

# DIJAGNOSTIKA I LEČENJE AKUTNE LIMFOBLASTNE LEUKEMIJE SA OSVRTOM NA PROGNOŠTIČKE FAKTORE

Literatura za rešavanje tecta

UDRUŽENJE ZDRAVSTVENIH RADNIKA NIŠ

# DIJAGNOSTIKA I LEČENJE AKUTNE LIMFOBLASTNE LEUKEMIJE SA OSVRTOM NA PROGNOŠTIČKE FAKTORE

---

Literatura za rešavanje testa

## Reč autora

Poštovani polaznici kursa,

U toku izlaganja trudili smo se da predstavimo metode dijagnostike i lečenja akutne limfoblastne leukemije sa osvrtom na prognostičke faktore.

Test se sastoji od 50 pitanja koja se zasnivaju na prezentovanom materijalu.

**ŽELIMO VAM PUNO USPEHA U REŠAVANJU TESTA!**

**Prim dr Tomislav Vukićević**

**Lt Mladenović Jasmina**

**Lt Jovanović Marija**

*[www.uzrnis.rs](http://www.uzrnis.rs)*

# ALL

---

**Definicija** - Akutna limfoblastna leukemija (ALL) je maligna hemopatija koja se karakteriše nekontrolisanom deobom i rastom mlađjih oblika limfocita (limfoblasta) i njihovim nagomilavanjem u koštanoj srži, limfoidnim organima (limfne žlezde i slezina) i perifernoj krvi.

**Učestalost** - ALL čine oko 25 - 30% svih maligniteta u dece, a 80% svih akutnih leukemija u dečjem uzrastu. U odraslih osoba ALL čini oko 20% svih leukemija.

**Etiologija** - Kao etiološki faktori za nastanak svih leukemija pa i limfoblastne leukemije navode se:

- ✓ virusi (virusni onkogeni)
- ✓ neke nasledne bolesti (Dawnov sindrom, Tarnerov sindrom, neurofibromatoza, von Recklinhausenova bolest, ataksija teleangiiektazija, Brrutonova agamaglobulinemija, Klinefelterov sindrom, Fankonijeva anemija, Wiskott Aldrichov sindrom)
- ✓ neke stečene bolesti (hronična mijeloidna leukemija, mijelofibroza, policitemija vera, nehočkinski limfom, aplastična anemija, rak dojke, pluća, jajnika. . . )
- ✓ dejstvo hemijskih agenasa i lekova, posebno Benzena i njegovih derivata, dejstvo Toluola. Od lekova teratogeno dejstvo imaju: sulfonamidi, hloramfenikol, fenilbutazon, neki citostatici kao: hidroxi urea, prokarbazin i dr.
- ✓ Jonizujuće zračenje je , takodje, jedan od uzročnika nastanka ALL

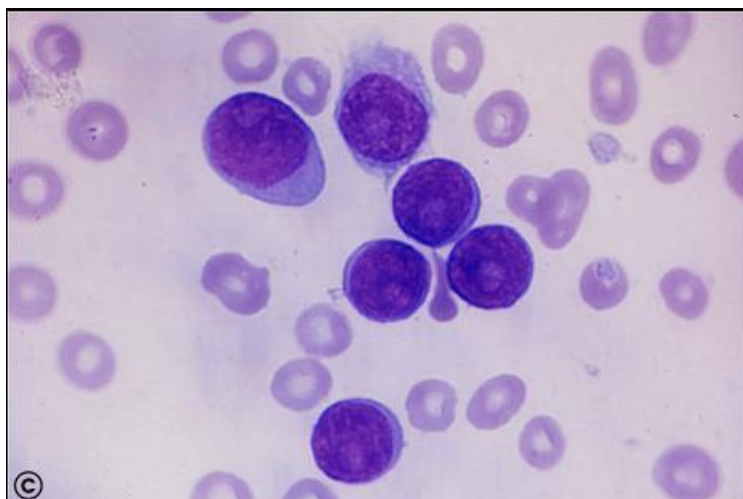
**Klinička slika** - Kliničkom slikom dominiraju:

- ✓ malaksalost zbog anemije
- ✓ hemoragijski sindrom zbog trombocitopenije
- ✓ febrilnost zbog infekcije, a kao posledica granulocitopenije
- ✓ uvećanje limfnih nodusa i slezine

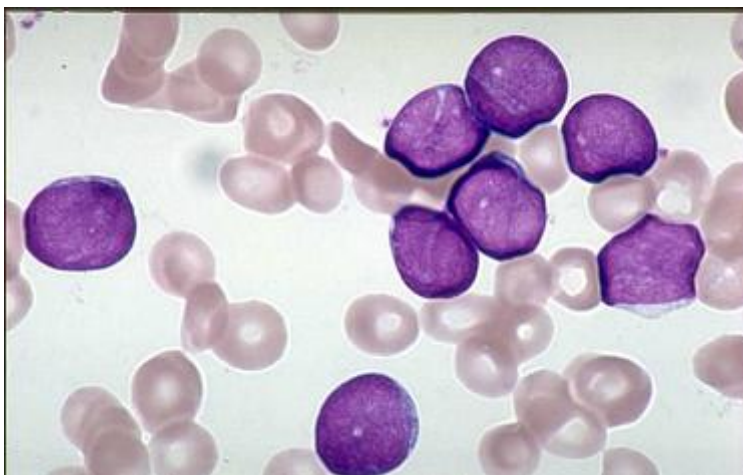
**Klasifikacija** - Prema FAB (francusko - američko - britanska) klasifikaciji ALL se deli na:

- ✓ ALL - L1 slika1
- ✓ ALL - L2 slika2
- ✓ ALL - L3 slika3

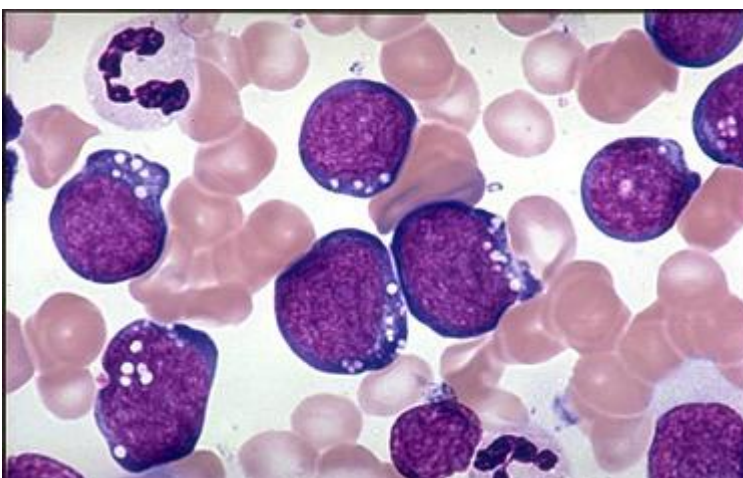
**Slika 1. ALL - L1**



**Slika 2. ALL - L2**



**Slika 3. ALL - L3**



**L1 tip** akutne limfoblastne leukemije se uglavnom sreće kod dece gde su limfoblasti iste veličine i to je tip ALL-a sa najboljom prognozom, osim ako je prisutno više od 10% blasta izgleda ručnog ogledala tada je prognoza gora i preživljavanje kraće. Ovaj tip blasta (izgleda ručnog ogledala) je udružen i sa drugim faktorima loše prognoze kao što su: veliki broj leukocita i T imunofenotip.

**L2 tip ALL-a** ima blaste različite veličine i uglavnom se sreće kod odraslih bolesnika.

**L3 tip ALL-a** ima blaste sa vakuolizovanom citoplazmom. Čelije su slične ćelijama u Burkitt non Hodgkin limfomu sa leukemijskom prezentacijom, ima najgoru prognozu i najkraće preživljavanje.

Prema biološkim i imunofenotipskim karakteristikama limfoblasta ALL se deli na:

- 1) B linijsku ALL
  - rani - B - prekursor ALL
  - pre - B - ALL
  - B - ALL
- 2) T linijsku ALL
  - kasni kortikalni
  - rani kortikalni
  - medularni
  - pre - T - ćelijski

**Dijagnoza** – Dijagnoza se postavlja na osnovu:

- ✓ morfološkog pregleda razmaza periferne krvi i razmaza punktata koštane srži bojani May-Gunvald-Giemsa-om (MGG)
- ✓ citohemijskih bojenja na glikogen i kiselu fosfatazu
- ✓ imunofenotipizacije protočnom citometrijom ili imunohistohemijom
- ✓ citogenetskih analiza
- ✓ molekularnih analiza

**Morfološkim** pregledom perifernog razmaza krvi i razmaza punktata koštane srži jasno uočavamo karakteristike limfoblasta:

- ✓ jedro okruglo ili ugnuto
- ✓ jedno do dva jedarca u jedru
- ✓ oskudna plava citoplazma bez prisustva granulacija
- ✓ odnos jedra i citoplazme - veliki
- ✓ fenomen (izgled) ručnog ogledala pojedinih limfoblasta

**Citohemijska** dijagnostika podrazumeva dokazivanje glikogena nataloženog u citoplazmi bojen Per-Acid-Shif reagensom (PAS) i prezentuje se u vidu crvenih nakupina (gromuljica) u citoplazmi limfoblasta. Za limfoblaste je karakteristično i određivanje aktivnosti kisele fosfataze.

**Imunofenotipizacija** protočnom citometrijom i imunohistohemija jasno razlikuju:

- ✓ B - linijsku akutnu limfoblastnu leukemiju
- ✓ T - linijsku akutnu limfoblastna leukemija

Ova dva tipa sa svojim podtipovima su sa posebnim biološkim i kliničkim svojstvima te akutna limfoblastna leukemija spada u heterogeno obolenje sa posebnim pristupom u lečenju pojedinih podtipova.

**B - ALL** je zastupljena u dece sa 65 - 70%, u adolescenata 55 - 60%, u odraslih 50 - 75%.

**T - ALL** je zastupljena u dece sa 15%, u odraslih oko 25%. Imunofenotipski se jasno uočava heterogenost u T - linijskoj ALL na osnovu prisustva ili odsustva receptora na membrani, citoplazmi i jedru T - limfoblasta. Imunofenotipizacija protočnom citometrijom omogućava da prepoznamo stadijume diferencijacije i odredi stepen zrelosti leukemijskih ćelija. Osnovna osobina T malignih hemopatija je sklonost izostajanja normalnih T antigena i jasno ispoljavanje aberantnih kombinacija antigena.

**Imunofenotipske karakteristike pojedinih podtipova su:**

- rani - B - prekursor - blasti su mali sa imunofenotipom Tdt+, HLA-DR+, cCD79a+ CD19+. Većina bolesnika ispoljava CD24 i CD34 + blaste. Rani B - prekursor ima negativne membranske imunoglobuline (Sig). Deca sa ALL-om starosti oko godinu dana imaju blaste CD19+, CD10- . Ekspiriraju aberantni CD15+. Ovaj podtip B - ALL-a je često udružen sa t(9;22) Filadelfija hromozom i znak je loše prognoze. Filadelfija + ALL po pravilu ispoljava aberantne mijeloidne antigene CD33, CD13, redje CD14.
- common - ALL predstavljen je blastima koji morfološki odgovaraju ALL - L2 i imaju fenotip:CD19+, cCD79a+, CD22+, CD10+.
- pro - B - ALL - predstavlja kasniji stadijum u sazrevanju u odnosu na rani - B - prekursor. Ovaj fenotip je zastupljen u oko 25% u dece, u odraslih u znatno većem procentu. Za ovaj podtip ALL-a je karakterističan fenotip: CD19+, CD24+, cCD79a+HLA - DR+, citoplazmatski CD22+ i CD10+. Tdt i CD 20 su promenljivi, a CD 34 je negativan. Karakteristika ovog fenotipa je prisustvo citoplazmatskih mi teških lanaca. Ovaj fenotip je sa nepovoljnijom prognozom u odnosu na rani - B - prekursor. U ovom fenotipu je često prisutna t(1;19), a karakterističan

fenotip za ovu translokaciju je:CD19+, Cd10+, CD9+ i različitom ekspresijom CD20 i CD34. U ALL-u CD34 je nezavisan prognostički faktor.

- B - ALL-ovaj podtip ALL-a pokazuje B ćelijske markere:CD19, CD20, CD22 i CD24, cCD79a+ sa jasnom klonalnošću Sig najčešće IgM. Ovaj podtip je zastupljen sa 2 - 5% svih ALL-a i zbog velike agresivnosti sličan je Burkitt limfomu sa leukemijskom prezentacijom. Morfološki to su ALL - L3 po FAB - u. Veoma retko u ovom fenotipu ne nalazimo ALL - L3 po FAB - u nego ALL - L1. Tada je po pravilu prisutna t(1;19) i t(14;18). Deca sa ovim fenotipom imaju bolju prognozu od odraslih.
- T - linijska ALL podtip kasni kortikalni ima najčešće fenotip:CD1+, CD2+, CD5+, CD7+ i dvijni CD4/CD8 i minimalni površinski CD3. Tdt je varijabilan.
- T - linijska ALL podtip rani kortikalni ima fenotip:CD2+, CD5+, CD7+ i izražen Tdt.
- T - linijska medularni podtip ima fenotip:CD2+, CD5+, CD7+ i segregaciju CD4 ili CD8 i Cd3 i znatno manje eksprimira Tdt.
- T - linijska pre - T podtip ima fenotip:CD7+ i citoplazmatski CD3+ bez drugit T - ćelijskih antigena.

**Citogenetika** u ALL-u ima više prognostički nego dijagnostički značaj. Značajan je broj citogenetskih aberacija u ALL-u tabela 2. Translokacija t(9:22) koja stvara fuzioni gen BCR - ABL zastupljena je u oko 35% kod odraslih sa ALL-om.

Ova anomalija je znak loše prognoze i znatno kraćeg preživljavanja. Translokacija 11q23 se javlja u oko 60% ALL-a u dece i oko 3 - 6% u odraslih. Ova translikacija često dovodi do rearanžmana MLL gena i znak je loše prognoze. B - ALL podtip često je udružen sa t(1:19) i t (14:18) i imaju lošiju prognozu.

**Tabela 2.** Citogenetske aberacije u ALL - u

B - ALL	T - ALL
t(12;21) (p13;q22) t(5;14) (q31;q32)	
t(1;19) (q23;p13) t(11;19) (q23;p13)	t(11;14)(p13;q11)
t(4;11) (p13;q23) t(9;11)(p22;q23)	t(10;14)(q24;q11)
t(9;22) (q34;q11) t(17;19)(q22;p13)	t(1;14)(p32;q11)
t(8;14) (q24;q32)	

**Molekularne** analize se svode na dokazivanje BCR - ABL i rearanžmana za MLL gen. Znak su loše prognoze.

Imajući u vidu sva dosadašnja saznanja o akutnoj limfoblastnoj leukemiji i njenim prognostičkim faktorima, bolest može da se ispolji kao :

- ✓ visoki rizik
- ✓ standardni rizik

Najvažniji prognostički faktori su pre svega:

- ✓ životna dob
- ✓ pol
- ✓ rasa
- ✓ tumorska masa
- ✓ morfološki tip
- ✓ imunofenotip
- ✓ citogenetske promene
- ✓ hromozomske aberacije
- ✓ vreme potrebno da se postigne kompletna remisija
- ✓ leukemija CNS - a
- ✓ vrednosti hemoglobina - broj trombocita

**Životna dob** – deca ispod jedne godine i deca preko 10 godina imaju lošu prognozu. U ovom životnom dobu prisutni su i drugi faktori loše prognoze kao što su: visok broj leukocita, T imunofenotip, t(11;23), t(9;22) itd. Bolesnici životne dobi preko 65 godina takodje imaju lošu prognozu zbog komorbiditeta, bioloških karakteristika limfoblasta, većeg procenta rezistencije na terapiju.

**Pol** – u muškom polu tendencija je većeg broja relapsa.

**Rasa** – manja je incidenca ALL-a u crnoj rasi, ali sa znatno lošijom prognozom zbog nepovoljnih citogenetskih promena.

**Tumorska masa** – tumor medijastinuma je uvek loš prognostički znak, broj leukocita preko  $30 \times 10^9$ , kao i uvećanje jetre, slezine i limfnih žlezda.



**Morfološki tip** – ALL - L1 – dobra prognoza

- ✓ ALL - L2 – gora prognoza od ALL - L1
- ✓ ALL - L3 najgora prognoza

**Imunofenotip** – T - ALL je obično udružena sa velikim brojem leukocita, tumorom medijastinuma, CNS leukemijom i loše je prognoze.

B - ALL – ima bolju prognozu osim u onih sa citogenetskim anomalijama: t(4:11) i t(9:22). ALL sa mijeloidnim markerima na limfoblastima je zastupljena u dece sa 10 - 20% i oko 35% u odraslih. Najčešći antigeni na limfoblastima su CD33, CD13, redje CD14 i CD15. Nema dokaza da ispoljavanje mijeloidnih antigena u ALL-u ima lošu prognozu.

**Citogenetika** – „High“ hiperdiploidija (51 - 65 hromozoma) ima dobru prognozu. 43% dece ima ovu anomaliju, a u odraslih oko 12%. Tetraploidija (82 - 94 hromozoma) ima lošu prognozu. Pseudodiploidija (46 hromozoma uz strukturne abnormalnosti), takodje ima lošu prognozu kao i hipodiploidija (manje od 46 hromozoma).

**Hromozomske aberacije** – strukturne abnormalnosti su najčešće znak loše prognoze kao što su: t(9:22), t(4:11), t(1;19), t(8;14). Translokacija t(9:22) je zastupljena u dece sa oko 5%, u odraslih oko 20 - 25%, preko 50 godina starosti 40%.

**Vreme** koje je potrebno da se posigne kompletna remisija – značajno duže je preživljavanje u bolesnika kod kojih se kompletna remisija postigne za 4 nedelje, a ako je potrebno duže vreme onda se javlja veći broj relapsa kraće je vreme preživljavanja.

**Leukemija CNS - a** – oko 3% u dece i oko 10% u odraslih sa ALL-om ima leukemiju CNS - a. Javlja se u bolesnika sa velikim brojem leukocita, imunofenotipom T, pre - B, podtip B - ALL i morfološki L3 po FAB - u.

Leukemija CNS - a smanjuje mogućnost postizanja kompletne remisije i skraćuje preživljavanje. Posebno je loš prognostički znak ako se razvije u toku hemoterapije.

**Vrednosti hemoglobina** indirektni je pokazatelj biološke agresivnosti leukemije. Normalne vrednosti hemoglobina ukazuju na ekstramedularnu lokalizaciju i veliku agresivnost bolesti.

**Broj trombocita** – bolesnici sa brojem trombocita ispod  $30 \times 10^9$  imaju kraće preživljavanje. Petehijalna krvarenja omogućavaju diseminaciju blasta.

Imajući u vidu sve prognostičke faktore ALL može biti:

- ✓ ALL standardnog rizika
- ✓ ALL visokog rizika

**Terapija** bolesnika sa akutnom limfoblastnom leukemijom je kompleksna, dugotrajna i podrazumeva:

- ✓ substitucionu terapiju – krv i krvni derivati
- ✓ antibiotsku, virostatsku i antifungalnu terapiju
- ✓ hemoterapiju – citostatsku
- ✓ transplantaciju matične ćelije hematopoeze (TMČH)
- ✓ terapija inhibitorima tirozin kinaze
- ✓ ostalo

Substitucionna terapija podrazumeva nadoknadu krvnih komponenata koji su trenutno u manjku kod pacijenta (eritrociti, trombociti i plazma zbog narušene koagulacije).

Antibiotska, antifungalna i virostatska terapija se daju profilaktički zato što su to imunokompromitovani bolesnici.

Hemoterapija podrazumeva primenu više citostatika u raznim kombinacijama (protokoli - šeme) koja ima za cilj eradikaciju malignog klona tj. postizanje kompletne remisije. Kompletna remisija podrazumeva redukciju leukemijskih ćelija u koštanoj srži manje od 5% blasta uz potpuni oporavak hematopoeze – normalizaciju broja eritrocota, hemoglobina, leukocita i trombocita uz nestanak svih znakova bolesti, bez organomegalije i limfadenomegalije i uspostavljanje normalnog statusa aktivnosti (Karnofsky 100%). Nadalje hemoterapija ima za cilj da učvrsti remisiju i održi je do konačnog izlečenja. Lečenje traje 2 - 3 godine u zavisnosti od protokola koji se primenjuje.

Ovom vrstom terapije postiže se kompletna remisija u dece u preko 90% slučajeva sa izlečenjem u 70 - 80%, a u odraslih remisija se postiže u 65 - 85% uz preživljavanje duže od 3 godine u samo 15 - 40%. Najčešće primenjivani protokoli u lečenju odraslih sa ALL-om su: LALA, Hyper - CVAD, HOVON 70 ALL, HOVON 71 ALL i drugi. Poseban vid terapije zahteva ALL Ph+.

Kod ovog oblika ALL-a uz hemoterapijski protokol dodaje se inhibitor tirozin kinaze Imatinib mesilat. Imatinib je inhibitor protein - tirozin kinaze, koji efikasno inhibira aktivnost Bcr - Abl tirozin kinaze kao i nekoliko tirozin kinaznih receptora: receptor za faktor matičnih ćelija (stem cell factor), receptor za stimulaciju kolonija (CSF - colony stimulating factor receptor), alfa i beta receptore za faktor rasta koji vodi poreklo od trombocita i dr. Lek selektivno inhibira proliferaciju i indukuje apoptozu u Bcr - Abl pozitivnim blastima.

Lek pokazuje antitumorsko delovanje i kao monoterapija. Preporučena doza leka je 600mg/dan. Imatinib mesilat je pokazao dobre rezultate ako se primeni u dozi od 600mg/dan u indukcionoj, konsolidacionoj i terapiji održavanja. Doza Imatiniba se prilagođava ako nastupi citopenija,

neutrofili manji od  $0,5 \times 10^9$  i trombociti manji od  $10 \times 10^9$ , a citopenija nije povezana sa leukemijom, doza se smanjuje na 400mg/dan, a ako citopenija traje 2 nedelje dozu ponovo smanjiti na 300mg/dan. Ako citopenija traje 4 nedelje a nije povezana s leukemijom terapija Imatinibom se prekida sve dok broj neutrofila ne bude preko  $1 \times 10^9$  i trombociti veći od  $20 \times 10^9$  i nastavlja se lečenje u dozi od 300mg/dan. Studija ADE10 je pokazala da Imatinib korišćen kao monoterapija dao je veću stopu kompletnih remisija (96,3%) u odnosu na hemoterapiju bez Imatiniba (50%). Slični rezultati su dobijeni i u 4 klinička ispitivanja (AAU02, ADE04, AJP01 i AUS01). Postavlja se pitanje dužine terapije Imatinib - om. Preporuka je da se terapija Imatinib - om primenjuje sve do progresije bolesti.

Nažalost ALL i pored modernog lečenja ima osobinu da veoma često relapsira (bolest se obnavlja). Tada je neophodno pristupiti drugom vidu lečenja, odnosno, potrebno je pristupiti tansplantaciji matične ćelije hematopoeze (TMČH) kao najoptimalnijeg vida lečenja u datom trenutku. TMČH podrazumeva zamenu obolelog hematopoeznog tkiva bolesnika zdravim hematopoeznim tkivom donora. Prva uspešna TMČH urđjena je 1968 godine. Uslov za TMČH je ponovno postizanje kompletne remisije i nalaženje adekvatnog donora. Kada pristupiti TMČH bolesnika sa ALL-om? Uvek kada postoji adekvatan HLA donor i to: u prvoj kompletnoj remisiji kod bolesnika sa visokim rizikom, a u drugoj kompletnoj remisiji kod bolesnika sa standardnim rizikom. Potrebno je izvršiti takozvanu alogenu transplantaciju od srodnog ili nesrodnog HLA odgovarajućeg donora.

### **Transplantacija može biti:**

#### Autologna

- ✓ Alogena – od srodnog HLA podudarnog donora
- ✓ od HLA haplo - identičnog donora
- ✓ od nesrodnog donora

#### Matične ćelije hematopoeze mogu biti:

- ✓ iz koštane srži
- ✓ iz periferne krvi
- ✓ pupčane vrpce

U prvim decenijama primene ove terapijske metode, koštana srž donora bila je jedini izvor MČH. U poslednjih dvadesetak godina periferna krv nakon stimulacije sa granulocitnim faktorom rasta (G-CSF). je najčešći izvor MČH za transplantaciju, a u novije vreme i iz pupčane vrpce što je ovaj izvor MČH za transplantaciju ograničen, zbog male količine MČH, uglavnom za TMČH u dece. Prednos TMČH iz periferne krvi je što se brže prihvata kalem granulocitne i megakariocitne loze i što je znatno konforniji za donora. Ako je izvor MČH iz periferne krvi postoji veća mogućnost

pojave GvHD u odnosu na to ako su ćelije iz koštane srži. Proces prihvatanja kalema “udomljvanje” u koštanoj srži počinje regrutacijom cirkulišućih MČH, dolazi do trans - endotelijalne migracije. U koštanoj srži MČH se naseljavaju u tzv “niše” gde bivaju izložene kompleksnim interakcijama između ćelija, faktorima rasta i nastaje proliferacija i diferencijacija, odnosno uspostavlja se hematopoeza.

#### **Indikacije za TMČH su:**

1. Nemaligne bolesti: aplastična anemija, sistemske bolesti, teška imunodeficijencija, talasemije, Fankonijeva anemija, kongenitalna neutropenija i drugo. Za ove bolesti predviđena je isključivo alogena TMČH
2. Maligne bolesti: akutne i hronične leukemije, mijelodisplazni sindromi, limfomi i drugo. U ovim bolestima može se izvršiti alogena i autologna TMČH. Autologna se vrši uglavnom kao potpora visokodoznoj hemoterapiji.

Priprema za transplantaciju (kondicioniranje) - u alogenoj transplantaciji idealan režim kondicioniranja treba da ispuni:

- ✓ da eliminiše u potpunosti leukemijske ćelije
- ✓ da oslobodi prostor u koštanoj srži za ćelije donora
- ✓ da suprimira imuni sistem domaćina
- ✓ da eliminiše imunske memorijske ćelije
- ✓ da ima minimalnu toksičnost na organe

Priprema za transplantaciju može biti:

- ✓ Standardna - mijeloablativna
- ✓ Nemijeloablativna - priprema
- ✓ smanjenog intenziteta

## Mijeloablativna priprema

### 1. Najčešća kombinacija je priprema sa Busulfanom i Ciklofosamidom (Bu/Cy)

- ✓ Busulfan 4 x 1mg/kg per os ili 4x0,8mg/kg i. v. - 8, - 7, - 6, - 5. dana (ukupno 16 doza)
- ✓ Ciklofosamid 60 mg/kg - 3. i - 2. dan u dvosatnoj infuziji
- ✓ Dva dana pre primene Busulfana - neuroprofilaksa fenobarbitonom
- ✓ Profilaksa hemoragijskog cistita - pre primene ciklofosfamida pa do 24 sata nakon završetka trajno ispiranje bešike ili Uromiteksan 25 mg/kg u bolusu pre Ciklofosfamida i 75 mg/kg u trajnoj infuziji - 3. - 2. i - 1. dana

### 2. Ciklofosamid+ ozračenje celog tela (TBI):

- ✓ Ciklofosamid 60 mg/kg - 5. i - 4. dan
- ✓ TBI 12Gy u 3 - 6 frakcija - 2. - 1. i 0. dan

## Nemijeloablativna priprema

### 1. Fludarabin+male doze TBI

- ✓ Fludarabin 30 mg/m<sup>2</sup>/dan - 4. , - 3. i - 2. dan
- ✓ TBI 2Gy 0. dan nekoliko sati pre infuzije
- ✓ MČH

### 2. Fludarabin+Busulfan+ATG:

- ✓ Fludarabin 30 mg/m<sup>2</sup> od - 10 do - 5. dan (6 dana)
- ✓ Busulfan p o 4x1 mg/kg u dane - 6. i - 5. (ukupna doza 8 mg/kg) ili
- ✓ Busulfan i. v. 2x 3,2 mg/kg u trosatnoj infuziji u dane - 6. i - 5. (ukupna doza 6,4 mg/kg)
- ✓ ATG - Timoglobulin 2,5 mg/kg/dan u dane - 4, - 3, - 2, (i - 1)

### Matične ćelije hematopoeze mogu biti iz:

1. Kostne srži
2. Periferne krvi
3. Pupčane vrpce

Kostna srž > 2, 0x10<sup>8</sup> ćelija sa jedrom/kgTT bolesnika

Periferna krv > 3, 0x10<sup>6</sup> CD 34+ ćelija/kgTT bolesnika (standardna priprema) ili 5x10<sup>6</sup> CD 34+ ćelija/kgTT bolesnika (nemijeloablativna priprema)

Pupčana vrpca > 2, 0x10<sup>7</sup> ćelija sa jezgrom/kgTT bolesnika ili 1, 2x10<sup>7</sup> CD 34+ ćelija/kgTT bolesnika

Postupak pronalaženja potencijalnog donora MČH

1/3 bolesnika ima HLA identičnog donora u porodici (srodni donor - prvo koleno), a za sve ostale potrebno je naći nesrodnog HLA podudranog donora. Pronalaženjem nesrodnog donora bavi se tzv. registar dobrovoljnih davalaca matičnih ćelija koštane srži. Postoje:

- ✓ nacionalni registri
- ✓ svetski registri dobrovoljnih davalaca koštane srži (BMDW)
- ✓ banke krvi pupčane vrpce

### HLA podudarnost

- ✓ HLA sistem je najpolimorfiji genetski sistem kod čoveka sa preko 8. 000 različitih, do danas otkrivenih, alela. Najpolimorfiji je lokus B. HLA - A, - B, - C imi 6x10<sup>9</sup>, HLA - A, - B, - C, - DRB1, - DQB1 ima 10x10<sup>13</sup> kombinacija
- ✓ Razlika u genima glavnog sistema tkivne podudarnosti HLA (human leukocyte antigen) između primaoca i davaoca MČH dovodi do:
- ✓ aktivacije T i NK ćelija što dovodi do reakcije transplantata protiv domaćina (graft versus host disease - GvHD)
- ✓ uništavanja leukemijskih ćelija (graft versus leukemia efekat - GvL)

Protokoli HLA tipizacije – Opšte le prihvaćeno da je HLA podudarnost veoma važan faktor za uspešnu TMČH. Postoje nekoliko protokola HLA podudarnosti u zavisnosti od broja HLA lokusa primalac/davalac koji se upoređuju i to:

- ✓ 6/6 (HLA - A, - B, - C)
- ✓ 8/8 (HLA - A, - B, - C, - DRB1)
- ✓ 10/10 (HLA - a, - B, - C, - DRB1, - DQB1)
- ✓ 12/12 (HLA - A, - B, - C, - DRB1, - DQB1, - DPB1)

**Najveći broj** centara koristi HLA podudarnost primalac/davalac 10/10

Kontraindikacije za doniranje MČH su:

- ✓ psihijarijske bolesti
- ✓ endokrini poremećaji
- ✓ kardiovaskularne bolesti
- ✓ autoimune bolesti
- ✓ neurološke bolesti
- ✓ maligni tumori
- ✓ prethodne transplantacije tkiva i organa
- ✓ zarazne bolesti: HBV, HCV, CMV, EBV, HIV, sifilis, HTLV, toksoplazma

**Prikupljanje MČH** – uskladjuje se vreme primaoca i davaoca. Pravi se dogovor sa davaocem koje MČH želi da da: iz koštane srži ili iz periferne krvi. Kada je uskladjeno vreme i napravljen dogovor donor prima G - CSF 4 dana uzastopno pre afereze MČH i nultog dana se radi afereza jedan ili dva dana dok se ne dobije željena količina MČH. Ako je 4 dana primenjivan G - CSF, a nije dobojena željena količina MČH daje se Plerixafor u dozi od 0, 24mg/kg 6 - 11 sati pre afereze. Ovaj lek oslobadja MČH iz koštane srži delujući na stromalne ćelije da otpuštaju MČH i tako ostvarimo veći prinos MČH prilikom afereze. Istovremeno se vrši kondicioniranje (priprema) bolesnika i nultog dana se transplantat infundira svez u bolesnikovu venu. Ukoliko se termini ne mogu uskladiti, MČH se zamrzavaju i čuvaju do dana kada bolesnik bude pripremljen. Prva nedelja nakon transplantacije je faza pancitopenije da bi se već u drugoj nedelji zabeležili prvi vesnici hematopoeze – fza ranog oporavka. Hematopoeza se normalizuje unutar osam nedelja.

U fazi pancitopenije beleži se potpuni prestanak funkcije bolesnikove koštane srži. Najčešće komplikacije su bakterijske i gljivične infekcije, kao i dugotrajni mukozitis, što onemogućava normalnu ishranu bolesnika. Citostatici mogu dovesti do brojnih neželjenih komplikacija kao što su: veno - okluzivna bolest, intersticijalna pneumonija, neurotoksišnost, pojava sekundarnih maligniteta, endokrinih poremećaja, a kod dece može doći do zastoja u rastu. U dugoj nedelji u fazi ranog oporavka javljaju se prvi znaci funkcije transplantata, javljaju se kolonije hematopoeze u koštanoj srži. Već u ovoj fazi se može javiti jedna od naježih komplikacija TMČH, reakcija transplantata protiv domaćina (GvHD). Ova komplikacija se bazira na imunoj reakciji koju izaziva nepodudarnost HLA antigena davaoca i primaoca. Ako se GvHD javi u prva tri meseca onda govorimo o akutnom GvHD, a ako se javi posle 100 dana onda je hronični GvHD. Hronični GvHD je najčešći uzrok kasne smrti nakon TMČH i zastupljen je u 20 - 70% transplantiranih. Pored GvHD kalem ispoljava i antitumorsli efekat tzv. Graft versus leukemia efekat (GvL). Više studija je pokazalo da je učestalost pojave relapsa najniža kod pacijenata koji su razvili akutni ili hronični

GvHD, nešto viša kod pacijenata bez simptoma GvHD, a najviša kod pacijenata sa TMČH depleciranim T ćelijama. Ova saznanja su dovela do toga da se GvHD i T ćelije donora primene u kontrolisanoj imuno - terapiji sa pojačanjem GvL efekta, a samim tim i sprečavanje relapsa. Prekidanje imunosupresivne terapije u TMČH sa GvHD dovodi do aktivacije T ćelija donora protiv leukemijskih ćelija primaoca, odnosno, pojačava se GvL efekat. Ovu proceduru mora pratiti i infuzija limfocita. Studije su pokazale da ova procedura ima veliki uspeh u transplantiranih sa hroničnom mijeloidnom leukemijom (HGL), a mali uspeh u transplantiranih sa AML - om i ALL - om. Da bi uspeh bio veći razvijene su procedure koje razdvajaju GvHD i GvL. Hematopoeza se potpuno uspostavlja nakon 8 nedelja i ako nema komplikacija bolesnik napušta bolnicu. U ovoj fazi su česte virusne infekcije najčešće iz grupe herpes, citomegalo virus i varičela - zoster virusom.

**Post - transplantaciono** lečenje podrazumeva

- ✓ Prevencija GvHD
- ✓ Prevencija fungalnih i virusnih infekcija
- ✓ Terapija imunoglobulinima
- ✓ Vakcinacije - tabela 1

U toku post - transplantacionog perioda blagovremeno praćenje (najmanje na 11 meseci) hematopoetskog himerizma važan je dijagnostički dokaz prihvatanja kalema. Glavni princip određivanja himerizma je kvantitativna analiza genetičkih markera koji su u različitim formama kod donora i primaoca. Praćenje himerizma nije samo dokaz prihvatanja kalema već i određivanje minimalne rezidualne bolesti.

U Grčkoj mitologiji Himera je čudovište sa glavom lava, telom koze i repom zmijske. U medicini "himera" je osoba koja ima hematopoetske ćelijske linije poreklom od dve različite osobe. Postoje različiti tipovi himerizma:

- ✓ **kompletni himerizam** – kada su u perifernoj krvi transplantiranog prisutne samo ćelije donora.
- ✓ **mešani himerizam** – kada su u perifernoj krvi prisutne i ćelije donora i primaoca. Ako je u perifernoj krvi prisutno do 30% ćelija primaoca onda govorimo o stabilnom mešanom himerizmu koji može još biti rastući i padajući mešani himerizam. U slučaju mešanog himerizma ćelije primaoca mogu biti zdrave i leukemijske ćelije. Praćenje njihovog odnosa je važno u proceni odbacivanja kalema i najave relapsa bolesti.



**Tabela 1.** kalendar vakcinacije u bolesnika s TMČH

Tip vakcine	6 meseci od TMČH	12 meseci od TMČH	18 meseci od TMČH	Više od 24 meseca
Grip	Doživotno sezonski			
Pneumokokni 13 - valentna	Tri doze u mesečnim int			
Pneumokokna 23 - valentna			1 doza	
Tdap/Td	Tri doze u mesečnim int		1 doza	
Hib. konjugat	Tri doze u mesečnim int		1 doza	
Inaktivisani poliovirus vakc.	Tri doze u mesečnim int		1 doza	
Hepatitis A		1 doza	1 doza	
Hepatitis B	Tri doze u mesečnim int	1 doza		
Meningokok	1 doza			
Rubeola				1 doza
Virus zoster infekcije VZV				2 doze s razmakom od 2 meseca

Padajući mešani himerizam predstavlja znak odbacivanja kalema i traje u transplantiranih bolesnika sa malignom hemopatijom do 8 meseci.

- **split himerizam** ili udvojeni himerizam je kada u transplantiranog imamo jednu lozu primaoca a drugu donora ili obrnuto (npr. Eritroidna loza primaoca a mijeloidna donora).

## ZAKLJUČAK

---

Akutna limfoblastna leukemija predstavlja malignu hemopatiju koja u odnosu na biološke i kliničke karakteristike predstavlja heterogeno obolenje sa različitim uspehom u lečenju pojedinih podtipova. Rezultati lečenja odraslih sa ALL-om su znatno lošiji u odnosu na ALL u dece. U dece se postiže kompletna remisija u preko 90% a u 70-80% se postiže izlečenje u ovom životnom dobu. Kompletna remisija u odraslih postiže se u 60-80% , a preživljavanje bez znakova bolesti duže od 3 godine u 15-45%.

Uvodjenje u dijagnostiku imunofenotipizacije protočnom citometrijom i imunohistochemije ne samo da jasno izdvaja ALL od drugih akutnih leukemija, već i precizno određuje podtipove ALL-a.

U poslednje vreme u terapiju ALL-a uvode se protokoli slični pedijatrskim protokolima koji daju veći procenat kompletnih remisija i manje su toksični kao što su:HOVON70 i HOVON71.

Poseban vid lečenja se sprovodi u ALL-u Ph+. Uvodjenjem inhibitora Tirozin kinaze (Imatinib) u lečenju ovog vida ALL-a dovodi do značajnog porasta postignutih kompletnih remisija ako se primeni kao monoterapija u indukcionoj fazi lečenja (96, 3%) u odnosu na klasičnu hemoterapiju kojom se postiže remisija u 50% lečenih.

Boljim upoznavanjem biološke prirode blasta u ALL-u kao i kliničkih osobina bolesti uočeni su mnogi prognostički faktori u ALL-u. Imajući u vidu sve prognostičke faktore bolest možemo svrstati u ALL standardnog rizika i ALL visikog rizika.

U cilju postizanja boljih rezultata u lečenju ALL-a u terapiju se uvodi alogena TMČH. Transplantacija se radi u prvoj kompletnoj remisiji u bolesnika sa visikim rizikom i u drugoj kompletnoj remisiji u bolesnika sa standardnim rizikom.

Kako ALL ima osobinu da često relapsira i TMČH ne daje stopostotnu garanciju za izlečenje no sa sigurnošću dovodi do značajnog produženja preživljavanja. Preporuka je da alogenu TMČH treba uraditi kod svih bolesnika sa ALL-om koji imaju indikaciju za transplantaciju, a imaju podudarnog srodnog ili nesrodnog donora. Sa uspešnom TMČH ne završava se lečenje već predstoji post-transplantaciono prećenje i prevencija eventualnog GvHD-a.

# LITERATURA NEOPHODNA ZA PRIPREMU KANDIDATA ZA REŠAVANJE TESTA

---

- ✓ Williams hemetology 2006. 1183-1237
- ✓ Kumar CC. Genetic abnormalities and challenges in the tretment of acute myeloid leukemia. Gemes cancer 2011;2;95-107
- ✓ West RR, Stafford DA, White AD, Bowen DT, Padna RA, Citogenetic abnormalities in the myelodysplastic sydromes and occupational or environmental exposure. Blood 2000; 95; 2093-7
- ✓ Baldomero M, Gratwohl M, Gratwohl A er AL. Tle EBMT activity survey 2009; Trends over the past 5 years. Bone Marow Transplant, 2011 Atr; 46 (4); 485-501
- ✓ Anasetti C, Logan BR, Lee SJ et Peripheral-Blood stem cell versus bone marrow from unrelated donors. N ENGL J MED, 2012; 367; 1487-14
- ✓ Benett JM, Catovsky D Daniel MT, Flandrin G, Galtan DA Gralnick HR, et ol Proposed criteria for the classification of acute myeloid leukemia. Ann inter Med 1985; 103:626-629
- ✓ Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW, WH clasification of tumors of hematopoetic and lymphoid tissues. Lyon:International agency for research on cancer;2008; 110-178
- ✓ Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwita, et al. The 2008 revision of the World Health Orgatization (WHO) Classification of myeloid neopšlasms and acute leukemia :Blood 2009;114. 5937-951
- ✓ Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Thomas Buchner, Burnett AK, et ol. Diagnosis and managment of acute myeloid leukemia in adults: Blood 2010; 453-474.