

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

TEZĂ DE DOCTORAT

Perspective în radioterapia metastazelor cerebrale și osoase

Doctorand **Patricia Delia Șuteu**

Conducător de doctorat Prof.dr. **Viorica Magdalena Nagy**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	15
1. Metastazele cerebrale	17
1.1. Epidemiologia și aspecte clinice ale metastazelor cerebrale	17
1.1.1. Date epidemiologice	17
1.1.2. Aspecte clinice și imagistice	18
1.2. Factori prognostici asociați metastazelor cerebrale	19
1.3. Rolul radioterapiei în tratamentul metastazelor cerebrale	25
1.3.1. Radioterapia cerebrală totală exclusivă	25
1.3.2. Radioterapia cerebrală totală adjuvantă chirurgiei	26
1.3.3. Radioterapia cerebrală totală asociată radioterapiei stereotaxice	27
1.3.4. Radioterapia cerebrală totală asociată cu boost 3D conformațional sau IMRT	27
1.4. Calitatea vieții pacienților cu metastaze cerebrale	28
1.4.1. Calitatea vieții la pacienții cu metastaze cerebrale radiotratate	29
2. Metastazele osoase	33
2.1. Epidemiologie și aspecte clinice ale metastazelor osoase	33
2.2. Fiziopatologie	33
2.3. Aspecte clinice	34
2.3.1. Durerea	34
2.3.2. Hipercalcemia	34
2.3.3. Fracturile patologice	34
2.3.4. Compresiunea medulară	35
2.4. Evaluarea imagistică a metastazelor osoase	35
2.5. Factori prognostici asociați metastazelor osoase	35
2.5.1. Tipul tumorii primare	36
2.5.2. Factorii prognostici comuni mai multor tumori primare	36
2.5.3. Factorii prognostici asociați tumorilor pulmonare	37
2.5.4. Factorii prognostici asociați tumorilor mamare	37
2.6. Opțiuni terapeutice pentru metastazele osoase	38
2.6.1. Rolul radioterapiei localizate în tratamentul metastazelor osoase- controversate și certitudini	38
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	43

1. Ipoteza de lucru/obiective	45
2. Studiul 1 - Factori prognostici asociați cu supraviețuirea la pacienții cu metastaze cerebrale	47
2.1. Introducere	47
2.2. Obiective	48
2.3. Material și metodă	48
2.4. Rezultate	51
2.5. Discuții	63
2.6. Concluzii	67
3. Studiul 2 - Supraviețuirea și calitatea vieții în radioterapia cerebrală totală asociată cu boost 3D conformațional	69
3.1. Introducere	69
3.2. Obiective	70
3.3. Material și metodă	71
3.4. Rezultate	74
3.5. Discuții	87
3.6. Concluzii	89
4. Studiul 3 - Factori prognostici asociați cu supraviețuirea și cu alegerea regimului de iradiere la pacienții cu metastaze osoase	91
4.1. Introducere	91
4.2. Obiective	92
4.3. Material și metodă	92
4.4. Rezultate	94
4.5. Discuții	103
4.6. Concluzii	105
5. Concluzii generale	107
6. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	111
REFERINȚE	113

Cuvinte cheie: metastaze cerebrale, metastaze osoase, factori prognostici, scor prognostic, radioterapie cerebrală totală, boost 3D conformațional

INTRODUCERE

Metastazele cerebrale și osoase sunt complicații frecvente în rândul pacienților oncologici, fiind corelate cu o morbiditate importantă. Prolungirea supraviețuirii pacienților a dus la o aparentă creștere a incidenței leziunilor metastatice. Acestea sunt responsabile de apariția complicațiilor care interferează cu activitatea zilnică a pacienților, afectându-le calitatea vieții, dar pot de asemenea influența în mod semnificativ supraviețuirea acestora.

Datorită heterogenității populației de pacienți cu metastaze osoase respectiv cerebrale (pacienții prezintă diferite localizări ale tumorii primare, cu particularități specifice, diferite aspecte ale bolii extracerebrale sau extraosoase – tumori primare controlate sau nu, alte situsuri metastatice), prognosticul este la fel de variat. Astfel, pentru o mai bună gestiune a fiecărui caz, orice mijloc prin care se poate estima și rafina prognosticul pacienților este binevenit.

În ceea ce privește opțiunile terapeutice, acestea sunt multiple, de la tratamente sistemice atât pentru metastazele cerebrale cât și pentru cele osoase, la tratamente localizate precum chirurgia, radioterapia, radioterapia stereotaxică. Alegerea metodei terapeutice se află de multe ori într-un echilibru dat de prognosticul pacientului, așteptările de la respectivul tratament, complicații, dar și posibilitățile logistice sau tehnice.

Nu în ultimul rând, pentru pacienții metastatici, un aspect important de punctat este obiectivul tratamentului. Astfel, pentru aceștia, un obiectiv important ar trebui să fie calitatea vieții. Evaluarea calității vieții nu este ușor de efectuat, ținând cont de multitudinea de factori care o pot influența, de la aspecte ce țin de progresia bolii cu apariția de noi simptome, până la efecte ale tratamentelor administrate.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Studiul 1. Factori prognostici asociați cu supraviețuirea la pacienții cu metastaze cerebrale

Obiective

1. identificarea factorilor prognostici clinici care influențează supraviețuirea generală (SG) a pacienților cu metastaze cerebrale.
2. elaborarea unui scor e baza factorilor prognostici identificați, denumit scor BM (brain metastases), pentru a grupa pacienții în clase prognostice care să faciliteze estimarea supraviețuirii.

Material și metodă

Studiul de față este o analiză retrospectivă pe o perioadă de 10 ani, în intervalul ianuarie 2007 și decembrie 2016, care a inclus un număr de 1363 pacienți cu metastaze cerebrale provenite de la orice localizare tumorală primară, care au efectuat iradiere cerebrală totală în cadrul Institutului Oncologic "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca.

Supraviețuirea globală la un an a fost calculată prin metoda Kaplan-Meier. Pentru analiza diferențelor de supraviețuire dintre subgrupe s-a folosit testul log-rank. Analiza multivariată a supraviețuirii a fost efectuată folosind modelul Cox al hazardului proportional.

Pentru a calcula scorul de supraviețuire BM pentru fiecare pacient, variabilele incluse în analiza multivariată au fost fiecare înmulțite cu coeficientul de ponderare corespunzător. Pacienții au fost divizați în 3 categorii prognostice în funcție de valoarea scorului: <5, între 5-6, >6 puncte

Rezultate

Supraviețuirea mediană a întregului lot de pacienți a fost de 5,6 luni. Ratele de supraviețuire globală la 1 și 2 ani au fost de 26 și 9%, respectiv.

Factorii prognostici independenți ai SG sunt: vârsta înaintată, sexul masculin, numărul crescut de metastaze cerebrale, absența controlului local al tumorii primare, un indice de performanță scăzut și prezența metastazelor extracerebrale au fost asociate cu un prognostic mai rezervat. În ceea ce privește tumora primară, fiecare localizare din cele analizate, considerată separat și comparată cu toate celelalte, a fost identificată ca factor prognostic semnificativ.

După gruparea pacienților în funcție de scorul BM, distribuția frecvenței scorului în populația de studiu este după cum urmează: majoritatea pacienților (42,4%) au avut un scor BM de 5-6, restul fiind relativ egal împărțiți între un scor <5 și respectiv > 6 (27,5 și respectiv 29,9%).

SG la un an scade semnificativ odată cu creșterea scorului BM. Pentru un scor BM <5, SG a fost de 56%, pentru un scor între 5 și 6, SG a fost de 21% și pentru scoruri > 6, SG a fost de 4% la 1 an. Supraviețuirea mediană a fost, de asemenea, semnificativ diferită între grupele de scor BM: 13,4 luni pentru scorul BM <5; 5,6 luni pentru scorul BM 5–6 și 2,2 luni pentru scor > 6.

Concluzii

Cele mai frecvente cancere asociate cu metastaze cerebrale sunt cancerul pulmonar, de sân, melanomul, cancerul renal, ginecologic și colorectal.

Supraviețuirea pacienților cu metastaze cerebrale se menține redusă cu valori de 26% SG la un an, 9% SG la 2 ani și o supraviețuire mediană de 5,6 luni.

Rezultatele studiului nostru au confirmat impactul mai multor factori de prognostic clinici, cunoscuți că afectează supraviețuirea pacienților cu metastaze cerebrale: vârsta înaintată, sexul masculin, indicele de performanță Karnofski, lipsa controlului local al tumorii primare, prezența metastazelor extracerebrale, precum și numărul situsurilor extracerebrale. În plus, studiul nostru evidențiază pentru prima dată influența tipului de tumoră primară asupra supraviețuirii într-o populație heterogenă de pacienți cu metastaze cerebrale și cu localizări primare variate.

Scorul BM pe care îl propunem este eficient în gruparea pacienților în funcție de prognosticul lor și poate ajuta la luarea deciziilor în ceea ce privește ajustarea tratamentului, pe baza caracteristicilor individuale.

Studiul 2. Supraviețuirea și calitatea vieții în radioterapia cerebrală totală asociată cu boost 3D conformațional

Obiective

1. evaluarea radioterapiei cerebrale totale în diferite regimuri de fracționare, asociată cu boost 3D conformațional la pacienți cu metastaze cerebrale, oligometastatici.
2. analiza calității vieții pacienților iradiați prin boost adăugat radioterapiei cerebrale totale, în sensul evidențierii unor eventuale modificări ale acesteia în urma tratamentului, comparativ cu situația de la baseline.

Material și metodă

În perioada 1 aprilie 2015 – 31 decembrie 2017 au fost incluși în studiu prospectiv pacienți adulți (>18 ani) care s-au adresat pentru tratament Institutului Oncologic “Prof. Dr. I. Chiricuță” Cluj-Napoca cu metastaze cerebrale unice sau multiple (≤ 4) inoperabile, după semnarea consimțământului informat. Pentru toți pacienții incluși, metastazele au fost evidențiate pe examinare RMN sau CT cerebral cu substanță de contrast.

Iradieră cerebrală totală s-a efectuat prin două câmpuri laterale și opuse la accelerator liniar cu fotoni de 6 MV. Boost-ul a fost administrat secvențial, la

terminarea iradierii cerebrale totale. Pacienții au fost reevaluați clinic și imagistic (CT sau RMN cu substanță de contrast) la interval de 2-3 luni de la terminarea iradierii.

S-a selectat retrospectiv un lot de 50 de pacienți cu caracteristici clinice similare (oligometastatici, inoperabili, cu vârstă cuprinsă între 40 și 80 ani, cu aceleași localizări ale tumorii primare), care au beneficiat de iradiere cerebrală totală fără boost între 1 ianuarie 2013-31 decembrie 2014.

Chestionarele EORTC QLQ-C30 și QLQ-BN20 traduse și adaptate în limba română au fost aplicate pacienților înainte de radioterapia cerebrală, la finalul acesteia, precum și la 2 luni după încheierea radioterapiei.

Pentru comparațiile factorilor prognostici s-a folosit testul chi². Pentru compararea chestionarelor QLQ-C30 și QLQ-BN20, medianele scorurilor normalizate au fost comparate prin testul Student. Curbele de supraviețuire au fost calculate cu metoda Kaplan Maier. Diferențele de supraviețuire în funcție de variabile au fost evaluate folosind testul log-rank.

Rezultate

Supraviețuirea mediană cu metastaze cerebrale în lotul de pacienți a fost de 4,43 luni, cu o minimă de 0,73 luni, și maximă de 78,53 luni.

Volumul total al metastazelor cerebrale sub 4,5 cm³ a fost asociat cu o rată a SG semnificativ superioară (78%) față de un volum tumoral peste 4,5 cm³ (7%) (p<0,01). Doza de iradiere la nivelul metastazelor a influențat semnificativ supraviețuirea, observându-se o diferență între dozele sub 54 Gy respectiv cuprinse între 54-60 Gy, în sensul în care o doză biologică echivalentă mai mare se asociază cu SG superioară.

Comparând lotul prospectiv de pacienți care au beneficiat de iradiere cerebrală totală+ boost 3D conformațional cu lotul de pacienți selectat retrospectiv care au efectuat exclusiv iradiere cerebrală totală, se observă că adăugarea unei doze suplimentare prin boost îmbunătățește SG la un an la 37%, față de 29% în absența boost-ului (p=0,11 NS).

Pacienții au completat integral chestionarele de evaluare a calității vieții QLQ-C30 respectiv QLQ-BN20 în proporție de 93%.

La chestionarele QLQ-C30, în ceea ce privește scorurile pe domenii, cu toate că s-au observat îmbunătățiri ale domeniilor calitatea vieții globale, funcție fizică, funcționarea ca rol, funcție cognitivă, socială și emoțională între baseline și finalul iradierii, singurul domeniu unde scorul s-a menținut semnificativ superior la 2 luni față de baseline este funcția emoțională. Similar, scorurile simptomatice individuale unde s-a remarcat o scădere semnificativă între baseline și finalul iradierii și care s-a menținut la 2 luni sunt cele referitoare la grețuri și vărsături, durere, respectiv apetit.

Scorurile din cadrul chestionarului QLQ-BN20 care au înregistrat creșteri semnificative între baseline și finalul iradierii, traduse prin accentuarea simptomatologiei, au fost cele pentru amețeală, prurit tegumentar și căderea părului. Dintre acestea, doar scorul pentru prurit a scăzut semnificativ la 2 luni față de baseline. Toate celelalte domenii și scoruri simptomatice au înregistrat scăderi semnificative

între baseline și finalul iradierii, însă doar unele s-au menținut semnificativ mai reduse și la 2 luni (nesiguranța cu privire la viitor, tulburările vizuale, cefaleea, convulsiile și slăbiciunea picioarelor).

Concluzii

Pacienții cu metastaze cerebrale, oligometastatici, care beneficiază de boost 3D asociat iradierii cerebrale totale au o supraviețuire globală superioară pacienților care efectuează iradiere cerebrală fără boost. Cu toate că diferența nu este semnificativă statistic, tendința este favorabilă iradierii cu boost.

Supraviețuirea este mai bună cu cât doza biologică echivalentă este mai mare la nivelul metastazelor.

Supraviețuirea mai bună a pacienților cu o singură metastază cerebrală și cu un volum lezional mai redus sugerează că această categorie de pacienți ar putea beneficia cel mai mult de suplimentarea cu boost 3D a radioterapiei cerebrale totale.

Deși multe domenii ale calității vieții nu au variat semnificativ post-radioterapie, s-a observat o tendință de îmbunătățire a domeniului calității vieții globale, mai probabil pe seama ameliorării câtorva scoruri simptomatice din chestionarul QLQ-C30, precum durerea, grețurile și vărsăturile, insomnia, apetitul, dar și din QLQ-BN20, precum cefaleea, convulsiile, tulburările vizuale și slăbiciunea musculară.

În unele domenii ale ambelor chestionare s-a observat o înrăutățire semnificativă a scorurilor la finalul iradierii față de baseline, ca de exemplu oboseala, amețeala, pruritul tegumentar și căderea părului. Dar este de remarcat ca toate acestea au revenit la valori apropiate de baseline la evaluarea de la 2 luni, ceea ce sugerează o afectare tranzitorie.

Singurul domeniu al chestionarului QLQ-C30 care a înregistrat o scădere la evaluarea de 2 luni, chiar dacă fără semnificație statistică, este funcția cognitivă. Acest efect al iradierii cerebrale totale cu boost este un aspect important de urmărit, mai ales la pacienții cu factori prognostici favorabili, supraviețuitori de lungă durată.

Rata de completare de 93% a chestionarelor de evaluare a calității vieții QLQ-C30 și QLQ-BN20 în lotul de pacienți reflectă caracterul compliant al acestora și dorința de colaborare.

Studiul 3. Factori prognostici asociați cu supraviețuirea și cu alegerea regimului de iradiere la pacienții cu metastaze osoase

Obiective

1. analiza caracteristicilor clinice și a tiparelor terapeutice la pacienții cu metastaze osoase care au efectuat radioterapie cu fracționare unică sau multiplă în cadrul Institutului Oncologic "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca.
2. identificarea de potențiali factori prognostici ai supraviețuirii globale cu metastaze osoase și de eventuali factori ce ar putea influența alegerea schemei de fracționare a radioterapiei paliative.

Material și metodă

În cadrul acestui studiu retrospectiv au fost analizați pacienții care au efectuat radioterapie paliativă la nivelul metastazelor osoase în cadrul Institutului Oncologic "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca în perioada 1 ianuarie 2014- 31 decembrie 2017, în total 582 de pacienți. Au fost incluși pacienți care au beneficiat fie de o singură secvență de iradiere, fie de mai multe secvențe de iradiere pe regiuni anatomice diferite. În vederea analizei univariate și multivariate, tipurile de radioterapie au fost clasificate în două categorii: fracțiune unică (SFRT) și fracționare multiplă (MFRT).

Pentru calculul curbelor de supraviețuire s-a folosit metoda Kaplan Meier, iar diferențele de supraviețuire dintre grupuri au fost evaluate prin testul log-rank. Variabilele care la analiza univariată au influențat semnificativ SG au fost incluse în modelul Cox al hazardului proporțional de analiză multivariată.

Rezultate

Lotul de pacienți analizat a fost reprezentat de 582 de pacienți care au efectuat 677 de cure de radioterapie paliativă pe un număr total de 829 de situsuri metastatice osoase.

SG la 1, 2 și 3 ani a întregului lot de pacienți a fost 36%, 23%, respectiv 15%. Supraviețuirea mediană a fost de 7.3 luni.

Următoarele variabile influențează semnificativ SG la 3 ani: vârsta, sexul, indicele de performanță, tipul tumorii primare, controlul tumorii primare, prezența metastazelor viscerale și în particular a metastazelor cerebrale, numărul metastazelor osoase (una vs multiple), prezența complicațiilor la nivelul metastazelor osoase. Fraționarea multiplă a radioterapiei a prelungit semnificativ SG față de iradierea SFRT (17% vs 12%).

La analiza multivariată, factorii care au influențat semnificativ SG la 3 ani au fost tipul tumorii primare, indicele de performanță, controlul tumorii primare, numărul metastazelor osoase, complicațiile asociate metastazelor osoase și prezența metastazelor cerebrale.

A fost analizat un total de 677 iradieri efectuate celor 582 de pacienți incluși în studiu. Analizând extremele perioadei, se observă o creștere a prescrierii SFRT de la 41% în anul 2014 la 51 % în anul 2017 ($p < 0,01$).

La analiza multivariată a factorilor care influențează alegerea schemei de iradiere se observă că tumorile uro-genitale și pulmonare au cele mai mici șanse să beneficieze de prescrierea MFRT, indicele de performanță progresiv mai slab și respectiv iradierea regiunii hemitoracice inferioare scad șansele prescrierii MFRT, în timp ce localizarea metastazelor osoase la nivelul coloanei vertebrale crește șansele iradierii MFRT (OR=2,1) ($p < 0,01$).

Concluzii

Pacienții cu metastaze osoase au avut în majoritatea cazurilor leziuni la nivelul coloanei vertebrale (61% din metastaze). Ponderea metastazelor osoase complicate cu

fracturi sau compresiune medulară a fost de 30%, dintre care cea mai mare parte au fost observate la pacienții cu cancere pulmonare, de sân și uro-genitale. De asemenea, majoritatea complicațiilor au apărut la metastazele de la nivelul coloanei vertebrale.

Supraviețuirea mediană a lotului de pacienți a fost 7,3 luni, iar supraviețuirea globală la un an, 2 și 3 ani a fost 36%, 23%, respectiv 15%. Supraviețuirea globală depinde de indicele de performanță al pacienților: cu cât acesta este mai scăzut, cu atât supraviețuirea diminuează. Complicațiile metastazelor osoase afectează de asemenea prognosticul pacienților. Controlul tumorii primare, cancerul de sân ca și tumoră primară și prezența unei metastaze osoase unice sunt factori prognostici favorabili pentru supraviețuire. Apariția metastazelor cerebrale ulterior celor osoase afectează semnificativ supraviețuirea pacienților.

Prescrierea iradierii SFRT comparativ cu schemele MFRT a crescut de la 41% în 2014 la 51% în 2017, reflectând tendințele internaționale de adoptare a regimurilor SFRT atunci când acestea au indicație.

Factorii prognostici care înclină balanța în favoarea alegerii unei scheme de iradiere SFRT sunt: localizarea tumorii primare- cancere urogenitale sau pulmonare, indicele de performanță mai scăzut și iradierea regiunii hemicorporeale inferioare.

Rata reiradierilor după o schemă MFRT a fost de 0,5%, comparativ cu 12% după SFRT. Rezultatele sunt comparabile cu datele publicate în literatură.

Pentru pacienții cu prognostic favorabil se pretează o schemă de iradiere de lungă durată, care poate asigura controlul durerii pentru un interval de timp mai mare, reducând necesarul unei eventuale reiradiere. Schemele de iradiere de tip SFRT rămân de elecție pentru pacienții cu prognostic mai rezervat.

Concluzii generale

Prognosticul pacienților cu metastaze cerebrale și osoase este unul rezervat. Supraviețuirea mediană cu metastaze cerebrale a fost de 5,6 luni, similar cu datele citate în literatură. Supraviețuirea globală cu metastaze cerebrale la un an și la doi ani au fost de 26%, respectiv 9%. Supraviețuirea mediană a pacienților cu metastaze osoase a fost de 7,3 luni, iar supraviețuirea globală la un an și la doi ani a fost 36%, respectiv 23%.

Factorii prognostici clinici care influențează semnificativ supraviețuirea globală a pacienților cu metastaze cerebrale au fost vârsta înaintată, sexul masculin, indicele de performanță Karnofski, lipsa controlului local al tumorii primare, prezența metastazelor extracerebrale, precum și numărul situsurilor extracerebrale. Pentru pacienții cu metastaze osoase, factorii prognostici clinici care se asociază cu supraviețuirea globală au fost indicele de performanță ECOG, numărul metastazelor osoase, complicațiile asociate metastazelor (fracturi, compresiune medulară), controlul tumorii primare, prezența metastazelor cerebrale și localizarea tumorii primare (alta decât cancerul de sân).

Scorul BM pentru estimarea prognosticului pacienților cu metastaze cerebrale pe care îl propunem este eficient în gruparea pacienților în funcție de prognosticul lor

și poate ajuta la luarea deciziilor în ceea ce privește ajustarea tratamentului, pe baza caracteristicilor individuale.

Chestionarele EORTC QLQ-C30 și QLQ-BN20 sunt instrumente ușor de utilizat pentru evaluarea calității vieții. Rata de completare de 93% a chestionarelor în lotul de pacienți cu metastaze cerebrale evaluat reflectă caracterul compliant al acestora și dorința de colaborare.

Deși multe domenii ale calității vieții nu au variat semnificativ post-radioterapie, s-a observat o tendință de îmbunătățire a domeniului calității vieții globale, mai probabil pe seama ameliorării câtorva scoruri simptomatice din chestionarul QLQ-C30, precum durerea, grețurile și vărsăturile, insomnia, apetitul, dar și din QLQ-BN20, precum cefaleea, convulsiile, tulburările vizuale și slăbiciunea musculară.

În unele domenii ale ambelor chestionare s-a observat o înrăutățire semnificativă a scorurilor la finalul iradierii față de baseline, ca de exemplu oboseala, amețeala, pruritul tegumentar și căderea părului. Dar este de remarcat ca toate acestea au revenit la valori apropiate de baseline la evaluarea de la 2 luni, ceea ce sugerează o afectare tranzitorie.

Singurul domeniu al chestionarului QLQ-C30 care a înregistrat o scădere la evaluarea de 2 luni, chiar dacă fără semnificație statistică, este funcția cognitivă. Acest efect al iradierii cerebrale totale cu boost este un aspect important de urmărit, mai ales la pacienții cu factori prognostici favorabili, supraviețuitori de lungă durată.

La pacienții cu număr redus de metastaze cerebrale (<4 leziuni), escaladarea dozei de iradiere prin boost asociat iradierii cerebrale totale aduce un beneficiu de supraviețuire față de iradierea cerebrală totală.

Prescrierea iradierii cu fracționare unică, comparativ cu schemele cu fracționare multiplă a crescut de la 41% în 2014 la 51% în 2017, reflectând tendințele internaționale de adoptare a regimurilor SFRT acolo unde acestea au indicație.

Factorii prognostici care înclină balanța în favoarea alegerii unei scheme de iradiere SFRT sunt: localizarea tumorii primare - cancere urogenitale sau pulmonare, indicele de performanță mai scăzut și iradierea regiunii hemicorporeale inferioare.

Rata reiradierilor după o schemă MFRT a fost de 0,5%, comparativ cu 12% după SFRT. Rezultatele sunt comparabile cu datele publicate în literatură.

Pentru pacienții cu metastaze osoase, având un prognostic favorabil (cei cu indice de performanță bun, având tumora primară controlată, cu metastază osoasă unică necomplicată, localizată la nivelul coloanei vertebrale și fără metastaze viscerale, în special cerebrale) se pretează o schemă de iradiere de lungă durată, care poate asigura controlul durerii pentru un interval de timp mai mare, reducând necesarul unei eventuale reiradiere. Schemele de iradiere de tip fracțiune unică rămân de elecție pentru pacienții cu prognostic mai rezervat (cei cu indice de performanță scăzut, cu tumori primare pulmonare în general și cu metastaze osoase multiple, localizate mai degrabă înafara coloanei vertebrale).

Pe baza acestor rezultate se poate elabora un protocol de selectare a schemei de iradiere a metastazelor osoase, pornind de la caracteristicile clinice care influențează atât supraviețuirea pacienților, cât și decizia de alegere a unei anumite scheme.

Întrucât supraviețuirea pacienților metastatici este limitată, evaluarea calității vieții acestora poate constitui un bun indicator al impactului tratamentului, respectiv

al progresiei bolii și ar trebui implementată sistematic pentru a avea o imagine complexă a statusului pacienților.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei

În cadrul acestui studiu ne-am propus în primul rând să analizăm factorii care influențează prognosticul pacienților cu metastaze cerebrale și osoase. Având în vedere că supraviețuirea acestor pacienți este limitată, se impune studiul caracteristicilor care grupează pacienții în categorii prognostice distincte, în vederea optimizării deciziei terapeutice, în sensul selectării cu acuratețe a acelor pacienți care prezintă un prognostic favorabil, și care ar putea beneficia cel mai mult de un tratament mai intens.

Originalitatea studiului rezidă în faptul că este primul din România care evaluează caracteristicile clinice și terapeutice ale pacienților metastatici cerebral respectiv osos, iar aportul la nivel internațional constă în elaborarea scorului prognostic BM pentru pacienții cu metastaze cerebrale. Acest scor este unul global, dar care face distincția între diferitele localizări ale tumorii primare.

O altă contribuție inovativă a studiului nostru este reprezentată de aplicarea protocolului de radioterapie cerebrală totală asociată cu boost 3D la pacienții oligometastatici cerebral, care a adus o îmbunătățire a supraviețuirii globale la acești pacienți, comparativ cu cei tratați cu iradiere cerebrală totală fără boost.

În urma analizei factorilor prognostici asociați cu metastazele osoase, rezultatele studiului nostru contribuie la consolidarea indicațiilor iradierii cu fracționare multiplă pentru categoriile de pacienți prezentând caracteristici clinice favorabile, în scopul menținerii cât mai îndelungate a efectului antialgic și reducerii necesarului reiradierilor.

Nu în ultimul rând, aplicarea chestionarelor de evaluare a calității vieții în rândul pacienților cu metastaze cerebrale este un demers unic în țara noastră, reflectând tendințele actuale de evaluare a metodelor terapeutice implementate nu doar prin prisma obiectivelor clasice în oncologie precum rata de răspuns tumoral, rata supraviețuirii globale sau a supraviețuirii fără semne de boală, ci și din perspectiva impactului direct asupra pacientului, atât a tratamentului, cât și a posibilelor complicații provocate de progresia bolii.

Numărul mare de pacienți incluși în analiză (1363 în studiul 1, respectiv 582 în studiul 3) conferă relevanță și importanță rezultatelor prezentate și plasează studiul nostru în rândul celor mai ample efectuate în acest domeniu la nivel internațional.

În ansamblu, aportul acestui studiu constă în obținerea unor rezultate care contribuie la îmbunătățirea perspectivelor terapeutice pentru pacienții cu metastaze cerebrale și osoase.

Ph.D. THESIS ABSTRACT

Perspectives in the radiotherapy of brain and bone metastases

Ph.D. Student **Patricia Delia Șuteu**

Ph.D. Coordinator Prof.dr. **Viorica Magdalena Nagy**



UMF

UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CONTENTS

INTRODUCTION	13
STATE OF THE ART	15
1. Brain metastases	17
1.1. Epidemiology and clinical aspects of brain metastases	17
1.1.1. Epidemiology	17
1.1.2. Clinical and imaging aspects	18
1.2. Prognostic factors associated with brain metastases	19
1.3. The role of radiotherapy in the management of brain metastases	25
1.3.1. Exclusive whole brain radiotherapy	25
1.3.2. Whole brain radiotherapy following surgery	26
1.3.3. Whole brain radiotherapy associated with stereotaxy	27
1.3.4. Whole brain radiotherapy associated with 3D or IMRT boost	27
1.4. Quality of life in patients with brain metastases	28
1.4.1. Quality of life in patients with irradiated brain metastases	29
2. Bone metastases	33
2.1. Epidemiology and clinical aspects of bone metastases	33
2.2. Physiopathology	33
2.3. Clinical aspects	34
2.3.1. Pain	34
2.3.2. Hypercalcemia	34
2.3.3. Pathologic fractures	34
2.3.4. Spinal cord compression	35
2.4. Imaging in bone metastases	35
2.5. Prognostic factors associated with bone metastases	35
2.5.1. Type of primary tumor	36
2.5.2. Prognostic factors common to several primary tumors	36
2.5.3. Prognostic factors associated with lung cancer	37
2.5.4. Prognostic factors associated with breast cancer	37
2.6. Treatment options for bone metastases	38
2.6.1. The role of localized radiotherapy in the treatment of bone metastases- facts and controversies	38
PERSONAL CONTRIBUTION	43

1. Hypothesis and aims	45
2. Study 1 – Prognostic factors associated with survival in brain metastases patients	47
2.1. Introduction	47
2.2. Aims	48
2.3. Materials and methods	48
2.4. Results	51
2.5. Discussions	63
2.6. Conclusions	67
3. Study 2 – Survival and quality of life after whole brain radiotherapy with 3D conformal boost	69
3.1. Introduction	69
3.2. Aims	70
3.3. Materials and methods	71
3.4. Results	74
3.5. Discussions	87
3.6. Conclusions	89
4. Study 3 – Prognostic factors associated with survival and with the choice of radiotherapy regimen in patients with bone metastases	91
4.1. Introduction	91
4.2. Aims	92
4.3. Materials and methods	92
4.4. Results	94
4.5. Discussions	103
4.6. Conclusions	105
5. General conclusions	107
6. Thesis originality and contributions	111
REFERENCES	113

Key words: brain metastases, bone metastases, prognostic factors, prognostic score, whole brain radiotherapy, 3D conformal boost

INTRODUCTION

Brain and bone metastases are common complications among oncological patients, being associated with significant morbidity. Prolonged patient survival has led to an apparent increase in the incidence of metastatic lesions. They are responsible for the occurrence of complications that interfere with the daily activity of patients, affecting their quality of life, but can also significantly influence their survival.

Due to the heterogeneity of the population of patients with bone and respectively brain metastases (patients have different locations of the primary tumor, with specific features, different aspects of the extracerebral or extraosseous disease - controlled primary tumors or not, other metastatic sites), the prognosis is also varied. Thus, for a better management of each case, any means by which the prognosis of patients can be estimated and refined is welcome.

Regarding the therapeutic options, they are multiple, from systemic treatments for both brain and bone metastases, to localized treatments such as surgery, radiotherapy, stereotaxic radiotherapy. The choice of the therapeutic method is often in a balance given by the patient's prognosis, the expectations from the respective treatment, complications, but also the logistical or technical possibilities.

Finally, for metastatic patients, an important aspect to score is the aim of the treatment. Thus, for these patients, an important goal to be followed should be the quality of life. Assessing the quality of life is not easy to do, considering the multitude of factors that can influence it, from aspects related to the progression of the disease with the appearance of new symptoms, to effects of the treatments administered.

PERSONAL CONTRIBUTION

Study 1 – Prognostic factors associated with survival in brain metastases patients

Aims

1. identification of the clinical prognostic factors that influence the overall survival (OS) of patients with brain metastases.
2. elaboration of a score based on the identified prognostic factors, called BM score (brain metastases), in order to group the patients into prognostic classes which will facilitate the survival estimation.

Materials and methods

The present study is a 10-year retrospective analysis, between January 2007 and December 2016, which included 1363 patients with brain metastases from any primary tumor location, who underwent total brain irradiation within the Oncology Institute “Prof. Dr. I. Chiricuță” Cluj-Napoca.

The one-year overall survival was calculated using the Kaplan-Meier method. For the analysis of survival differences between subgroups, the log-rank test was used. Multivariate survival analysis was performed using the Cox model of proportional hazard.

In order to calculate the BM survival score for each patient, the variables included in the multivariate analysis were each multiplied by the corresponding weighting coefficient. Patients were divided into 3 prognostic categories according to the score value: <5, between 5-6, > 6 points.

Results

The median survival of the whole group of patients was 5.6 months. The overall survival rates at 1 and 2 years were 26 and 9%, respectively.

The independent prognostic factors of OS are old age, male sex, increased number of brain metastases, lack of local control of the primary tumor, low performance status and the presence of extracerebral metastases were associated with a more reserved prognosis. Regarding the primary tumor, each location from the analyzed ones, considered separately and compared with all the others, was identified as a significant prognostic factor.

After grouping the patients according to the BM score, the distribution of the frequency of the score in the study population is as follows: the majority of patients (42.4%) had a BM score of 5–6, the rest being relatively evenly divided between a score <5 and respectively > 6 (27.5 and 29.9% respectively).

The one-year OS decreases significantly with the increase in the BM score. For a BM score <5, OS was 56%, for a score between 5 and 6, OS was 21% and for scores > 6,

OS was 4% at 1 year. Median survival was also significantly different between BM score groups: 13.4 months for BM score <5; 5.6 months for BM score 5–6 and 2.2 months for score > 6.

Conclusions

The most common cancers associated with brain metastases are lung, breast, melanoma, kidney, gynecological and colorectal cancers.

The survival of patients with brain metastases is low, with values of 26% for 1-year OS, 9% for 2-year OS and a median survival of 5.6 months.

The results of our study confirmed the impact of several clinical prognostic factors, known to affect the survival of patients with brain metastases: old age, male gender, Karnofski performance index, lack of local control of the primary tumor, presence of extracerebral metastases, as well as number of extracerebral sites. In addition, our study highlights for the first time the influence of the type of primary tumor on the survival in a heterogeneous population of patients with brain metastases and with various primary locations.

The BM score we propose is effective in grouping patients according to their prognosis and can help make decisions regarding treatment adjustment, based on individual characteristics.

Study 2 – Survival and quality of life after whole brain radiotherapy with 3D conformal boost

Aims

3. evaluation of whole brain radiotherapy in different fractionation regimens, associated with 3D conformal boost in patients with brain, oligometastatic metastases.
4. analysis of the quality of life of the patients irradiated with the added boost to the whole brain radiotherapy, in the sense of highlighting changes following the treatment, compared to baseline.

Materials and methods

Between April 1, 2015 - December 31, 2017, this prospective study included adult patients (> 18 years) with single or multiple inoperable brain metastases (≤ 4), addressed for treatment in the Oncology Institute “Prof. Dr. I. Chiricuță” Cluj-Napoca. For all included patients, metastases were highlighted by contrast MRI or brain CT examination.

Whole brain radiotherapy was performed by two lateral opposing fields at a linear accelerator with 6 MV photons. The boost was administered sequentially, at the end of the whole brain irradiation. The patients were re-evaluated clinically and by imaging (CT or MRI with contrast) within 2-3 months from the end of the radiotherapy.

For comparison, we chose a retrospective group of 50 patients with similar clinical characteristics (oligometastatic, inoperable, between 40 and 80 years old, with

the same locations of the primary tumor), who received whole brain radiotherapy without boost between January 1, 2013- December 31, 2014.

The EORTC QLQ-C30 and QLQ-BN20 questionnaires translated and adapted into Romanian were applied to the patients before radiotherapy, at the end of it, and at 2 months after the completion of treatment.

For comparisons of the prognostic factors, the chi² test was used. For the comparison of the QLQ-C30 and QLQ-BN20 questionnaires, the standardized mean scores were compared by Student's test. Survival curves were calculated using the Kaplan Maier method. Survival differences by variables were assessed using the log-rank test.

Results

Median survival with brain metastases in the patient group was 4.43 months, with a minimum of 0.73 months, and a maximum of 78.53 months.

The total volume of brain metastases under 4.5 cm³ was associated with a significantly higher OS rate (78%) compared to a tumor volume over 4.5 cm³ (7%) (p <0.01). Total dose at the level of the metastasis significantly influenced survival, with a difference between doses below 54 Gy and 54-60 Gy respectively, in that a higher biologically equivalent dose is associated with higher OS.

Comparing the prospective group of patients who received whole brain irradiation + 3D conformal boost with the group of patients retrospectively selected who performed exclusively whole brain irradiation, we observed that the addition of an additional dose by boost improves one year OS to 37%, compared to 29 % in the absence of boost (p = 0.11 NS).

The rate of completion of the QLQ-C30 and QLQ-BN20 quality of life questionnaires was 93%.

In the QLQ-C30 questionnaires, although there were improvements in the domains of global quality of life, physical function, role functioning, cognitive, social and emotional function between baseline and end of irradiation, the only domain where the score remained significantly higher after 2 months compared to baseline is the emotional function. Similarly, the individual symptomatic scores where there was a significant decrease between baseline and the end of treatment, which persisted at 2 months are those related to nausea and vomiting, pain and appetite, respectively.

The scores from the QLQ-BN20 questionnaire that showed significant increases between baseline and end of treatment, translated by symptom worsening, were those for dizziness, skin itching and hair loss. Of these, only the itching score decreased significantly at 2 months compared to baseline. All other symptomatic scores showed significant decreases between baseline and end of treatment, but only some remained significantly lower at 2 months (uncertainty about the future, visual disturbances, headache, seizures and foot weakness).

Conclusions

Oligometastatic patients with brain metastases who benefit from 3D boost associated with whole brain irradiation have a higher overall survival than patients who undergo whole brain irradiation without boost. Although the difference is not statistically significant, the trend is favorable for the addition of a boost.

Survival is better when the biologically equivalent dose is higher in the lesions.

The better outcome of patients with a single brain metastasis and a smaller lesion volume suggests that this category of patients could benefit most from the 3D boost added to whole brain radiotherapy.

Although many areas of quality of life did not significantly change post-radiotherapy, there was a tendency for improvement of the overall quality of life, more likely due to improvement of some symptomatic scores in the QLQ-C30 questionnaire, such as pain, nausea and vomiting, insomnia, appetite, but also from QLQ-BN20, such as headache, seizures, visual disorders and muscle weakness.

In some areas of both questionnaires, a significant worsening of the scores at the end of the irradiation compared to baseline was observed: fatigue, dizziness, tegumentary itching and hair loss. But it is noteworthy that all these returned to baseline values at the 2-month evaluation, which suggests a transient effect.

The only area of the QLQ-C30 questionnaire that decreased at the 2-month evaluation, even though without statistical significance, is the cognitive function. This effect of total brain irradiation with boost is an important aspect to follow, especially in patients with favorable prognostic factors, who are long-term survivors.

The 93% completion rate of QLQ-C30 and QLQ-BN20 quality of life questionnaires in the patient group reflects their compliant character and their willingness to collaborate.

Study 3 – Prognostic factors associated with survival and with the choice of radiotherapy regimen in patients with bone metastases

Aims

3. analysis of clinical characteristics and treatment patterns in patients with bone metastases who have undergone single or multiple fractionation radiotherapy within the Oncology Institute "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca.
4. identification of potential prognostic factors for overall survival with bone metastases and of possible factors that could influence the choice of the fractionation scheme of palliative radiotherapy.

Materials and methods

In this retrospective study were analyzed a total of 582 patients who performed palliative radiotherapy for bone metastases in the Oncology Institute "Prof. Dr. I. Chiricuță" Cluj-Napoca between January 1, 2014 and December 31, 2017. Patients who

benefited from either a single irradiation sequence or multiple irradiation sequences on different anatomical regions were included. For the univariate and multivariate analysis, the types of radiotherapy were classified into two categories: single fraction (SFRT) and multiple fractionation (MFRT).

For the calculation of survival curves, the Kaplan Meier method was used, and the survival differences between groups were evaluated by the log-rank test. The variables that in the univariate analysis which significantly influenced the OS were included in the multivariate analysis by Cox model of proportional hazard.

Results

The patient group analyzed consisted of 582 patients who performed 677 palliative radiotherapy treatments on a total number of 829 metastatic bone sites.

The 1,2- and 3-year OS for the entire group of patients was 36%, 23% and 15% respectively. Median survival was 7.3 months.

The following variables significantly influence the 3year OS: age, sex, performance status, type of primary tumor, primary tumor control, presence of visceral metastases and in particular of brain metastases, number of bone metastases (one vs multiple), presence of complications of bone metastases. MFRT regimens significantly prolonged OS compared to SFRT irradiation (17% vs 12%).

In the multivariate analysis, the factors that significantly influenced the 3-year OS were the type of primary tumor, performance status, primary tumor control, number of bone metastases, complications associated with bone metastases and presence of brain metastases.

A total of 677 irradiations performed on the 582 patients included in the study were analyzed. Analyzing the extremes of the period, we observed an increase of the SFRT prescription from 41% in 2014 to 51% in 2017 ($p < 0.01$).

The multivariate analysis of the factors influencing the choice of irradiation regimen shows that uro-genital and pulmonary tumors have the least chance of benefiting from MFRT prescription, the progressively lower performance status and the irradiation of the lower half body region respectively decrease the chances of MFRT prescription, whereas localization of bone metastases to the spine increases the chances of MFRT irradiation (OR=2,1) ($p < 0,01$).

Conclusions

Patients with bone metastases had in most cases spinal lesions (61% of metastases). The proportion of bone metastases complicated by fractures or spinal cord compression was 30%, most of which were observed in patients with lung, breast and uro-genital cancers. Also, most of the complications occurred in spinal sites.

The median survival of the group of patients was 7.3 months, and the overall survival at one, 2 and 3 years was 36%, 23% and 15%, respectively. Overall survival depends on the performance status of patients: the lower it is, the lesser the survival. Complications of bone metastases also affect the prognosis of patients. Primary tumor control, breast cancer as a primary tumor, and the presence of single bone metastases

are favorable prognostic factors for survival. The onset of brain metastases significantly affects patients' survival.

The indication of SFRT irradiation compared to MFRT schemes has increased from 41% in 2014 to 51% in 2017, reflecting the international trends in adopting SFRT regimes when they are indicated.

The prognostic factors that tilt the balance in favor of choosing an SFRT irradiation scheme are: primary tumor location - urogenital or pulmonary cancers, lower performance status and irradiation of the lower half body region.

The rate of reirradiation following an MFRT scheme was 0.5%, compared to 12% after SFRT. The results are comparable to the data published in the literature.

For patients with a favorable prognosis, a long-term irradiation scheme is preferred, as it can ensure pain control for a longer period of time, reducing the need for a possible reirradiation. SFRT irradiation schemes remain the choice for patients with a more unfavorable prognosis.

General conclusions

The prognosis of patients with brain and bone metastases is reserved. Median survival with brain metastases was 5.6 months, similar to the data cited in the literature. Overall survival with brain metastases at one and two years was 26% and 9%, respectively. The median survival of patients with bone metastases was 7.3 months, and the overall survival at one and two years was 36% and 23%, respectively.

Clinical prognostic factors that significantly influence the overall survival of patients with brain metastases were age, male gender, Karnofski performance status, lack of local primary tumor control, presence of extracerebral metastases, and number of extracerebral sites. For patients with bone metastases, the clinical prognostic factors associated with overall survival were ECOG performance status, number of bone metastases, complications associated with metastases (fractures, spinal cord compression), control of primary tumor, presence of brain metastases and type of primary tumor (other than breast cancer).

The BM score that we propose for estimating the prognosis of patients with brain metastases is effective in grouping patients according to their prognosis and can help in making decisions regarding treatment adjustment, based on individual characteristics.

The EORTC QLQ-C30 and QLQ-BN20 questionnaires are easy-to-use tools for quality of life assessment. The completion rate of 93% of the questionnaires reflects their compliant character and the desire for collaboration.

Although many areas of quality of life did not significantly change post-radiotherapy, there was a tendency towards improvement of the overall quality of life, more likely due to improvement of some symptomatic scores in the QLQ-C30

questionnaire, such as pain, nausea and vomiting, insomnia, appetite, but also from QLQ-BN20, such as headache, seizures, visual disorders and muscle weakness.

In some areas of both questionnaires, a significant worsening of the scores at the end of the irradiation compared to baseline was observed: fatigue, dizziness, tegumentary itching and hair loss. But it is noteworthy that all these returned to baseline values at the 2-month evaluation, which suggests a transient effect.

The only area of the QLQ-C30 questionnaire that decreased at the 2-month evaluation, even though without statistical significance, is the cognitive function. This effect of whole brain irradiation with boost is an important aspect to follow, especially in patients with favorable prognostic factors, who are long-term survivors.

In patients with a reduced number of brain metastases (<4 lesions), escalating the dose of radiotherapy by boost associated with whole brain irradiation has a survival benefit over whole brain irradiation alone.

The prescription of single fractionation irradiation, as compared to multiple fractionation schemes, has increased from 41% in 2014 to 51% in 2017, reflecting the international trends in adopting SFRT regimes where they are indicated.

The prognostic factors that tilt the balance in favor of choosing an SFRT irradiation scheme are: primary tumor localization - urogenital or lung cancers, lower performance status and irradiation of the lower half body region.

The rate of reirradiation following an MFRT scheme was 0.5%, compared to 12% after SFRT. The results are comparable to the data published in the literature.

For patients with bone metastases, with a favorable prognosis (those with a good performance status, with controlled primaries, with uncomplicated single bone metastasis, located at spinal level and without visceral metastases, especially brain), a longer irradiation scheme is recommended, which can ensure pain control for a longer period of time, reducing the need for possible reirradiation. Single-fraction irradiation schemes remain the choice for patients with a more reserved prognosis (those with low performance status, primary lung tumors in general, and multiple bone metastases, located extraspinally).

Based on these results, starting from the clinical characteristics that influence both the survival of the patients and the decision to choose a specific regimen, a protocol for the selection of the bone metastasis irradiation scheme can be developed.

As the survival of metastatic patients is limited, the assessment of their quality of life can be a good indicator of treatment impact, respectively of the progression of the disease, and should be systematically implemented in order to have a complex picture of the patients' status.

Thesis originality and innovation

In this study we aimed first to analyze the factors that influence the prognosis of patients with brain and bone metastases. Given that the survival of these patients is limited, it is necessary to study the characteristics that group patients into distinct prognostic categories, in order to optimize the therapeutic decision, in order to accurately select those patients with a favorable prognosis, and who could benefit most from a more intense treatment.

The originality of the study resides in the fact that it is the first in Romania to evaluate the clinical and therapeutic characteristics of metastatic patients, and the contribution at international level consists in the elaboration of the BM prognostic score for patients with brain metastases. This score is a global one, but it distinguishes between the different locations of the primary tumor.

Another innovative contribution of our study is the application of the whole brain radiotherapy protocol associated with 3D boost to brain oligometastatic patients, which has improved overall survival in these patients compared to those treated with whole brain irradiation without boost.

Following the analysis of the prognostic factors associated with bone metastases, the results of our study contribute to the consolidation of multiple fractionation irradiation indications for the categories of patients presenting favorable clinical characteristics, in order to maintain the antiallergic effect as long as possible and to reduce the need for re-irradiation.

Last but not least, the application of quality of life questionnaires among patients with brain metastases is a unique approach in our country, reflecting the current tendencies of evaluating therapeutic methods implemented not only through the prism of classical oncology objectives such as tumor response rate, overall survival or disease-free survival, but also from the perspective of the direct impact on the patient of both the treatment and the possible complications caused by the progression of the disease.

The large number of patients included in the analysis (1363 in study 1, respectively 582 in study 3) gives relevance and importance to the presented results and places our study among the largest performed in this field at international level. Overall, the achieved purpose of this study was to obtain results that contribute to improving the therapeutic perspectives for patients with brain and bone metastases.