stopnjah spermatogeneze, npr. spermatociti, spermatide in spermatozoji, so manj občutljive za ionizirajoče sevanje (potreben je enkratni odmerek 200 cGy in večji) (4). Po obsevanju se preživele klične celice (spermatogoniji zgodnjega tipa A) razvijejo v bolj radiosenzitivne klične celice. Zato je frakcionirana RT (RT, aplicirana v več manjših odmerkih) lahko škodljivejša, ker izprazni zalogo kličnih celic (4). Stopnja okvare spermatogeneze in čas, ko pride do njenega popolnega okrevanja, sta odvisna od velikosti odmerka RT na testis. Trajanje azoospermije je verjetno odvisno od števila uničenih spolnih kličnih celic. Po enkratnem odmerku na testis, ki je manjši od 100 cGy, pride do okrevanja spermatogeneze v 9–18 mesecih, po odmerku 200–300 cGy v 30 mesecih in po odmerku 400–600 cGy v več kot 5 letih (lahko celo po več kot 10 letih). Enkratni odmerki, ki so večji od 600 cGy, povzročijo nepovratno okvaro spermatogeneze. Po frakcionirani RT pa lahko že skupni odmerek, večji od 150 do 200 cGy, povzroči dokončno azoospermijo (5). Oligospermija ali azoospermija

se lahko pojavita že med RT oz. največkrat 2–3 mesece od začetka RT (5).

Leydigove celice so za toksično delovanje RT manj občutljive kot klične celice. Za okvaro LC je potreben večji frakcionirani odmerek *ionizirajočega sevanja* (nad 1500 cGy) kot za okvaro spermiogeneze (nad 100 cGy), zato pride do klinično pomembne okvare LC le po neposrednem obsevanju testisov. LC so v predpubertetnem obdobju za toksično delovanje RT najbolj občutljivejši (6). Okvara LC se lahko razvije v nekaj letih po RT, navadno pa ne pride do popravka delovanja LC (6). Po nižjih odmerkih ionizirajočega sevanja (nad 75 cGy) pa lahko pride do disfunkcije LC (kompenzirana insuficienca LC z normalno ravnijo T).

Pri obsevanju so testisi redko neposredno v obsevalnem polju, večinoma so izpostavljeni sipanemu sevanju (npr. pri obsevanju trebuha). Prehodno oligospermijo in dvig FSH so ugotovili že pri bolnikih, ki so po RT trebuha zaradi Hodgkinove bolezni (HB) na testise prejel odmerek, večji od 20 cGy; odmerek reda velikosti 100–300 cGy pa lahko povzroči dokončno azoospermijo (5). Manjši je odmerek sipanega sevanja na testise ob njihovem dodatnem ščitenju (odmerek < 50 cGy), kar je združljivo z njihovim normalnim delovanjem. Testisi so neposredno v obsevalnem polju pri RT le-teh ob infiltraciji z levkemičnimi celicami pri bolnikih z levkemijo (L) (običajni frakcionirani odmerek 2000–2400 cGy) in pri RT vsega telesa pred presaditvijo kostnega mozga (običajni frakcioniran odmerek 1200–1500 cGy). Po tako velikih odmerkih RT na testise pride do dokončne azoospermije in tudi do disfunkcije LC (z normalnim izločanjem T), pri odmerkih nad 2000 cGy pa lahko pride tudi do takšne poškodbe LC, ki vodi v zmanjšano izločanje T in zapoznel razvoj sekundarnih spolnih znakov.

Okvara testisov zaradi kemoterapije

Od citostatikov so za tkivo testisov najbolj toksični alkilirajoči agensi (AA), ki se uporabljajo za zdravljenje številnih rakov v otroški dobi. Citostatiki iz te skupine so ciklofosfamid (Cy), busulfan, melfalan, nitrogen mustard (NM), DTIC, preparati nitrozouree (CCNU, BCNU), prokarbazin, ifosfamid. AA okvarijo predvsem pozne (diferencirajoče) spermatogonije in zgodnje spermatocite ter manj zrele spermatozoje, medtem ko antimetaboliti delujejo toksično predvsem na spermatide. Pri zdravljenju raka v otroštvu se večinoma uporablja KT z več citostatiki hkrati, zato je težko ugotoviti, kakšen je učinek posameznega citostatika na spolne žleze. Po navadi je za pojav azoospermije potreben skupni odmerek Cy, večji od 10 g/m^2 , ugotovili pa so celo normospermijo po monokemoterapiji s Cy v skupnem odmerku 21 g/m^2 . Za zdravljenje HB se je pogosto uporabljala KT po shemi MOPP (nitrogen mustard (NM), vinkristin (VCR), prokarbazin (PBZ) in prednison). NM in PBZ lahko v odvisnosti od doze povzročita aplazijo kličnih celic. Šest ali več ciklov KT po tej shemi povzroči azoospermijo v 80–90 %. KT po shemi OPPA (VCR, prednison, PBZ in adriamicin) ali COPP (Cy, VCR, PBZ, prednison) povzroči azoospermijo pri približno polovici bolnikov. Kemoterapija po shemi ABVD (adriamicin, bleomicin, vinblastin in DTIC), ki se uporablja za zdravljenje HB, po navadi ne povzroči trajne

azoospermije. Okvara spermiogeneze po KT je lahko le prehodna, saj lahko pride do okrevanja v obdobju do 10 let po končanem zdravljenju). Po zdravljenju s KT, ki vsebuje AA, lahko pride tudi do disfunkcije LC (z normalnim izločanjem T).

Metaanaliza 30 študij, ki so analizirale delovanje spolnih žlez po zdravljenju ledvičnih obolenj s Cy ter po zdravljenju HB in levkemije v otroštvu s kombinirano KT, je pokazala, da je okvara gonad pogostejša po zdravljenju v obdobju spolne zrelosti kot v predpubertetnem obdobju. Pogosteje se pojavi pri moških (7).

V **jajčniku** je folikel mesto tvorbe spolnih hormonov in sproščanja spolnih celic, zato pride ob poškodbi do okvare reproduktivnega in endokrinega delovanja. V nasprotju s testisi v jajčniku ni ključnih spolnih celic, podobnih spermatogonijem, ki bi se lahko obnovile. Preliminarni stadiji oogeneze so končani kmalu po rojstvu, pglavitni del celične populacije v jajčniku so oociti v mirujočem stadiju profaze.

Okvara jajčnikov zaradi ionizirajočega sevanja

Ionizirajoče sevanje povzroči okvaro delovanja jajčnika, odvisno od skupnega odmerka in starosti. Zaradi anatomske lege v medenici so jajčniki pri obsevanju trebuha večkrat v obsevalnem polju ali v njegovi neposredni bližini kot testisi. RT igra pomembno vlogo pri nastanku neplodnosti deklet po zdravljenju zaradi raka v otroštvu.

Ohranitev delovanja jajčnika je odvisna od sposobnosti, da se poškodba posameznega oocita popravi, zato je okvara po RT z več manjšimi frakcijami manjša od tiste po RT z večjo frakcijo, ker je več možnosti, da bi se poškodba med dvema manjšima frakcijama popravila (3).

Pomemben vir informacij o delovanju ionizirajočega sevanja na jajčnike je bilo fracionirano obsevanje jajčnikov, ki je želelo izzvati zgodnjo menopavzo (sterilizacijo). Tako je za sterilizacijo žensk po 40. letu starosti zadostoval 400–700 cGy velik odmerek RT na jajčnike (v 4 frakcijah), za mlajše ženske je bil potreben fracioniran odmerek velikosti 1250–1500 cGy (4), pri mlajših od 10 let celo 2000 cGy (8). Nižji odmerki ionizirajočega sevanja na jajčnike lahko povzročijo prehodno motnjo menstrualnega cikla, ki traja nekaj mesecev ali več let. Z okvaro jajčnikov je povezan tudi zapoznel pubertetni razvoj. S kirurškim premikom ovarijev iz RT-polja ali na njegov rob (ovaropektija) in z dodatno svinčeno zaščito tako premaknjenih jajčnikov med RT je možno zmanjšati odmerek na jajčnike za 80–90 %, če ne gre za RT medenice ali vsega trebuha. Tako je možno ohraniti ovarijsko delovanje. Jajčniki so v RT-polju ali blizu njega pri obsevanju bezgavk pod prepono pri HB, pri RT trebuha zaradi Wilmsovega tumorja, tumorjev zarodnih celic, pri RT vsega telesa pred presaditvijo kostnega mozga in pri RT vsega spinalnega kanala pri nekaterih možganskih tumorjih.

Okvara jajčnikov zaradi kemoterapije

Jajčniki so za škodljivo delovanje *citostatikov* manj občutljivi kot testisi (spermiogeneza). Za škodljivo delovanje KT so najbolj občutljivejši rastoči in predovulatorni folikli, zato so jajčniki v predpubertetnem obdobju po KT manj okvarjeni

kot v pubertetnem obdobju (9). Od citostatikov so najbolj toksični alkilirajoči agensi, okvara jajčnikov pa je odvisna od velikosti odmerka citostatikov in od bolničine starosti (10). V največ študijah so analizirali učinek KT, ki se uporablja za zdravljenje HB. Za jajčnike je, podobno kot za testise, najškodljivejša KT po shemi MOPP ali MVPP. Ta vrsta KT (≥ 6 ciklov) lahko povzroči ovarijsko insuficienco z amenorejo pri približno 10 % bolnic, zdravljenih v otroštvu, KT po shemi ABVD pa ne povzroča ovarijske insuficience. KT, ki se uporablja za zdravljenje levkemije, po navadi ni gonadotoksična, so pa ugotavljali amenorejo po KT, ki je vključevala busulfan.

Po zdravljenju deklet v adolescenci s KT, ki je vsebovala cisplatin, so ugotovili trajno ali prehodno ovarijsko insuficienco po odmerku, večjem od 500 mg/m². Tudi po zdravljenju z etopozidom (VP-16) so opazovali motnjo v delovanju jajčnikov.

Pri zdravljenju otroških malignomov se čedalje pogosteje uporablja tudi zdravljenje s presaditvijo kostnega mozga. Po KT z visokimi odmerki busulfana (16 mg/kg) in Cy (200 mg/kg) se pojavi navadno nepovratna ovarijska insuficienca, tako pri mlajših kot pri starejših bolnicah. Pri dekletih, ki so zdravljeni z alkilirajočimi agensi in/ali RT pod prepono, obstaja možnost za začetek zgodnje menopavze. Byrne s sodelavci je ugotovila menopavzo v starosti 31 let pri 42 % bolnic, ki so imele v otroštvu KT z AA in RT pod prepono (11).

Velikokrat so otroci z rakom zdravljeni s kombinacijo več načinov, zaradi česar so močnejši tudi stranski učinki. Tako se stranski učinki citostatikov in ionizirajočega sevanja na delovanje jajčnikov in testisov seštevajo.

Plodnost pri bolnikih, ki so preboleli raka v otroštvu

Analiza 2283 mladostnikov, ki so se zaradi raka zdravili v otroštvu, je pokazala, da je RT pod prepono zmanjšala plodnost pri obeh spolih za 25 %. KT z alkilirajočimi agensi (z RT ali brez nje pod prepono) je zmanjšala plodnost pri moških za 60 %, pri ženskah pa KT z AA plodnosti ni zmanjšala (12).

Hawkins in sod. (13) so preučevali rodnost 2083 žensk, ki so se v otroštvu zdravile zaradi različnih vrst raka. Rodnost pri tistih, ki so imele RT trebuha, je bila 22 %, pri tistih, ki ga niso imele, pa 41 %. Odstotek spontanah splavov ob prvi nosečnosti je bil večji pri tistih, ki so prej imele RT trebuha (22 % : 6 %).

Okvara hipotalamo-hipofizno-gonadne osi

RT glave, ki zajema hipotalamo-hipofizno os, lahko povzroči terciarni oz. sekundarni hipogonadizem.

Do okvare celic, ki izločajo gonadotropine, po navadi pride po RT hipofize in hipotalamusa s fracc. odmerkom, večjim od 3000 cGy, navadno po RT možganskih tumorjev in tumorjev nosnega žrela. Delež bolnikov s sekundarnim oz. terciarnim hipogonadizmom narašča z odmerkom ionizirajočega sevanja, predvsem z višanjem odmerka nad 5000 cGy (20–50 %) (14).

Obsevanje glave z nižjimi odmerki ionizirajočega sevanja (fracc. odmerek 1800–2400 cGy), ki se uporabljajo za

profilaktično obsevanje glave pri levkemijah, lahko povzroči prezgodnjo puberteto, kar je posledica prezgodnje aktivacije hipotalamo-hipofizno-gonadne osi zaradi dezinhibicije vplivov možganske skorje na hipotalamus. Prezgodnja puberteta po RT glave se pogosteje pojavi pri deklicah kot pri dečkih in pri tistih, ki so imeli zdravljenje v nižji starosti. Verjetnost pojava prezgodnje pubertete pa narašča tudi z odmerkom RT (15).

Preiskovanci in metode

Testiranje delovanja spolnih žlez smo opravili v letih od 1986 do 2002 pri 297 preiskovancih (115 žensk in 182 moških), ki so se zdravili zaradi raka od 1. 1. 1965 do 31. 12. 1995 v starosti 0 do 16 let na Pediatrični kliniki, v Kliničnem centru in/ali Onkološkem inštitutu. Ob diagnozi malignega obolenja so bili stari od 0 do 16 let (mediana 9 let), hormonsko testiranje pa so imeli 3 do 32 (med. 11,5) let po končanem zdravljenju v starosti 14 do 42 (med. 20) let. Preiskovanci so se zdravili zaradi levkemije (67), Hodgkinove bolezni (HB) (64), možganskega tumorja (48), NHL (38), sarkomov (36), Wilmsovega tumorja (18), tumorjev zarodnih celic (10), nevroblastoma (5), retinoblastoma (5), karcinoma nosnega žrela (3) in drugih tumorjev (3).

Obsevanje glave je imelo 100 bolnikov, RT nad prepono je imelo 59 bolnikov, RT zgornjega trebuha 31 bolnikov, RT medenice 51 bolnikov, RT testisov 2 bolnika, 54 bolnikov pa ni imelo obsevanja. Kemoterapijo je prejelo 242 bolnikov; 189 bolnikov je prejelo KT, ki je vsebovala alkilirajoče agense (AA), 53 bolnikov pa je prejelo KT brez AA.

Delovanje testisov in jajčnikov smo ovrednotili:

- z anamnestičnimi podatki o puberteti, menstruacijskem ciklu, rodnosti,
- s kliničnim pregledom (specialist endokrinolog),
- z laboratorijskim testiranjem: vrednost testosterona in estradiola v serumu, vrednost FSH in LH pred stimulacijo z GnRH in po njej.

Hormonsko testiranje delovanja spolnih žlez

Izmerili smo bazalno vrednost testosterona (RIA, IMUNOTECH), estradiola (DELFI A-LKB) in prolaktina v serumu. Določili smo serumske koncentracije LH in FSH (DELFI A-LKB) pred intravensko aplikacijo 100 mcg gonadotropin releasing hormona (GnRH) ter 10, 20, 30 in 60 minut po njej.

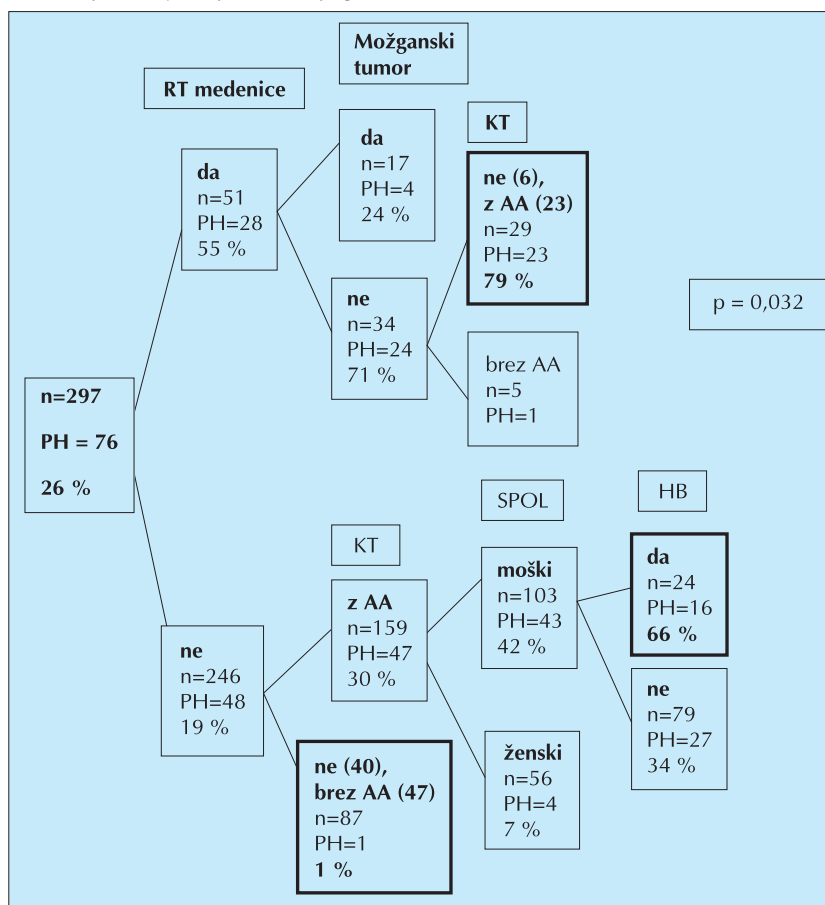
Pregled semenske tekočine (spermogram) smo opravili le pri tistih moških, ki so se za to odločili po našem priporočilu.

Primarni hipogonadizem (PH) smo opredelili kot zvišano bazalno raven FSH in/ali LH v serumu ter prekomeren odgovor FSH in/ali LH po stimulaciji z Gn-RH. Pri moških je zvišana raven bazalnega in stimuliranega FSH pomenila okvaro kličnega epitelijskega testisa (OKE), zvišana raven bazalnega in stimuliranega LH (z/brez znižane ravni testosterona) pa je pomenila okvaro Leydigovih celic (OLC). Povečano vrednost stimuliranega FSH/LH ob normalni vrednosti bazalnega FSH/LH in normalni vrednosti spolnega hormona v serumu smo opredelili kot **subklinično okvaro spolnih žlez (SOSŽ)**; pri moških v primeru prekomernega odgovora FSH na GnRH – disfunkcija kličnega epitelijskega testisa (DKE), v primeru prekomernega odgovora LH na GnRH – disfunkcija LC testisa (DLC). PH in SOSŽ skupaj smo imenovali **okvara spolnih žlez (OSŽ)**. Nizko raven bazalnega FSH in LH ter slab odgovor po GnRH pa smo imeli za **sekundarni hipogonadizem (SH)**.

Statistične metode

Za vrednotenje dejavnikov tveganja za hipogonadizem po zdravljenju raka v otroštvu smo uporabili multivariatno analizo – model klasifikacijskega odločitvenega drevesa

Slika 1: Rezultati modela klasifikacijskega drevesa pri 297 preiskovancih: odvisna spremenljivka primarni hipogonadizem.



PH – primarni hipogonadizem, RT – obsevanje, KT – kemoterapija, HB – Hodgkinova bolezen, KT z AA – KT, ki vključuje tudi alkilirajoče agense, KT brez AA – KT, ki ne vključuje alkilirajočih agensov.

(16), ki omogoča analizo (hkratnega) vpliva več neodvisnih spremenljivk na izid. Rezultat analize je grafično predstavljen v obliki drevesa, kar nam omogoča pregledno napovedovanje izida na podlagi vrednosti neodvisnih spremenljivk (slika 1.).

- Statistično obdelavo z metodo odločitvenih dreves smo naredili z naslednjo skupino neodvisnih spremenljivk in njihovimi vrednostmi:
- spol (ženski, moški),
- starost ob diagnozi,
- vrsta maligne bolezni,
- operacija (ne, op. zunaj trebuha, op. v trebuhu, orhiektomija ali ovariektomija),
- obsevanje (ne, RT možganov, RT nad prepono razen možganov, RT zgornjega trebuha, RT medenice, RT testisov),
- kemoterapija (ne, KT brez AA, KT z AA),
- čas opazovanja.

Kot odvisno spremenljivko smo uporabili: PH in OSŽ (to je PH in/ali SOSŽ) pri vseh bolnikih ter posebej pri ženskah in moških poškodbe kličnega epitelija (OKE in DKE) in poškodbe LC (OLC in DLC).

Izračunali smo tudi skupne odmerke posameznih citostatikov ($/m^2$), ki so jih naši preiskovanci prejeli med zdravljenjem, vendar teh vrednosti zaradi omejitve števila neodvisnih spremenljivk nismo mogli vključiti v statistično analizo.

Rezultati

Primarni hipogonadizem smo ugotovili pri 76 (26 %) preiskovancih, in sicer pri 62 (34 %) moških in 14 (12 %) ženskah.

Vsi razen enega moškega preiskovanca s PH so imeli okvaro kličnega epitelija (15 istočasno tudi okvaro LC, 30 istočasno tudi disfunkcijo LC), pri enem smo ugotovili okvaro LC in DKE. Pri 12 od 61 bolnikov z okvaro kličnega epitelija je bila narejena analiza spermograma; pri 11 bolnikih je bila ugotovljena azoospermija, eden je imel normalen spermogram.

Disfunkcijo LC smo ugotovili pri 54 bolnikih (pri 21 edina najdba), disfunkcijo kličnega epitelija testisa pa pri 9 bolnikih.

Vseh 14 bolnic s PH je imelo povečane vrednosti bazalnega FSH in FSH po stimulaciji, 5 jih je imelo povečan bazalni LH in LH po stimulaciji, 4 povečan LH po stimulaciji, 6 zmanjšane vrednosti estradiola. Od 4 bolnic s PH, ki so se zdravile v predpubertetnem obdobju, sta dve imeli pozno puberteto. Disfunkcijo jajčnikov smo ugotovili pri 11 bolnicah; vseh 11 je imelo povečane vrednosti LH po stimulaciji, 6 tudi FSH po stimulaciji. Vse so imel normalne vrednosti serumskega estradiola.

Največji delež PH (50 %) so imeli bolniki, zdravljeni zaradi HB in tumorjev zarodnih celic, najmanjšega pa tisti, ki so se zdravili zaradi možganskih tumorjev in levkemije (do 10 %). Največji delež PH (68 %) so imeli bolniki, zdravljeni s kombinacijo KT z AA in RT medenice. Velik delež (42 %) moških (in le 7 % žensk) je imel PH po KT z AA brez RT

medenice. Najmanjši delež PH so imeli tisti bolniki, ki so se zdravili do četrtega leta starosti, in sicer na račun deklet, od katerih v tem starostnem obdobju PH ni imela nobena. Pri moških je bil delež bolnikov s PH enakomerno razporejen v vseh starostnih skupinah, pri ženskah pa je bil delež PH manjši v skupini bolnic, ki so se zdravile v starosti 12 let in prej.

Hiperprolaktinemijo smo ugotovili pri dveh bolnicah. Obe sta imeli normalen izid testiranja Gn-RH, a neredno menstruacijo. Med zdravljenjem sta obe imeli RT glave.

Sekundarni hipogonadizem smo ugotovili pri 6 bolnikih, pri 3 v sklopu panhipopituuitarizma po zdravljenju tumorjev hipotalamusa (pri dveh) oz. meningeoma orbite (pri eni bolnici) z operacijo in RT (4400–5000 cGy), pri dveh po zdravljenju možganskih tumorjev z operacijo in RT (5500 oz. 6500 cGy), pri eni po zdravljenju L s KT in RT glave (3000 cGy).

Preiskovanci, ki so se zdravili v časovnem obdobju 1985–1995, so imeli PH v manjšem odstotku kot tisti, zdravljeni v prejšnjih obdobjih (18 % : 28 %).

Frekvenca primarnega hipogonadizma se je po začetnem nihanju po 10 letih opazovalne dobe ustalila na frekvenci 0,26. Iz tega je bilo razvidno, da okvara spolnih žlez po 10 letih opazovanja ni naraščala.

Obsevanje celotne glave v predpubertetnem obdobju je imelo 67 bolnikov z odmerkom 1200–4000 (med. 2400) cGy. Prezgodnjo puberteto je imelo 6 bolnikov: 5 deklet po zdravljenju L in en moški po zdravljenju NHL. Zdravljeni so bili s KT in RT glave, stari 5–8 let. Vsi so imeli odmerek ionizirajočega sevanja na glavo enak ali večji od 2400 cGy (2400–3400, med. 2400 cGy).

Od 297 bolnikov jih ima 77 (26 %) otroke (48 po enega, 27 po dva, 2 po tri).

Multivariatno analizo z metodo odločitvenih dreves smo opravili na skupini vseh bolnikov ter posebej na skupini moških in žensk (ločeno za odvisno spremenljivko PH in SOSŽ). Odločila sem se prikazati le eno od teh dreves (slika 1), ki je najbolj povedno; to je drevo, ki je v analizo vključilo vse bolnike, odvisna spremenljivka pa je bila primarni hipogonadizem. Najpomembnejši dejavnik tveganja za nastanek PH je bilo obsevanje medenice. Zdravljeni z RT medenice so imeli PH v 55 %, drugi pa v 19 %. Drugi najpomembnejši dejavnik, ki je razdelil skupino 51 bolnikov, ki so imeli RT medenice, je bila diagnoza, nadalje pa zdravljenje s KT.

Največje tveganje za nastanek PH (23 od 29 bolnikov) so imeli bolniki, ki se niso zdravili zaradi možganskega tumorja, so pa imeli RT medenice in KT z AA (23 bolnikov) ali pa KT niso prejeli (6 bolnikov). V skupini 246 bolnikov, ki niso imeli RT medenice, se je kot pomemben dejavnik tveganja za nastanek PH pokazala kemoterapija z AA, nadalje pa sta kot pomembna dejavnika tveganja izstopala še moški spol in diagnoza HB. Tako smo izmed tistih bolnikov, ki niso imeli RT medenice, opredelili skupino 24 bolnikov z največjim tveganjem za PH (66 %): to so moški, zdravljeni zaradi HB s KT z AA.

S to analizo smo opredelili tudi skupino bolnikov z najmanjšim tveganjem za PH. To je skupina 87 bolnikov, ki

niso imeli ne RT medenice in ne KT z AA (PH je imel le en bolnik iz te skupine, in sicer po RT testisov). Majhno tveganje za PH (7 %) je imela tudi skupina 56 žensk, ki so prejemale KT z AA, niso pa imele RT medenice. Moški, zdravljeni s KT z AA, a brez RT medenice, so imeli PH v 42 %, kar kaže, da je KT z AA pomembnejši dejavnik tveganja za PH pri moških kot pri ženskah.

S to statistično analizo smo ugotovili, da so pomembni dejavniki tveganja za nastanek PH RT medeničnega predela, KT z AA, moški spol in diagnoza HB.

Šestindeset bolnikov iz naše študije ni imelo niti KT z AA niti RT medenice ali testisov. Noben od njih ni imel PH. Od 46 je bilo 21 moških, 25 pa žensk. 34 bolnikov (19 moških in 15 žensk) je prejemale KT, ki je vsebovala antimetabolita metotreksat in 6-merkaptopurin, VCR, kortikosteroid z ali brez L-asparaginaze in adriamicina. 11 bolnikov (2 moška in 9 žensk) je prejemale KT z aktinomycinom D (AMD) in VCR z ali brez adriamicina. Eno dekle je prejemale KT z vinblastinom. Šest (3 moški in 3 ženske) od 49 bolnikov te skupine je imelo subklinično okvaro spolnih žlez (moški le disfunkcijo LC), kar 4 (2 moška in 2 ženski) po KT z AMD in VCR, dva pa po KT z vsaj 5 citostatiki. Antimetabolit ara-C je bil apliciran bolnikom v sklopu KT-shem, ki so vsebovale AA (predvsem Cy), zato vpliva tega citostatika na delovanje spolnih žlez nismo mogli oceniti. Torej se pri naših preiskovancih KT z antimetaboliti (razen ara-C), antibiotiki in inhibitorji delitvenega vretena ni pokazala toksična za klični epitelij testisa, predvsem AMD in VCR pa lahko povzročata blažjo okvaro jajčnikov in LC.

Kemoterapevtske sheme po navadi vsebujejo več citostatikov, zato ne moremo preučevati vpliva posameznega citostatika na spolne žleze. V naši raziskavi je največji skupni odmerek Cy 24g/m² prejel bolnik moškega spola v starosti 5 let zaradi retinoblastoma v sklopu KT-sheme, ki je vsebovala tudi vinkristin in adriamicin. Pri njem smo ugotovili znake OKE in DLC. Bolnik, ki se je zdravil v starosti 9 let zaradi kostnega sarkoma s KT, ki je vsebovala tudi 20 g/m² Cy, pa ni imel znakov okvare kličnega epitelija. Normalno delovanje testisov po zdravljenju s kombinirano KT smo ugotovili še pri enem od preiskovancev, ki je zaradi zdravljenja mehkočivnega sarkoma pri 8 letih skupaj prejel odmerek Cy 15 g/m², in pri treh drugih moških preiskovancih po KT, ki je vsebovala skupni odmerek Cy 11–12 g/m².

Največji skupni odmerek platinola (1 g/m²) je prejel bolnik moškega spola, ki se je zdravil pri 16 letih zaradi karcinoma nosnega žrela z RT lokalno in KT, ki je vsebovala platinol, vinblastin, metotreksat in bleomicin. Ohranil je normalno delovanje gonad.

Razprava

Naša študija je edina populacijska študija, ki je obravnavala okvaro spolnih žlez po zdravljenju raka v otroštvu, v Sloveniji in ena redkih v mednarodnem merilu (16). Z uporabo multivariatne analize odločitvenih dreves smo pridobili preglednejši in nazornejši prikaz skupin bolnikov z večjim ali manjšim tveganjem za okvaro spolnih žlez, hkrati pa smo študirali vpliv posameznih neodvisnih spremenljivk

in njihove medsebojne povezave na odvisno spremenljivko.

Ugotovili smo, da je bila pogostnost primarnega hipogonadizma pri 297 preiskovancih, vključenih v raziskavo, 26 %.

PH smo ugotovili pri 14 (12 %) bolnicah. Le 6 od teh je imelo amenorejo, 3 po bilateralni ovariektomiji zaradi GCT. Od ostalih 8 bolnic s PH je ena imela prehodno, 5 let trajajočo sekundarno amenorejo (sedaj ima neredne menstruacije), ena je po dveh porodih v zgodnji menopavzi (pri 38 letih), 6 jih ima neredne menstruacije, dve po enem oz. dveh porodih, ena po enem porodu ne more več zanositi. V večini študij so uporabljali izraz ovarijska insuficienca in so jo opredelili kot stanje z amenorejo, povečanimi vrednostmi gonadotropinov in zmanjšanimi vrednostmi estradiola (9). Torej je ovarijsko insuficienca (po taki opredelitvi) imelo le 6 naših preiskovank. Tako smo, podobno kot pri moških preiskovancih (predvsem pri oceni okvare LC), z okvaro jajčnikov zajeli tudi subtilnejšo stopnjo okvare jajčnikov, ki se ni pokazala kot klinično pomembna. Je pa verjetno, da bo pri teh bolnicah menopavza nastopila bolj zgodaj, kot bi sicer, kar se je pri eni od preiskovank zgodilo (11). Število primordialnih foliklov se pri ženskah namreč z leti stalno zmanjšuje, po onkološkem zdravljenju pa se število foliklov še dodatno zmanjša, zato se poveča »starost« jajčnikov in se plodno obdobje konča predčasno (16). Hiperekscitabilnost gonadne osi smo ugotovili pri 11 bolnicah. Vse imajo redno menstruacijski cikel, 5 jih je rodilo enega do tri zdrave otroke. Hiperekscitabilnost jajčnikov lahko nakazuje blažjo okvaro njihovega tkiva in možnost zgodnje menopavze, pri večini preiskovank pa se ne kaže kot klinično pomembna okvara ovarijev (16).

PH smo ugotovili pri 62 (34 %) moških preiskovancev. Skupina z velikim tveganjem (89 %) za okvaro in disfunkcijo kličnega epitelija testisov so bili tisti, ki so bili zdravljeni z RT medenice in KT z AA. Ugotovili smo, da v populaciji naših moških preiskovancev starost ob zdravljenju ni bila pomemben dejavnik tveganja za okvaro kličnega epitelija testisov. Rezultati različnih študij so si glede vpliva starosti bolnikov moškega spola ob zdravljenju na stopnjo okvare spolnih žlez nasprotujoči; nekateri niso ugotavljali vpliva starosti (17), drugi pa so opazovali manjšo okvaro spolnih žlez pri moških, zdravljenih v predpubertetnem obdobju (7). Ugotovili smo, da je KT po shemi LOPP manj gonadotoksična za testise kot MOPP, česar v literaturi nisem zasledila. Ugotovili smo tudi, da je pri moških preiskovancih odmerek ciklofosfamida 20 g/m² in platinola 1 g/m² združljiv z normalnim delovanjem kličnega epitelija testisov. Nekateri avtorji so poročali o azoospermiji pri vseh preiskovancih, ki so prejeli skupni odmerek ciklofosfamida, večji od 9–10 g/m², nekateri pa so ugotavljali možnost ohranitve normalnega delovanja testisov po odmerkih ciklofosfamida do 22 g/m², kar je skladno z našimi ugotovitvami (18). V literaturi pa nisem zasledila poročil o delovanju testisov po odmerku platinola nad 1 g/m².

Ugotovili smo možnost pojava blage stopnje okvare jajčnikov oz. LC po KT z AMD in VCR, sicer pa po KT z antibiotiki, antimetaboliti (razen ara-C) in inhibitorji delitvenega vretena pojava PH nismo ugotovili. Strokovnega

članka, v katerem bi ugotavljali morebitno toksičnost AMD na gonade, nisem zasledila.

Z našo študijo smo potrdili opažanja drugih raziskovalcev:

- Jajčniki so za škodljivo delovanje KT in RT manj občutljivi kot testisi (7, 12).
- Jajčnike v večji meri okvari RT medenice kot KT z AA, testisi pa so občutljivejši za kvarni učinek KT z AA (9, 12).
- Po zdravljenju lahko pride do popravka poškodbe jajčnikov in kličnega epitelijskega testisov, z daljšanjem časa opazovanja nad 10 let pa se stopnja njihove okvare ne spreminja (2, 6, 9).
- Okvara LC se z leti po zdravljenju progresivno veča (6).
- KT z AA lahko povzroči sicer redko klinično pomembno disfunkcijo in okvaro LC (2, 7).
- Delež bolnikov z okvaro spolnih žlez je največji po zdravljenju HB in GCT, kar je lahko deloma povezano s terapijo (KT-sheme za zdravljenje HB vsebujejo več AA, ovariectomija oz. orhiektomija pri bolnikih z GCT) in okvaro spermiogeneze pri bolnikih s HB pred začetkom zdravljenja (1, 2).
- Pojav prezgodnje pubertete po RT glave je odvisen od spola (večje tveganje pri dekletih) in odmerka ionizirajočega sevanja (večje tveganje pri večjem odmerku) (19).
- Možnost vpliva RT glave na nastanek primarne okvare gonad prek še neznanega mehanizma (15, 20).

Sklepi

Okvara spolnih žlez po zdravljenju raka v otroštvu je pogosta, zato je testiranje delovanja spolnih žlez pri mladostnikih, zdravljenih zaradi raka v otroštvu, nujno. Jajčniki so za škodljivo delovanje KT in RT manj občutljivi kot testisi. V večji meri jih okvari RT medenice kot KT z AA, testisi pa so občutljivejši za kvarni učinek KT z AA. Po zdravljenju lahko pride do popravka poškodbe jajčnikov in kličnega epitelijskega testisov, z daljšanjem časa opazovanja nad 10 let pa se stopnja njihove okvare ne spreminja. KT z AA lahko povzroči sicer redko klinično pomembno disfunkcijo in okvaro LC.

Viri

1. Müller J. Impact of cancer therapy on the reproductive axis. *Horm Res* 2003; 59: 12–20.
2. Sklar C. Reproductive physiology and treatment-related loss of sex hormone production. *Med Pediatr Oncol*. 1999; 33 (1): 2–9.
3. Greiner R. Wirkung der strahlen- und chemotherapie auf die gonadenfunktion. *Münch Med Wochenschr* 1985; 127 (37): 870–4.
4. Ash P. The influence of radiation on fertility in man. *Br J Radiol* 1980; 53: 271–8.
5. Sandeman TF. The effects of X irradiation on male human fertility. *Br J Radiol* 1966; 39: 901–7.
6. Shalet SM, Horner A, Ahmed SR et Morris-Jones PH. Leydig cell damage after testicular irradiation for lymphoblastic leukaemia. *Med Pediatr Oncol* 1985; 13: 65–68.
7. Rivkees SA et Crawford JD. The relationship of gonadal activity and chemotherapy-induced gonadal damage. *JAMA* 1988, 259: 2123–5.
8. Stillman RJ, Schiff I et Schinfeld J. Reproductive and gonadal function in the female after therapy for childhood malignancy. *Obstet Gynecol Surv*. 1982, 37 (6): 385–93.
9. Meister LA et Meadows AT. Late effects of childhood cancer therapy. *Current problems in pediatrics*, 1993.
10. Sklar CA, Mertens AC, Mitby P et al. Premature menopause in survivors of childhood: a report from the childhood cancer survivor study. *J Natl Cancer Inst* 2006, 98 (13): 890–6.
11. Byrne J, Mulvihill JJ, Myers MH et al. Effects of treatment on fertility in long-term survivors of childhood or adolescent cancer. *N Engl J Med* 1987, 317: 1315–21.
12. Hawkins MM et Smith RA. Pregnancy outcomes in childhood cancer survivors: probable effects of abdominal irradiation. *Int J Cancer* 1989, 43: 399–402.
13. The impact of cancer therapy on the endocrine system in survivors of childhood brain tumours. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11 (4): 589–602.
14. Byrne J, Fears TR, Mills JL et al. Fertility in women treated with cranial radiotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42 (7): 589–97.
15. Kononenko, I. Strojno učenje. Založba Fakultete za elektrotehniko in Fakultete za računalništvo in informatiko, Ljubljana. 2005.
16. Mustieles C, Munoz A, Alonso M et al. Male gonadal function after chemotherapy in survivors of childhood malignancy. *Med Pediatr Oncol* 1995, 24: 347–351.
17. et al. Reduced ovarian function in long-term survivors of radiation- and chemotherapy-treated childhood cancer. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88 (11): 5307–14.
18. Kenney LB, Laufer MR, Grant FD et al. High risk of infertility and long term gonadal damage in males treated with high dose cyclophosphamide for sarcoma during childhood. *Cancer* 2001; 91: 613–21.
19. Kakarla N et Bradshaw KD. Disorders of pubertal development: precocious puberty. *Semin Reprod Med*. 2003; 21 (4): 339–51.
20. Zaletel LZ, Bratanic N et Jereb B. Gonadal function in patients treated for leukemia in childhood. *Leuk Lymphoma*. 2004; 45 (9): 1797–802.