

SLOVENIJA PROTI RAKU

DESETLETNI ZDRAVSTVENOVZGOJNI PROGRAM
ZA ZMANJŠANJE ZBOLEVNOSTI
IN UMRLJIVOSTI ZA RAKOM

MALIGNOMI KRVOTVORNEGA IN LIMFATIČNEGA TKIVA

XXII. seminar "IN MEMORIAM DR. DUŠANA REJE"



ZVEZA SLOVENSkih DRUŠTEV
ZA BOJ PROTI RAKU



ONKOLOŠKI
INŠTITUT
LJUBLJANA

NIJZ

Nacionalni inštitut
za javno zdravje



50 let pravih odgovorov

Življenje bolnikov je osrednje
gibalo vseh naših aktivnosti.

Življenje je naša spodbuda in motiv
za ustvarjanje inovativnih zdravil in
diagnostičnih rešitev, ki bodo tudi
v prihodnje spreminjale zdravljenje
bolnikov z rakavimi obolenji.

Za nami je 50 let pravih odgovorov,
pred nami še veliko izzivov. Naredili
bomo vse, da najdemo odgovore
tudi na te.



Roche farmacevtska družba d.o.o.,
Vodovodna cesta 109, Ljubljana
www.roche.si, www.onkologija.si

SLOVENIJA PROTI RAKU

DESETLETNI ZDRAVSTVENOVZGOJNI PROGRAM
ZA ZMANJŠANJE ZBOLEVNOSTI
IN UMRLJIVOSTI ZA RAKOM

MALIGNOMI KRVOTVORNEGA IN LIMFATIČNEGA TKIVA

XXII. seminar "IN MEMORIAM DR. DUŠANA REJE"

V organizaciji:
Zveze slovenskih društev za boj proti raku
Onkološkega inštituta Ljubljana
Inštituta za varovanje zdravja

SLOVENIJA PROTI RAKU

Desetletni zdravstvenovzgojni program za zmanjšanje zbolevnosti in umrljivosti za rakom

MALIGNOMI KRVOTVORNEGA IN LIMFATIČNEGA TKIVA

XXII. seminar »In memoriam dr. Dušana Reje«

v organizaciji Zveze slovenskih društev za boj proti raku, Onkološkega inštituta Ljubljana in
Nacionalnega inštituta za javno zdravje

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

616.41/.42-006 (082)

SEMINAR In memoriam dr. Dušana Reje (22 ; 2014 ; Ljubljana)
Malignomi krvotvornega in limfatičnega tkiva / XXII. seminar In memoriam dr.
Dušana Reje ; v organizaciji Zveze slovenskih društev za boj proti raku [in]
Onkološkega inštituta Ljubljana [in] Nacionalnega inštituta za javno zdravje ;
[uredniški odbor Maja Primic Žakelj ... et al.]. - Ljubljana : Zveza slovenskih
društev za boj proti raku, 2014

ISBN 978-961-6377-31-7

1. Gl. stv. nasl. 2. Primic-Žakelj, Maja 3. Zveza slovenskih društev za boj proti
raku 4. Onkološki inštitut (Ljubljana) 5. Nacionalni inštitut za javno zdravje
275756032

Zbornik je pripravila in založila Zveza slovenskih društev za boj proti raku

Izdajo zbornika in izvedbo seminarja so omogočili:

FIHO, Ministrstvo za zdravje RS, Onkološki inštitut Ljubljana in sponzorji (gl. str. 4)

Zbornik je brezplačen. Namenjen je zdravnikom in drugim zdravstvenim delavcem,
profesorjem in predavateljem zdravstvene vzgoje in vsem drugim, ki delajo na področju
zdravstvene vzgoje.

Odgovorna urednica:	izr. prof. dr. Maja Primic Žakelj, dr. med.
Uredniški odbor:	izr. prof. dr. Maja Primic Žakelj, dr. med. prof. dr. Peter Černelč, dr. med. dr. Srdjan Novaković, univ. dipl. biol., znanstveni svetnik izr. prof. dr. Barbara Jezeršek Novaković, dr. med. doc. dr. Veronika Kloboves Prevodnik, dr. med. izr. prof. dr. Branko Zakotnik, dr. med. Fani Čeh, pedagoška svetovalka Amalija Zdešar, sekretarka
Recenzent:	prof. dr. Borut Štabuc, dr. med.
Oblikovanje naslovnice:	mag. Tjaša Žurga Žabkar
Lektor in tehnični urednik:	Tone Žakelj
Tisk:	Studio N, Ljubljana
Naklada:	1000 izvodov

Ljubljana, oktober 2014

KAZALO

UVODNIK

Maja Primic-Žakelj	5
--------------------------	---

EPIDEMIOLOŠKE ZNAČILNOSTI MALIGNOMOV KRVOTVORNEGA IN LIMFATIČNEGA TKIVA

Maja Primic-Žakelj, Tina Žagar, Vesna Zadnik	7
--	---

DIAGNOSTIKA LEVKEMIJ

Helena Podgornik	35
------------------------	----

HISTOLOŠKA IN CITOLOŠKA DIAGNOSTIKA MALIGNIH LIMFOMOV

Veronika Kloboves-Prevodnik	42
-----------------------------------	----

AKUTNA MIELOIČNA LEVKEMIJA

Samo Zver	51
-----------------	----

KRONIČNA MIELOIČNA LEVKEMIJA IN DRUGE KRONIČNE MIELOPROLIFERATIVNE BOLEZNI

Uroš Mlakar	64
-------------------	----

MIELODISPLASTIČNI SINDROM

Matjaž Sever	72
--------------------	----

NEZRELI LIMFOMI IN AKUTNE LEVKEMIJE CELIC B IN T

Matevž Škerget, Jožef Pretnar	82
-------------------------------------	----

ZRELI LIMFOMI CELIC B, T IN NK

Barbara Jezeršek-Novaković	88
----------------------------------	----

KRONIČNA LIMFOCITNA LEVKEMIJA

Peter Černelč, Helena Podgornik, Neda Gržinič	96
---	----

NOVOTVORBE PLAZMATK

Saša Anžej-Doma, Irena Preložnik-Zupan	105
--	-----

HODGKINOVIM LIMFOMIM

Tanja Južnič-Šetina	113
---------------------------	-----

LIMFOIDNE IN MIELOIDNE NEOPLAZME V OTROŠKEM OBDOBJU

Janez Jazbec, Lidija Kitanovski	123
---------------------------------------	-----

BANKE POPKOVNIČNE KRVI – MEDICINA IN POSEL

Primož Rožman, Metka Krašna, Marko Cukjati	129
--	-----

SEZNAM AVTORJEV	144
-----------------------	-----

XXII. seminar "In memoriam dr. Dušana Reje" so finančno podprli

AMGEN zdravila d.o.o., Ljubljana

ASTRA ZENECA UK Ltd, Ljubljana

Fundacija »Doc. dr. J. CHOLEWA«, 1000 Ljubljana

JOHNSON & JOHNSON d. o. o., Ljubljana

KRKA d. d. Novo mesto, Ljubljana

Lab Consulting, podjetje za svetovanje, d. o. o., Kamnik

MEDIAS International d. o. o., Ljubljana

MEDILINE, mešana trgovska družba, d. o. o., Kamnik

MERCK d. o. o., Ljubljana

PFIZER, Podružnica Ljubljana, Ljubljana

ROCHE farmacevtska družba d. o. o., 1000 Ljubljana

UVODNIK

Društvo za boj proti raku je bilo ustanovljeno 6. aprila 1970 na pobudo profesorice dr. Božene Ravnihar. Njegov namen je bil zmanjšati zbolewnost in umrljivost za rakom v Sloveniji ter gmotno pomagati pri opremljanju Onkološkega inštituta. V prvem desetletju delovanja so nastajala regijska društva, na njihovo pobudo pa je bila 1. marca 1984 ustanovljena Zveza slovenskih društev za boj proti raku. Danes povezuje 11 regijskih društev. Ministrstvo za zdravje Republike Slovenije je Zvezi podelilo status humanitarne organizacije in status društva, ki deluje v javnem interesu. Vizija Zveze slovenskih društev za boj proti raku skupaj z regijskimi društvi je postati prepoznaven deležnik v celovitem programu obvladovanja raka v Sloveniji.

Naše osnovno poslanstvo je skupaj z regijskimi društvi prispevati k ustvarjanju take slovenske družbe, v kateri ne bi nihče zbolel ali umrl za rakom zaradi lastne nevednosti ali zaradi brezbržnosti države. Najpomembnejša naloga Zveze je zdravstveno osveščati in izobraževati laično in strokovno javnost. Druge naše naloge so zagovorništvo, zbiranje sredstev za akcije, s katerimi poskušamo doseči etapne cilje, zastavljene v letnih načrtih, povezovanje regijskih društev za boj proti raku, sodelovanje z drugimi sorodnimi društvi in organizacijami doma, v Evropi in v svetu.

Pri zdravstvenem osveščanju laične javnosti imajo zelo pomembno vlogo vsi zdravstveni delavci na primarni ravni zdravstvenega varstva in zaposleni v šolstvu. Zato si Zveza že več let prizadeva s pomočjo uveljavljenih strokovnjakov dodatno približati znanje o vseh možnostih obvladovanja raka družinskim zdravnikom, drugim zdravstvenim delavcem in učiteljem zdravstvene vzgoje, ki naj to znanje predajajo ljudem, za katere skrbijo. Letos zato že dvaindvajsetič prirejamo seminar v spomin dr. Dušana Reje; tokrat je namenjen malignomom krvotornega in limfatičnega tkiva.

Malignomi krvotornega in limfatičnega tkiva so heterogena skupina bolezni, ki nastanejo zaradi nepovratne spremembe krvotorne matične celice ali celic limfatične vrste. V Sloveniji so v obdobju 2006–2010 primeri teh bolezni obsegale 6,7 % vseh rakov (brez nemelanomskega kožnega) in so bile tako po pogostosti na 5. mestu, takoj za raki debelega črevesa in danke, prostate, dojke in pljuč. Podobno kot v Evropi so bili pri nas najpogostejši ne-Hodgkinovi limfomi (2,7 %), sledile so levkemije (2,4 %), plazmocitom (1,2 %) in Hodgkinov limfom (0,5 %). Z razvojem molekularnih

in genetskih tehnik je mogoče natančneje opredeliti vrsto celičnih sprememb, ki nastanejo pri limfomih in levkemijah.

Svetovna zdravstvena organizacija je leta 2001 objavila posebno klasifikacijo, ki opredeljuje malignome krvotvornega in limfatičnega tkiva glede na imunofenotip, genetske spremembe in klinično sliko. Leta 2008 je bila ta klasifikacija posodobljena in v kliniki zamenjuje številne druge klasifikacije malignomov krvotvornega in limfatičnega tkiva. Molekularna diagnostika in genetski označevalci so vse bolj nepogrešljivi tudi za izbiro najustrežnejših zdravil in protokolov za zdravljenje, ki so prilagojeni posameznemu bolniku in njegovi bolezni.

Poleg zdravil se pri zdravljenju ljudi s temi boleznimi uporabljata tudi avto-logno in alogensko presajanje krvotvornih matičnih celic, tudi iz popkovnične krvi. Zbirajo jo banke popkovnične krvi in jih namenjajo zdravljenju teh in še drugih bolezni. Zanimivo bo izvedeti, kako nastajajo in za kaj vse predvidevajo, da jih bo mogoče uporabiti.

Zveza slovenskih društev za boj proti raku se zahvaljuje vsem predavateljem in podpornikom, ki ste sodelovali pri pripravi in izvedbi 22. Rejevega seminarja, ter vsem, ki ste nam s svojo udeležbo dokazali, da naše delo sprejemate in cenite.

Maja Primic Žakelj
predsednica

EPIDEMIOLOŠKE ZNAČILNOSTI MALIGNOMOV KRVOTVORNEGA IN LIMFATIČNEGA TKIVA

Maja Primic-Žakelj, Tina Žagar, Vesna Zadnik

Povzetek. Malignomi krvotvornega in limfatičnega tkiva so heterogena skupina bolezni, ki nastanejo zaradi nepovratne spremembe krvotvorne matične celice ali celic limfatične vrste. Diagnostika teh bolezni je postala z razvojem molekularnih in genetski tehnik natančnejša, zato se število različnih vrst bolezni in njihovo razvrščanje vedno bolj izpopolnjujeta. V kliniki se uporablja klasifikacija Svetovne zdravstvene organizacije iz leta 2008, v epidemiologiji pa zaenkrat večinoma še klasično razvrščanje v skladu z 10. revizijo *Mednarodne klasifikacije bolezni in sorodnih zdravstvenih problemov*, ki je za prikaz razširjenosti bolezni v svetu in v Sloveniji uporabljeno tudi v tem prispevku.

Malignomi krvotvornega in limfatičnega tkiva po incidenci obsegajo 6,5 % bremena raka na svetu in 6,8 % v Evropi (brez nemelanomskega kožnega). V Evropi so najpogostejši ne-Hodgkinovi limfomi (2,7 % vseh rakov), sledijo levkemije (2,4 %), plazmacitom (1,1 %) in Hodgkinov limfom (0,5 %).

V Sloveniji so v obdobju 2006–2010 te bolezni obsegale 6,7 % vseh rakov (brez nemelanomskega kožnega). Podobno kot v Evropi so bili pri nas najpogostejši ne-Hodgkinovi limfomi (2,7 %), sledile so levkemije (2,4 %), plazmacitom (1,2 %) in Hodgkinov limfom (0,5 %).

V prispevku so prikazani incidenca v obdobju 2006–2010, trend incidenčnih in umrljivostnih stopenj posameznih skupin bolezni v Sloveniji, starostno specifična incidenčna stopnja in populacijsko preživetje bolnikov. Na koncu so povzeti doslej znani dejavniki tveganja posameznih skupin teh bolezni.

UVOD

Za epidemiologe, pa tudi klinike, so malignomi krvotvornega in limfatičnega tkiva poseben izziv. Če želimo proučevati breme bolezni in dejavnike tveganja, pa tudi primerno zdraviti, potrebujemo ustrezen način, kako številčno označiti vrsto (morfologija) in mesto (topografija) bolezni in jih razvrstiti v skupine, čemur so namenjene klasifikacije bolezni. V registrih raka pri razvrščanju bolezni upoštevamo mednarodna priporočila za registre, tako da so podatki med državami primerljivi. Morfološke vrste malignomov krvotvornega in limfatičnega tkiva razvrščamo po *Mednarodni klasifikaciji bolezni za onkologijo* (MKB-O-3) (1), v večje skupine pa jih združujemo po 10. reviziji *Mednarodne klasifikacije bolezni in sorodnih zdravstvenih problemov* (MKB-10) (2). Leta 2010 izdana različica MKB-10 je uvedla nekaj sprememb v združevanju posameznih vrst malignomov krvotvornega in limfatičnega tkiva v večje skupine (MKB-10, verzija 2010 (3)). Največje razlike so pri klasifikaciji malignomov limfatičnega tkiva. MKB-10 iz leta 2010 ni bila nikoli sprejeta kot uradna klasifikacija v slovenski zdravstveni statistiki in v mednarodnih epidemioloških prikazih. Ker pa natančnejše opredeljuje posamezne vrste limfatičnih malignomov, smo v letnem poročilu slovenskega Registra raka podatke za zbolele leta 2010 prikazali po obeh verzijah MKB-10 (4).

Z razvojem molekularnih in genetskih tehnik je mogoče natančneje opredeliti vrsto celičnih sprememb, ki nastanejo pri limfomih in levkemijah, in zato bolj usmerjeno zdraviti. S tem se večja tudi število različnih vrst bolezni, njihovo razvrščanje pa izpopolnjuje. Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) je leta 2001 objavila posebno klasifikacijo, ki opredeljuje malignome krvotvornega in limfatičnega tkiva glede na imunofenotip, genetske spremembe in klinično sliko (5). Leta 2008 je bila ta klasifikacija posodobljena (6) in v kliniki zamenjuje številne dodatne klasifikacije malignomov krvotvornega in limfatičnega tkiva. V registrih raka zaenkrat še ni uveljavljena, uporablja pa se v klinični praksi. O njej več v naslednjih prispevkih.

V tem pregledu bo breme malignomov krvotvornega in limfatičnega tkiva prikazano po klasifikacijah in skupinah, kot jih prikazujejo registri raka. Kode MKB-10 in njim pripadajoče kode za morfolologijo po MKBO-3, ki sodijo v te skupine, so prikazane v Tabeli 1. Samo pri ne-Hodgkinovih limfomih dodajamo k prikazu bremena bolezni po klasični MKB-10 (2) tudi razvrstitev po MKB-10, verzija 2010 (3). Malignih imunoproliferativnih bolezni zaradi premajhnega števila (4 novi primeri v 5 letih) v tem prispevku ne obravnavamo.

Breme bolezni bo opisano z osnovnimi epidemiološkimi kazalniki – incidenco, umrljivostjo in s preživetjem bolnikov. Incidenca pomeni število vseh v enem koledarskem letu na novo ugotovljenih primerov raka v točno določeni populaciji. Groba incidenčna stopnja je število novih primerov, preračunano na 100.000 oseb opazovane populacije. Če analiziramo incidenco v daljšem časovnem obdobju (običajno se starostna struktura prebivalstva v času spreminja) ali če primerjamo incidenco med populacijami z različno starostno strukturo, je treba uporabiti eno od metod starostne standardizacije. Starostno standardizirana stopnja je teoretična incidenčna stopnja, pri kateri predpostavimo, da je starostna struktura opazovane populacije enaka starostni strukturi v standardni populaciji (7).

Preživetje bolnikov je prikazano kot relativni odstotni delež preživetja, ki pomeni razmerje med opazovanim preživetjem proučevane skupine in preživetjem, ki bi ga pričakovali pri enako stari skupini istega spola v slovenski populaciji. Je približek preživetja bolnikov, če bi upoštevali kot vzrok smrti samo izbranega raka. Metoda je natančneje opisana v knjigi *Preživetje bolnikov z rakom v Sloveniji 1991–2005* (8).

Za Slovenijo so prikazani rezultati analize podatkov Registra raka Republike Slovenije (RRRS), ki smo jih iz računalniške baze izpisali 18. julija 2014. Prav zato so nekateri rezultati drugačni od objavljenih v letnih poročilih RRRS ali v knjigi *Preživetje bolnikov z rakom v Sloveniji 1991–2005* (8).

Po podatkih RRRS je v obdobju 2006–2010 za malignomi krvotvornega in limfatičnega tkiva v Sloveniji zbolelo skupaj 4.130 ljudi (2.133 moških in 1.997 žensk); to je 826 povprečno letno (427 moških in 399 žensk). Leta

2010 je zbolelo 845 ljudi (444 moških in 401 žensk). V letih 2006–2010 so primeri te bolezni obsegali 6,7 % vseh novih primerov raka (brez nemelanomskega kožnega).

Tabela 1. Kode MKB-10 (2) in njim pripadajoče kode za morfologijo po MKB-O-3 (1), ki sodijo v posamezne skupine malignomov krvotvornega in limfatičnega tkiva.

Opis	Razvrščanje po MKB-10	Pripadajoče morfologije po MKB-O-3
Hodgkinov limfom	C81	9650–9655, 9659, 9661–9665, 9667
Ne-Hodgkinov limfom	C82–C85	9590, 9591, 9596, 9670, 9671, 9673, 9675, 9678–9680, 9684, 9687, 9689–9691, 9695, 9698, 9699, 9700–9702, 9705, 9708, 9709, 9714, 9716–9719, 9727–9729
Imunoproliferativne bolezni	C88	9760–9764
Plazmacitom	C90	9731–9734
Akutna limfoblastna levkemija	C91.0	9826, 9835–9837
Kronična limfocitna levkemija	C91.1	9823
Akutna mieloična levkemija	C92.0, C92.4, C92.5, C93.0, C94.0, C94.2, C94.4, C94.5, C95.0	9801, 9840, 9861, 9866, 9867, 9870–9874, 9891, 9895–9897, 9910, 9920, 9931
Kronična mieloična levkemija	C92.1, C93.1	9863, 9875, 9876
Kronične mieloproliferativne bolezni	C94.1, C96.7	9950, 9960, 9961, 9962, 9964
Mielodisplastični sindromi	C96.7	9980, 9982, 9983, 9984, 9985, 9989
Druge levkemije	C91.3, C91.4, C91.5, C91.7, C91.9, C92.3, C92.7, C92.9, C94.3, C95.1, C95.7, C95.9, C96.0, C96.1, C96.2, C96.3	9740, 9741, 9742, 9750, 9754, 9755, 9800, 9805, 9820, 9827, 9832–9834, 9860, 9930, 9940, 9945, 9946

MALIGNI LIMFOMI

Maligni limfomi so raznolika skupina rakavih bolezni, ki nastanejo zaradi nenadzorovanega razraščanja celic limfatičnega tkiva. Klasično jih delimo v Hodgkinov limfom (HL) in ne-Hodgkinove limfome (NHL). Klasifikacija SZO razvršča limfome glede na vrsto celic, iz katerih nastanejo, v B-celične in T/NK-celične, na zrele in nezrele in na Hodgkinov limfom (4). Vsako od teh skupin sestavlja večje število bolezni, ki se razlikujejo po morfologiji, imunoloških in genetskih značilnostih, kliničnem poteku, možnostih zdravljenja in izidu bolezni. Po tej klasifikaciji sodijo med zrele B-celične in T/NK-celične limfome tudi plazmacitom in kronična limfocitna levkemija, med nezrele pa akutna limfoblastna levkemija. V opisu bremena bolezni so limfomi razvrščeni klasično po 10. reviziji MKB v HL in NHL, kot jih še vedno prikazujejo tudi mednarodne podatkovne zbirke, npr. *GLOBOCAN* (9) in *EUCAN* (10), plazmacitom, akutna limfoblastna (ALL) in kronična limfocitna levkemija (KLL) bosta prikazani posebej.

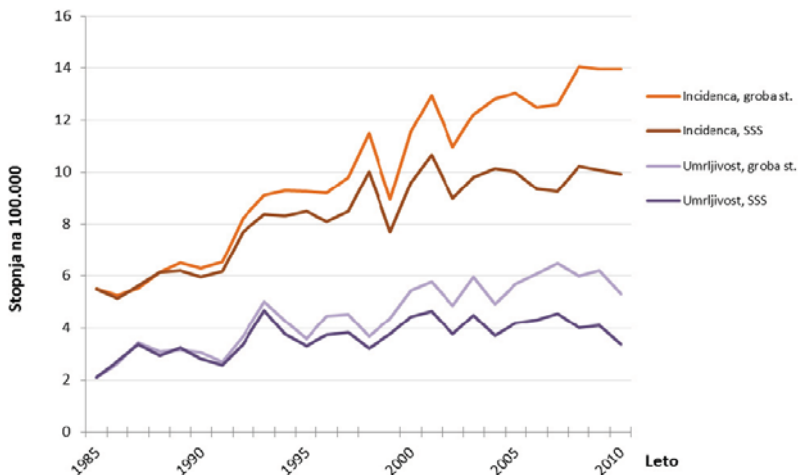
Ne-Hodgkinovi limfomi

Ocenjujejo, da so od 14,090.149 novih primerov raka (brez nemelanomskega kožnega) na svetu (7,427.148 pri moških in 6,663.001 pri ženskah) leta 2012 primeri ne-Hodgkinovega limfoma (NHL) obsegali 2,7 % vsega bremena raka (2,9 % pri moških in 2,5 % pri ženskah). Od 8,201.030 smrti zaradi raka (4,653.132 moških in 3,547.898 žensk) jih je bilo 2,4 % zaradi NHL (2,5 % moških in 2,4 % žensk) (8). Starostno standardizirana incidenčna stopnja je večja v bolj razvitih svetovnih področjih, največja v S Ameriki, Avstraliji in na Novi Zelandiji ter v severni in zahodni Evropi (9).

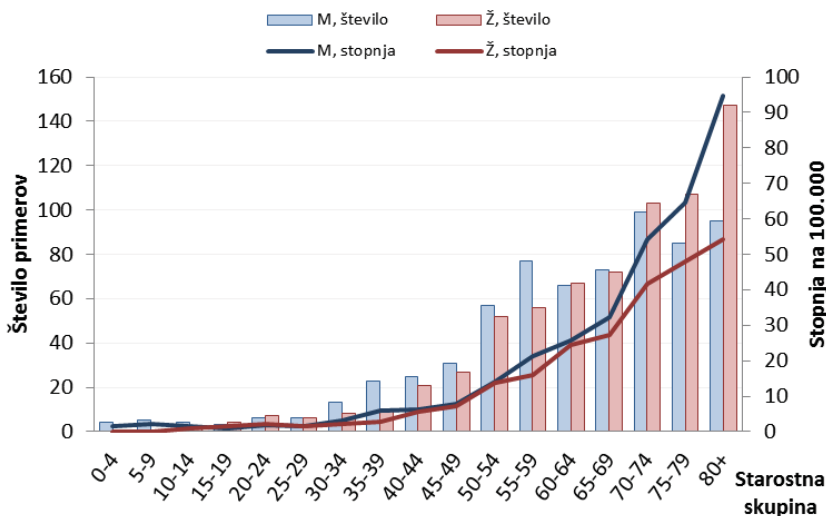
V Evropi je bila leta 2012 ocenjena starostno standardizirana incidenčna stopnja NHL (evropski standard) pri obeh spolih skupaj 9,8/100.000 (11,9/100.000 pri moških in 8,0/100.000 pri ženskah). Največja je bila na Finskem, Irskem in Nizozemskem (> 15/100.000), najmanjša pa v Bosni in Hercegovini, Grčiji in Albaniji (< 3/100.000). Slovenija je bila z ocenjeno stopnjo 10,5/100.000 (11,9/100.000 pri moških in 9,4/100.000 pri ženskah) v sredini lestvice evropskih držav (10).

V Sloveniji je v obdobju 2006–2010 za NHL zbolelo 1.365 ljudi, 673 moških in 692 žensk, letno v povprečju 135 moških in 138 žensk (154 moških in 134 žensk v letu 2010). Groba incidenčna stopnja je pri obeh spolih podobna (v letih 2006–2010 je bila povprečna letna groba incidenčna stopnja 13,4/100.000), starostno standardizirana pa je, kot drugod na svetu in v Evropi (11), nekoliko večja pri moških kot pri ženskah. Ne glede na te razlike se od leta 1985 incidenčna stopnja veča, bolj groba kot starostno standardizirana (Slika 1), saj so NHL pogostejši pri starejših (Slika 2). Zato

porast grobe incidenčne stopnje pripisujemo predvsem staranju prebivalstva, ne toliko večjemu vplivu dejavnikov tveganja. Podobno kot drugod na svetu (10) je bil porast incidenčne stopnje večji do leta 2000. Starostno standardizirana umrljivostna stopnja se od leta 2003 ne veča, nakazuje se celo zmanjševanje umrljivosti po letu 2007 (Slika 1).



Slika 1. Groba in starostno standardizirana incidenčna in umrljivostna stopnja za ne-Hodgkinov limfom, Slovenija 1985–2010.



Slika 2. Povprečna starostno specifična incidenca in incidenčna stopnja za ne-Hodgkinov limfom po spolu, Slovenija 2006–2010.

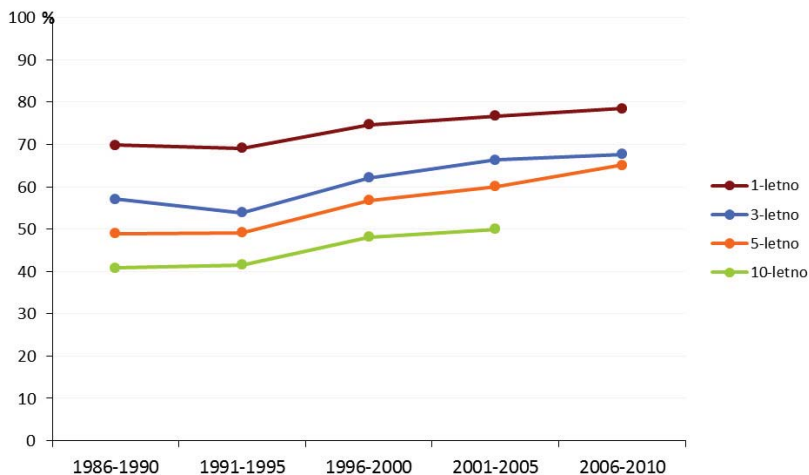
Pogostejše vrste NHL, razvrščene v skladu z MKB 10, verzija 2010 (3) (vendar samo kode od C82 do C85, brez imunoproliferativnih bolezni, brez plazmacitoma, ALL in KLL) skupaj z morfološkimi kodami MKB-O-3 prikazuje Tabela 2. V letih 2006–2010 so bili najpogostejši difuzni velikocelični limfomi B (605 novih primerov; 44,3 %).

Tabela 2. Število in odstotni delež pogostejših (najmanj 10 primerov v 5 letih pri obeh spolih skupaj) vrst ne-Hodgkinovega limfoma po spolu in pri obeh spolih skupaj, Slovenija 2006–2010.

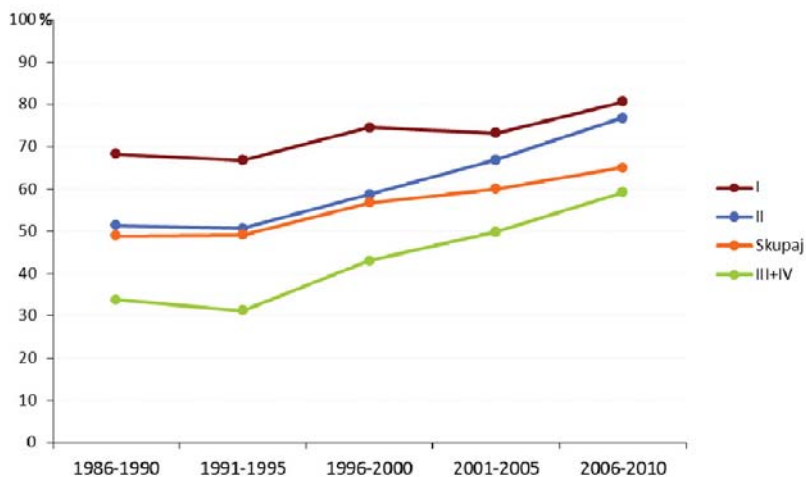
Naziv	Koda MKB-10 (2010)	Koda MKB-O-3 za morfologijo	Moški		Ženske		Oba spola skupaj	
			Število	%	Število	%	Število	%
Difuzni velikocelični limfom B	C83.3	9680, 9684	293	43,5	312	45,1	605	44,3
Ekstranodalni limfom marginalne cone (MALTom)	C88.4	9699	61	9,1	68	9,8	129	9,5
Limfom plaščnih celic	C83.1	9673	72	10,7	29	4,2	101	7,4
Drobnoocelični limfom B neopredeljen	C83.0	9670, 9671, 9689	44	6,5	44	6,4	88	6,4
Folikularni limfom, stopnja III	C82.2	9698	25	3,7	38	5,5	63	4,6
Folikularni limfom, stopnja II	C82.1	9691	25	3,7	35	5,1	60	4,4
Periferni limfom T	C84.4	9702	25	3,7	20	2,9	45	3,3
Folikularni limfom, stopnja I	C82.0	9695	11	1,6	21	3,0	32	2,3
Anaplastični velikocelični limfom, ALK pozitiven	C84.6	9714	12	1,8	20	2,9	32	2,3
Folikularni limfom, neopredeljen	C82.9	9690	14	2,1	11	1,6	25	1,8
Burkittov limfom	C83.7	9687	15	2,2	3	0,4	18	1,3
Mediastinalni (timični) velikocelični limfom B	C85.2	9679	6	0,9	10	1,4	16	1,2
Angioimunoblastni limfom T	C86.5	9705	3	0,4	7	1,0	10	0,7
Drugi opredeljeni NHL	C82.6, C83.5, C84.0, C84.8, C85.7, C86.0, C86.1, C86.2, C86.3, C86.6	9596, 9690, 9700, 9708, 9709, 9716, 9717, 9718, 9719, 9727, 9729, 9761	29	4,3	24	3,5	53	3,9
Ne-Hodgkinov limfom, neopredeljen	C85.9		38	5,6	50	7,2	88	6,4
Skupaj			673	100,0	692	100,0	1365	100,0

Pri 39 % bolnikov, zbolelih v letih 2006–2010, je bila bolezen odkrita v stadijih bolezni I in II po klasifikaciji Ann-Arbor (12), pri 45 % v stadijih III in IV, pri 16 % pa stadij ni bil določen. V primerjavi z bolniki, zbolelimi v letih 1985–1990, se je nekoliko zmanjšal delež bolnikov s prvima dvema stadijem, verjetno na račun natančnejše diagnostike; presenetljivo pa se je zvečal delež bolnikov z nedoločenim stadijem (z 8 %, zbolelih v letih 1985–1990).

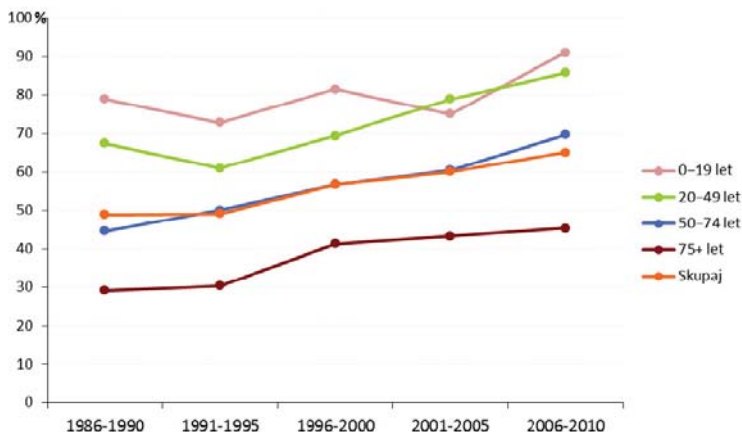
Petletno relativno preživetje vseh bolnikov z NHL je le orientacijski kazalnik napredka na področju diagnostike in zdravljenja NHL, saj poleg vseh značilnosti, ki ga ima populacijsko preživetje, odseva tudi raznolikost v številu in poteku različnih bolezni, ki sodijo v to skupino. Spodbudno pa je, da se postopno veča, z 49,0 % v obdobju 1986–1990 na 65,1 % v obdobju 2006–2010 (Slika 3). Največje petletno relativno preživetje so imeli v zadnjem obdobju bolniki s prvim stadijem bolezni (80,7 %) (Slika 4) in tisti, ki so zboleli mlajši od 50 let (Slika 5).



Slika 3. Deset-, pet-, tri- in enoletno relativno preživetje bolnikov z ne-Hodgkinovim limfomom po spolu po obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.



Slika 4. Petletno relativno preživetje bolnikov z ne-Hodgkinovim limfomom po stadiju in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.



Slika 5. Petletno relativno preživetje bolnikov z ne-Hodgkinovim limfomom po starosti in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.

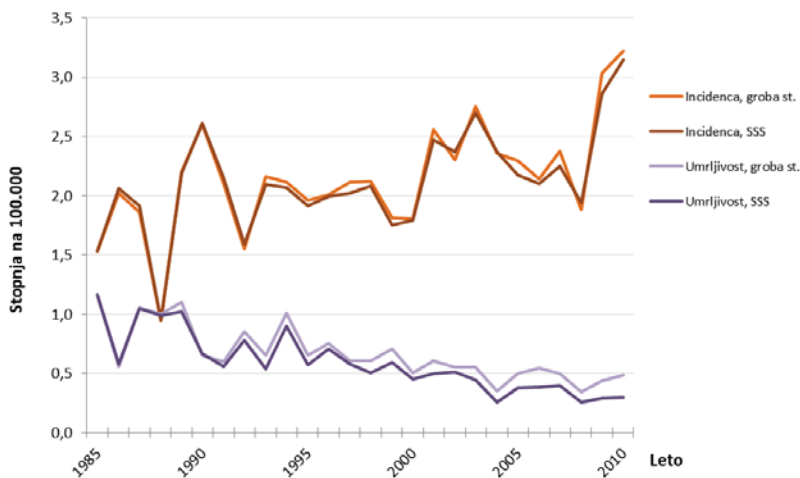
Hodgkinov limfom

Ocenjujejo, da so leta 2012 primeri HL obsegali 0,5 % svetovnega bremena raka (0,5 % pri moških in 0,4 % pri ženskah). Od vseh smrti za rakom je bilo 0,3 % smrti zaradi HL (0,3 % pri moških in enako pri ženskah) (8). Podobno kot pri NHL je starostno standardizirana incidenčna stopnja večja v bolj razvitih svetovnih področjih, največja v S Ameriki, Avstraliji in na Novi Zelandiji ter v severni in zahodni Evropi (8).

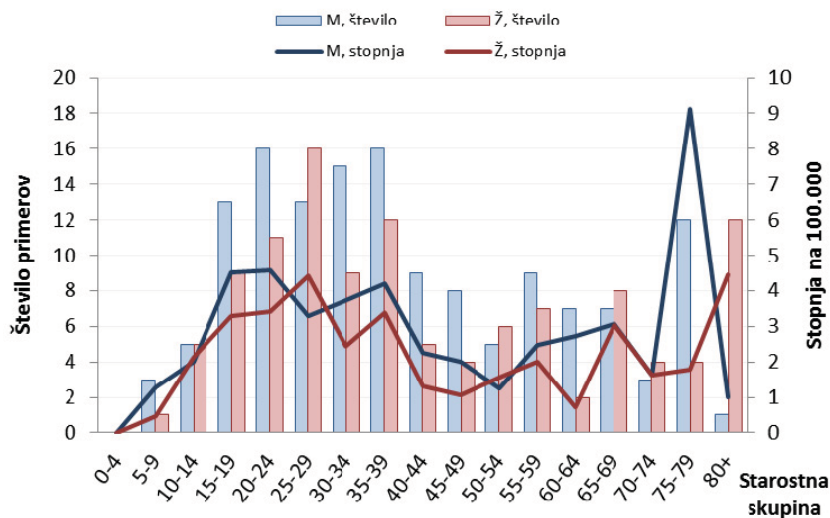
V Evropi je bila leta 2012 pri obeh spolih skupaj ocenjena starostno standardizirana incidenčna stopnja (evropski standard) HL 2,3/100.000 (2,5/100.000 pri moških in 2,1/100.000 pri ženskah). Največja je bila na Hrvaškem, v Belgiji, Franciji in v Švici (> 2,8/100.000), najmanjša pa na Islandiji, v Romuniji in v Albaniji (< 1,4/100.000). Slovenija je bila z ocenjeno stopnjo 1,9/100.000 (2,2/100.000 pri moških in 1,5/100.000 pri ženskah) v spodnji tretjini lestvice evropskih držav (9).

V Sloveniji je v obdobju 2006–2010 za HL zbolelo 257 ljudi, 142 moških in 115 žensk, letno v povprečju 28 moških in 23 žensk. Groba incidenčna stopnja je nekoliko večja pri moških (povprečna letna v obdobju 2006–2010 je bila 2,8 pri moških in 2,2 pri ženskah), pri obeh spolih skupaj se počasi veča, od 1,5/100.000 leta 1985 na 3,2/100.000 leta 2010. Med grobo in starostno standardizirano stopnjo ni bistvenih razlik, saj za HL zbolivajo mlajši. Groba umrljivostna stopnja se je v 20 letih skoraj prepolovila – z 1,2/100.000 se je zmanjšala na 0,5/100.000 (Slika 6). Starostno specifična

incidenčna stopnja kaže pri obeh spolih dva vrhova, enega pri mlajših odraslih in drugega pri starejših (Slika 7).

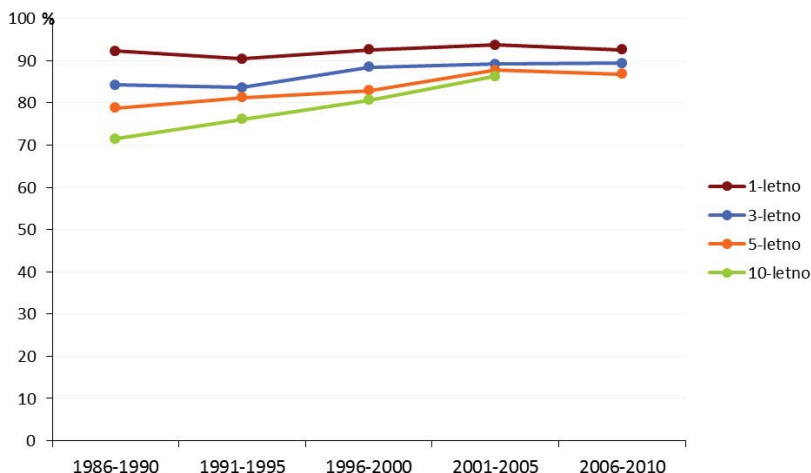


Slika 6. Groba in starostno standardizirana incidenčna in umrljivostna stopnja za Hodgkinov limfom, Slovenija 1985–2010.

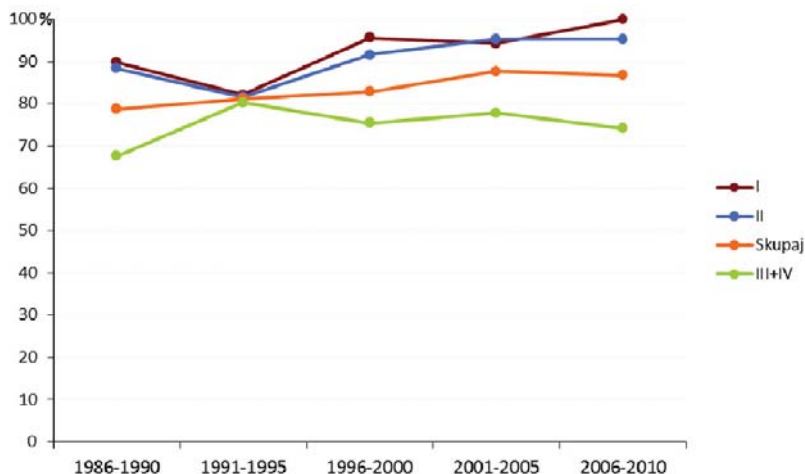


Slika 7. Povprečna starostno specifična incidenca in incidenčna stopnja za Hodgkinov limfom po spolu, Slovenija 2006–2010.

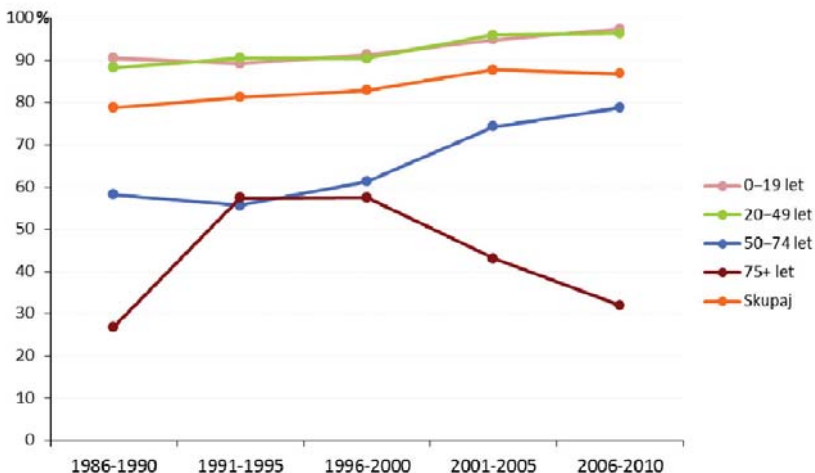
Tudi HL je skupina več različnih bolezni. V letih 2006–2010 so bili med 257 novimi primeri HL najpogostejši tip nodularna skleroza (42,4 %), sledila je mešanocelična oblika (39,3 %), nodularna oblika s prevladovanjem limfocitov (4,3 %), HL z deplecijo limfocitov (1,6 %); neopredeljenega HL je bilo 12,5 %.



Slika 8. Deset-, pet-, tri- in enoletno relativno preživetje bolnikov s Hodgkinovim limfomom po obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.



Slika 9. Petletno relativno preživetje bolnikov s Hodgkinovim limfomom po stadiju in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.



Slika 10. Petletno relativno preživetje bolnikov s Hodgkinovim limfomom po starosti in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.

Pri 56 % bolnikov, zbolelih v letih 2006–2010, je bila bolezen odkrita v stadijih bolezni I in II po klasifikacij Ann-Arbor (11), pri 40 % v stadijih III in IV, pri 4 % stadij ni bil določen. V primerjavi z bolniki, zbolelimi v letih 1991–1995, se je delež bolnikov z zgodnejšima stadijema zvečal za 9 odstotnih točk, za 10 odstotnih točk pa se je zmanjšal delež bolnikov s poznejšima stadijema.

Petletno relativno preživetje vseh bolnikov s HL se postopno veča, z 78,8 % v obdobju 1986–1990 na 86,8 % v obdobju 2006–2010 (Slika 8). Največje petletno relativno preživetje so imeli v zadnjem obdobju bolniki s prvim stadijem bolezni (100 %) (Slika 9) in tisti, ki so zboleli mlajši od 50 let (Slika 10).

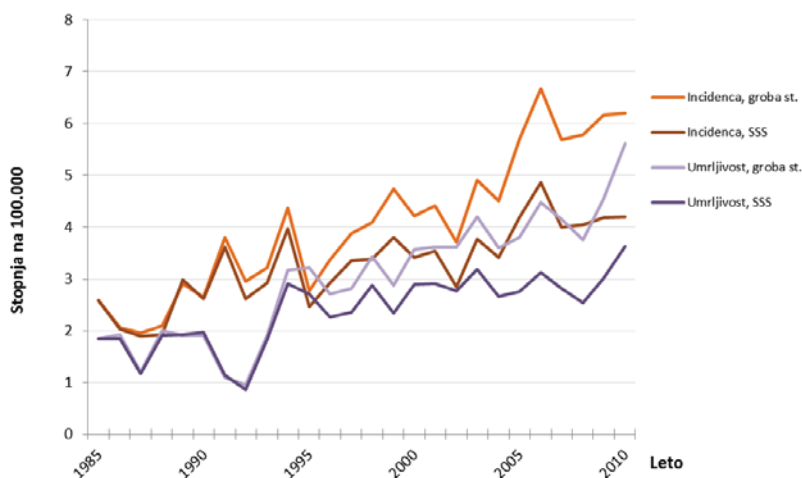
Plazmacitom

Ocenjujejo, da so leta 2012 primeri plazmacitoma obsegali 0,8 % svetovnega bremena raka, približno enako pri moških kot pri ženskah. Od vseh smrti za rakom je bilo 1,0 % zaradi plazmacitoma (0,9 % pri moških in 1,0 % pri ženskah) (8). Starostno standardizirana incidenčna stopnja je – podobno kot pri NHL in HL – večja v S. Ameriki, Avstraliji in v zahodni Evropi (8).

V Evropi je bila leta 2012 pri obeh spolih skupaj ocenjena starostno standardizirana incidenčna stopnja (evropski standard) plazmacitoma 3,8/100.000 (4,7/100.000 pri moških in 3,1/100.000 pri ženskah). Največja je bila na Norveškem, v Franciji in na Irskem (nad 6,0/100.000), najmanjša pa v Bosni in Hercegovini, Makedoniji in v Albaniji (manj kot 1,0/100.000). Slovenija je

bila z ocenjeno stopnjo 4,7/100.000 (6,0/100.000 pri moških in 3,6/100.000 pri ženskah) v zgornji tretjini lestvice evropskih držav (9).

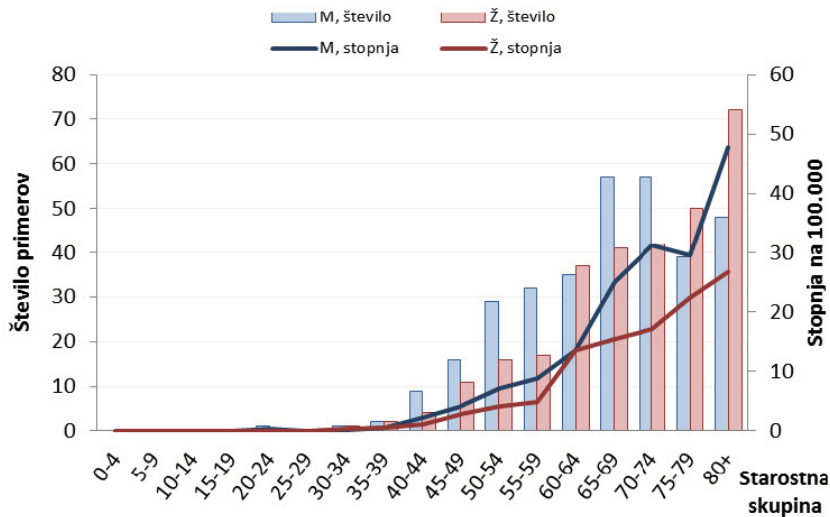
V Sloveniji je v obdobju 2006–2010 za plazmacitomom zbolelo 619 ljudi, 326 moških in 293 žensk, letno v povprečju 65 moških in 59 žensk. Groba incidenčna stopnja je nekoliko večja pri moških (povprečna letna v obdobju 2006–2010 6,5 pri moških in 5,7 pri ženskah), pri obeh spolih skupaj se postopno večja, z 2,6/100.000 leta 1985 na 6,2/100.000 leta 2010 (Slika 11), predvsem zaradi staranja prebivalstva, saj je plazmacitom pretežno bolezen starejših (Slika 12); starostno standardizirana umrljivostna stopnja je od leta 1995 ustaljena (Slika 11).



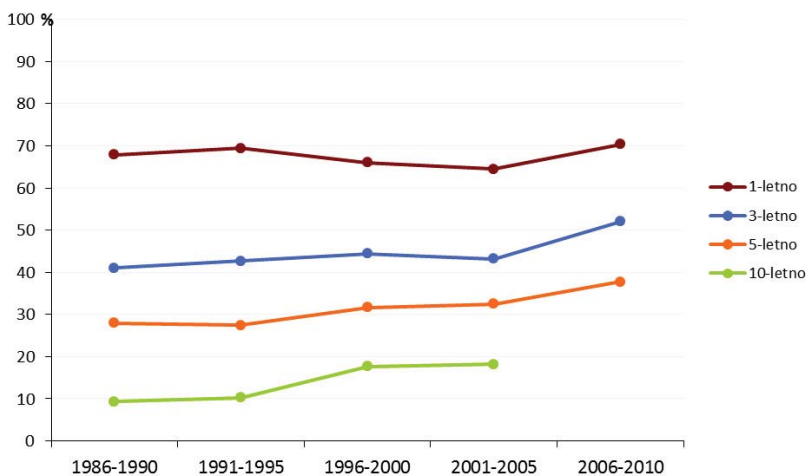
Slika 11. Groba in starostno standardizirana incidenčna in umrljivostna stopnja pri plazmacitomu, Slovenija 1985–2010.

Plazmacitom je skupina več različnih bolezni. Med vsemi 619 bolniki, zbolelimi v letih 2006–2010, jih je imelo ob diagnozi 554 (89,5 %) difuzni plazmacitom, 48 (7,8 %) solitarnega, 10 (1,6 %) ekstrapredularnega in 7 (1,1 %) plazmocitno levkemijo.

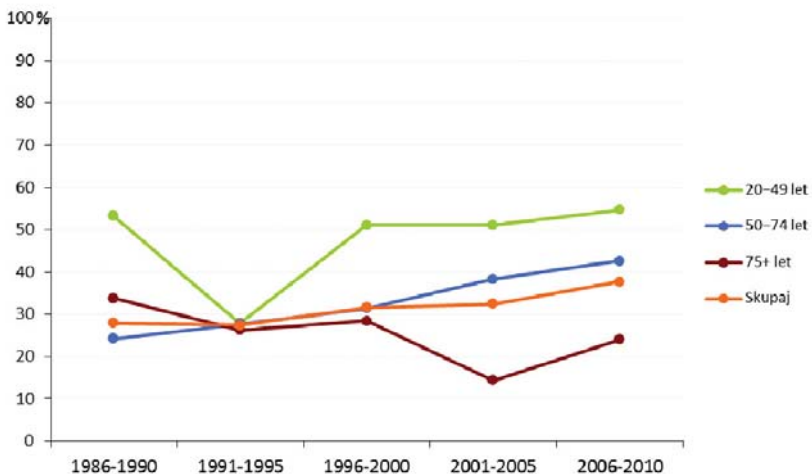
Petletno relativno preživetje vseh bolnikov s plazmacitomom se le postopno večja, z 28,0 % v obdobju 1986–1990 na 37,7 % v obdobju 2006–2010 (Slika 13). Največje petletno relativno preživetje so imeli v zadnjem obdobju bolniki, ki so zboleli mlajši od 50 let bolnikov (Slika 14), vendar v tej starosti zbolijo manj kot 10 % vseh.



Slika 12. Povprečna starostno specifična incidenca in incidenčna stopnja pri plazmacitomu po spolu, Slovenija 2006–2010.



Slika 13. Deset-, pet-, tri- in enoletno relativno preživetje bolnikov s plazmacitomom po obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.



Slika 14. Petletno relativno preživetje bolnikov s plazmacitomom po starosti in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.

LEVKEMIJE

Tudi levkemije so, podobno kot limfomi, raznolika skupina rakavih bolezni, ki nastanejo zaradi okvare in nenadzorovanega razraščanja krvotvornih matičnih celic in celic limfatične vrste. Klasično se delijo v akutne (limfoblastna in mieloblastna) in kronične levkemije (limfocitna in mieloična). V mednarodnih epidemioloških podatkovnih zbirkah praviloma najdemo podatke le za vse levkemije skupaj, kliniki pa za njihovo razvrščanje v zadnjih letih uporabljajo klasifikacijo SZO (4), po kateri se akutna limfoblastna levkemija razvršča med nezrele B-celične in T/NK-celične limfome, kronična limfocitna levkemija pa med zrele. V opisu bremena levkemij v Sloveniji je uporabljena klasična razvrstitev levkemij v akutne in kronične limfoblastne/limfocitne in mieloične.

Ocenjujejo, da je leta 2012 za levkemijami na svetu zbolelo 351.965 ljudi, kar je 2,5 % svetovnega bremena raka (2,7 % pri moških in 2,3 % pri ženskah). Od vseh smrti za rakom je bilo 3,2 % zaradi levkemij (3,3 % pri moških in 3,2 % pri ženskah) (8). Podobno kot limfomi so tudi levkemije pogostejše v bolj razvitih svetovnih področjih, v S Ameriki, Avstraliji, na Novi Zelandiji ter v severni in zahodni Evropi (8).

V Evropi je bila leta 2012 pri obeh spolih skupaj ocenjena starostno standardizirana incidenčna stopnja (evropski standard) 8,8/100.000 (11,3/100.000 pri

moških in 6,9/100.000 pri ženskah). Največja je bila na Cipru, na Irskem in v Grčiji (nad 11,0/100.000), najmanjša pa v Moldaviji in Bosni in Hercegovini, Grčiji in Albaniji (manj kot 5,0/100.000). Slovenija je bila z ocenjeno stopnjo 8,4/100.000 (10,4/100.000 pri moških in 7,1/100.000 pri ženskah) v spodnji polovici lestvice evropskih držav (9).

Celovitih podatkov o razširjenosti posameznih vrst levkemij v svetu in v Evropi zaenkrat ni, izsledki raziskave HAEMACARE prikazujejo incidenčno stopnjo hematoloških malignomov v obdobju 2000–2002 po podatkih 44 registrov raka v Evropi, razvrščenih po posebej prilagojeni klasifikaciji za ta projekt. Pri levkemijah je bila največja starostno standardizirana incidenčna stopnja kronične limfocitne levkemije (KLL; 3,79/100.000), sledile so akutna mieloična levkemija (AML; 2,96/100.000), akutna limfoblastna levkemija (ALL; 1,42/100.000) in kronična mieloična levkemija (KML; 0,92/100.000) (13).

V Sloveniji je v obdobju 2006–2010 za levkemijami zbolelo 1.219 ljudi, 691 moških in 528 žensk, letno v povprečju 244 ljudi (138 moških in 106 žensk). Največji delež novih primerov je imela KLL (41,3 %), sledili so primeri z AML (37,2 %), ALL (8,6 %) in KML (6,5 %); 6,4 % bolnikov je imelo druge vrste levkemij.

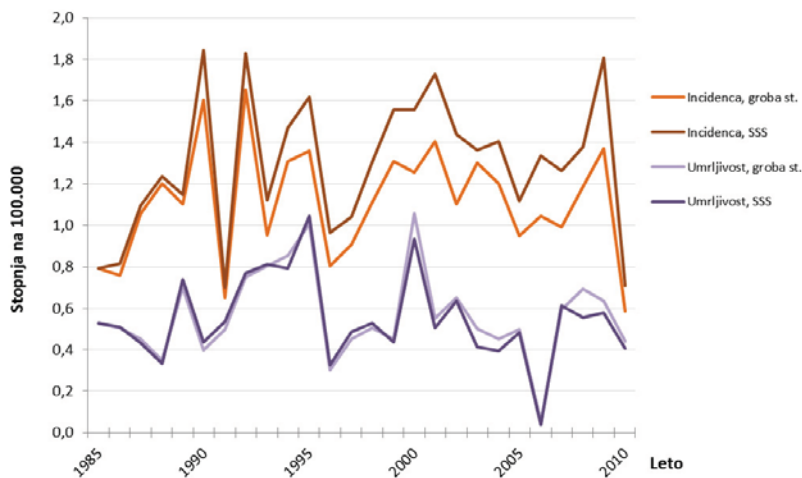
Akutna limfoblastna levkemija

ALL je redka bolezen, vendar je tudi najpogostejši malignom pri otrocih, starih 0–14 let (Slika 16). V Sloveniji je v obdobju 2006–2010 za ALL zbolelo 105 ljudi (60 moških in 45 žensk), letno v povprečju 21. Med vsemi bolniki v tem obdobju je bilo 45 otrok, starih 0–14 let (23 dečkov in 22 deklic); med otroki so primeri ALL v tem časovnem obdobju obsegali 22 % vseh primerov rakov.

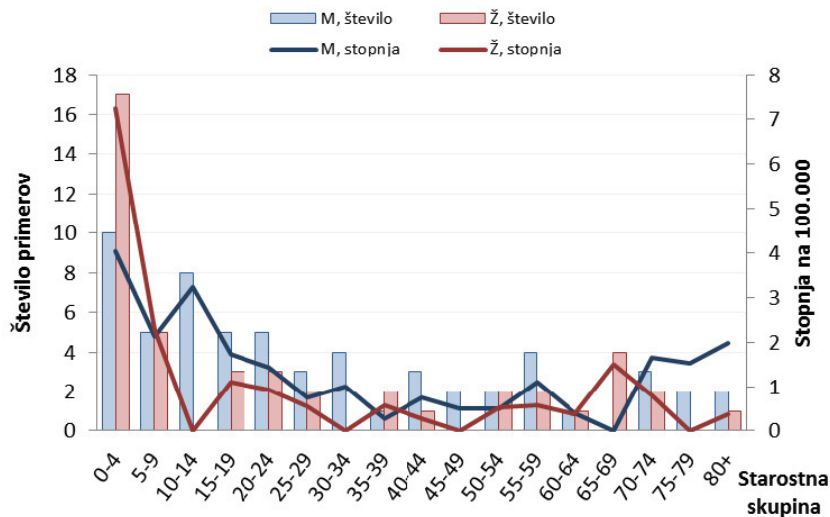
Groba incidenčna stopnja kaže zaradi majhnega števila primerov v posameznem letu precejšnja nihanja, vseeno pa ni opaziti spreminjajočih se trendov v obdobju 1985–2010. V 2006–2010 je bila povprečna letna groba incidenčna stopnja 1,0/100.000 prebivalcev (1,2 pri moških in 0,9 pri ženskah). Ker je bolezen pogostejša pri mladih, je razumljivo, da je starostno standardizirana stopnja večja od grobe. Groba in starostno standardizirana umrljivostna stopnja nakazujeta rahel padajoč trend po letu 2000 (Slika 15).

Petletno relativno preživetje vseh bolnikov z ALL se v zadnjem desetletju ni bistveno spremenilo (Slika 17), razlikuje pa so glede na starost ob diagnozi. Največje petletno relativno preživetje so imeli mladi bolniki (0–19 let), ki so zboleli v obdobju 2001–2005 (87,6 %); v zadnjem desetletju se je v starosti 20–49 let preživetje zvečalo za več kot 25 odstotnih točk (Slika 18). Zaradi majhnih števil in širokih intervalov zaupanja pa je potrebna previdnost pri interpretaciji teh rezultatov. Zato zaradi premajhnih števil na Sliki 18 ni nari-

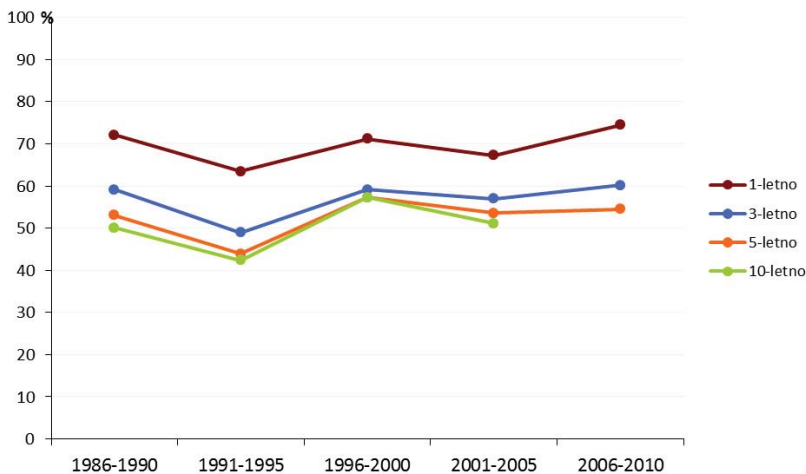
sano preživetje bolnikov, starih 75 let in več, ter bolnikov, starih 50–74 let ob diagnozi v letih 1991–1995 ter 1996–2000.



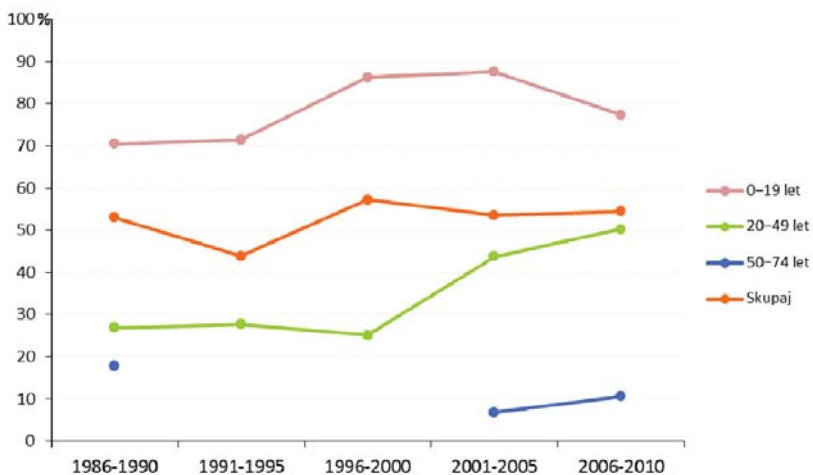
Slika 15. Groba in starostno standardizirana incidenčna in umrljivostna stopnja pri akutni limfoblastni levkemiji, Slovenija 1985–2010.



Slika 16. Povprečna starostno specifična incidenca in incidenčna stopnja pri akutni limfoblastni levkemiji po spolu, Slovenija 2006–2010.



Slika 17. Deset-, pet-, tri- in enoletno relativno preživetje bolnikov z akutno limfoblasto levkemijo po obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.

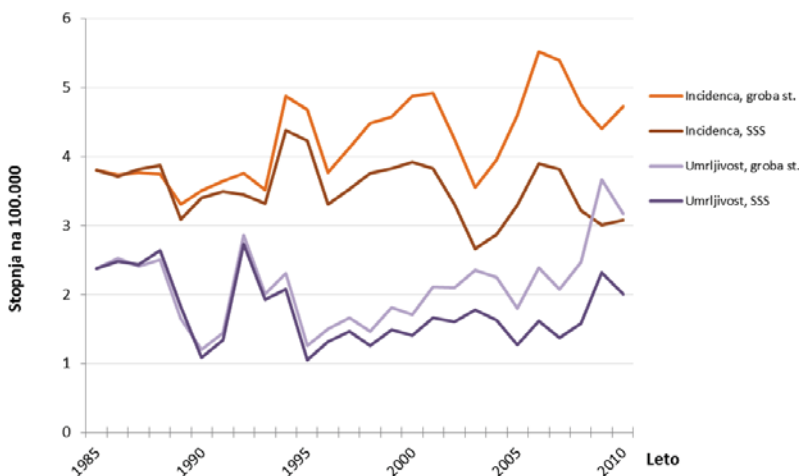


Slika 18. Petletno relativno preživetje bolnikov z akutno limfoblasto levkemijo po starosti in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010. Zaradi majhnih števil in širokih intervalov zaupanja ni narisano preživetje bolnikov, starih ≥ 75 let ob diagnozi, ter bolnikov, starih 50–74 let, zbolelih v obdobjih 1991–1995 in 1996–2000.

Kronična limfocitna levkemija

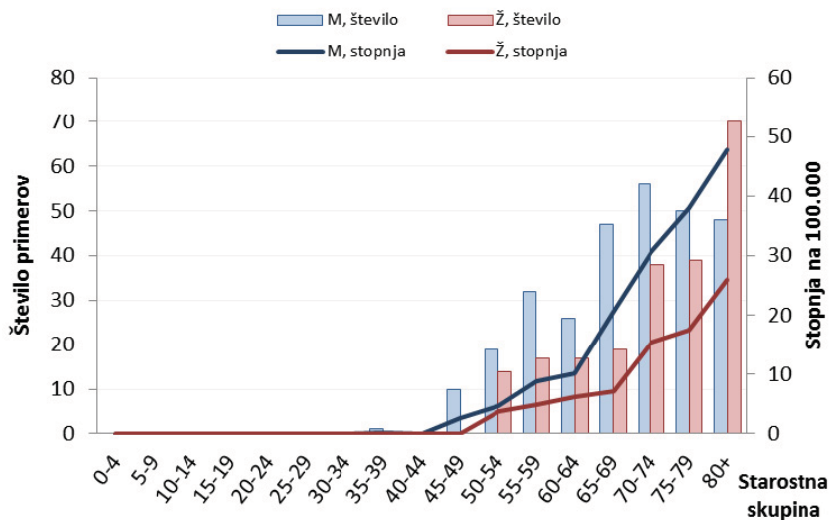
KLL je podobno kot drugod po svetu tudi pri nas najpogostejša levkemija pri odraslih; izjemno je redka pri mlajših od 50 let. V obdobju 2006–2010 je bila pri obeh spolih skoraj polovica bolnikov ob diagnozi starih 50–74 let, ostali pa so bili še starejši (Slika 20). V Sloveniji je v obdobju 2006–2010 za KLL zbolelo 503 ljudi (289 moških in 214 žensk), letno v povprečju okrog 100. Kot drugod je tudi pri nas bolezen pogostejša pri moških.

Groba incidenčna stopnja se po letu 1990 zmerno večja, medtem ko se starostno standardizirana manjša; povprečna letna groba incidenčna stopnja v obdobju 2006–2010 je bila 5,0/100.000 (5,8 pri moških in 4,2 pri ženskah). Groba in starostno standardizirana umrljivostna stopnja imata po letu 1995 rastoč trend (Slika 19).

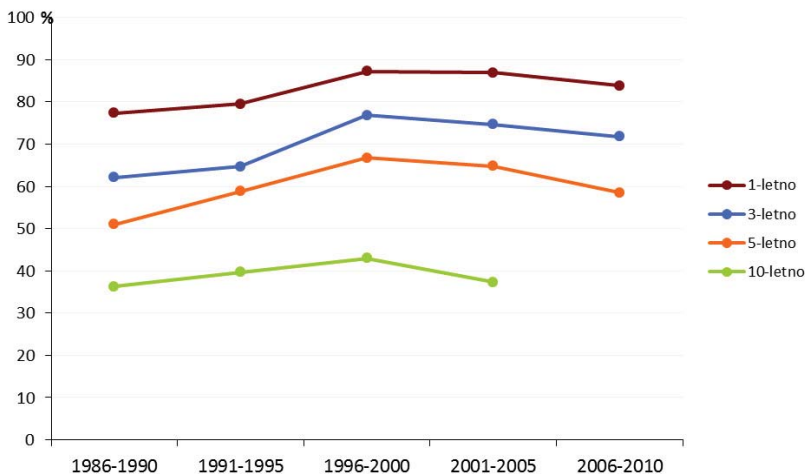


Slika 19. Groba in starostno standardizirana incidenčna in umrljivostna stopnja pri kronični limfocitni levkemiji, Slovenija 1985–2010.

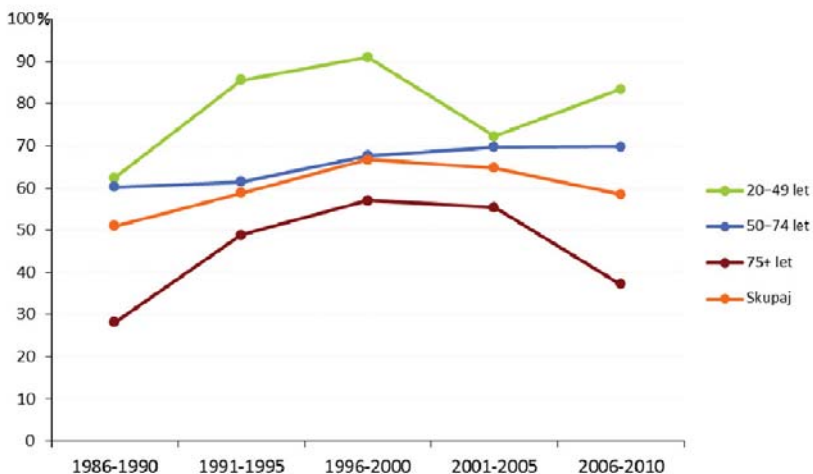
Petletno relativno preživetje vseh bolnikov s KLL se je v zadnjem desetletju nekoliko zmanjšalo (Slika 21), predvsem zaradi slabšanja preživetja v najstarejši starostni skupini. V starostni skupini 50–74 let se je v dvajsetih letih preživetje postopno zvečalo za 10 odstotnih točk. Preživetje se je sicer večalo tudi pri najstarejši skupini, razlog zmanjšanja v zadnjem obdobju bo treba še preveriti (Slika 22).



Slika 20. Povprečna starostno specifična incidenca in incidenčna stopnja pri kronični limfocitni levkemiji po spolu, Slovenija 2006–2010.



Slika 21. Deset-, pet-, tri- in enoletno relativno preživetje bolnikov s kronično limfocitno levkemijo po obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.



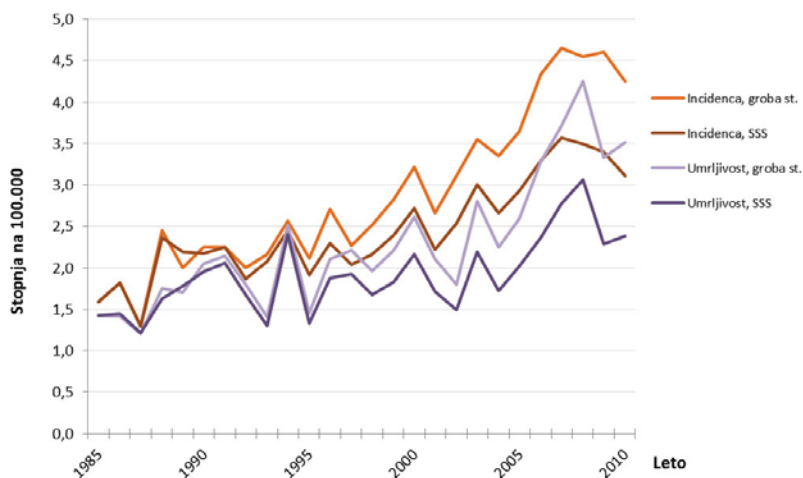
Slika 22. Petletno relativno preživetje bolnikov s kronično limfocitno levkemijo po starosti in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.

Akutna mieloična levkemija

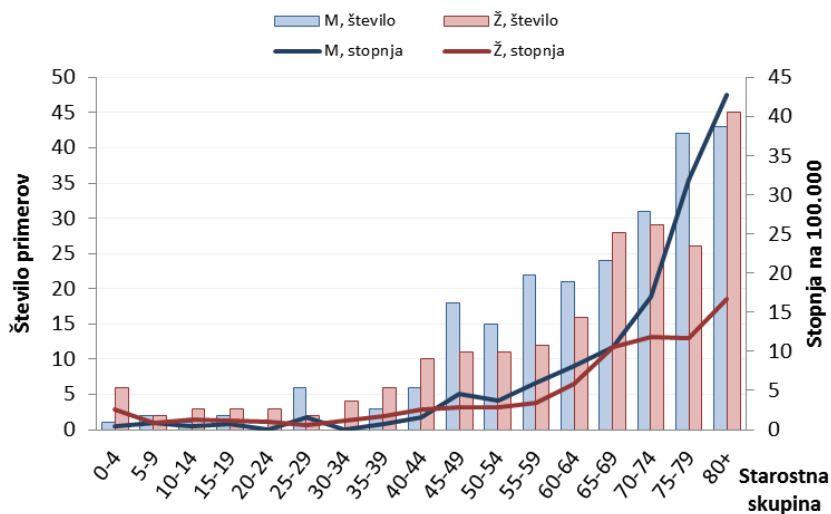
Tudi AML je raznolika skupina bolezni; klasifikacija SZO jo razvršča v AML z značilnimi citogenetskimi spremembami, v AML z displazijo več celičnih vrst, v AML zaradi kemoterapije in/ali obsevanja in v nekategorizirano (6).

AML je podobno kot drugod po svetu druga najpogostejša levkemija pri odraslih in je izjemno redka bolezen pri mlajših od 50 let. V obdobju 2006–2010 je pred 50. letom starosti zbolelo le 16 % moških in 23 % žensk (Slika 24). Kot drugod je tudi pri nas bolezen pogostejša pri moških. V Sloveniji je v obdobju 2006–2010 za AML zbolelo 454 ljudi (237 moških in 217 žensk), letno v povprečju okrog 90.

Groba incidenčna in umrljivostna stopnja se po letu 1995 večata. Povprečna letna groba incidenčna stopnja v obdobju 2006–2010 je bila 4,5/100.000 (4,7 pri moških in 4,2 pri ženskah). Trend rasti obeh starostno standardiziranih stopenj je počasnejši (Slika 23), saj je bolezen pogostejša pri starejših.



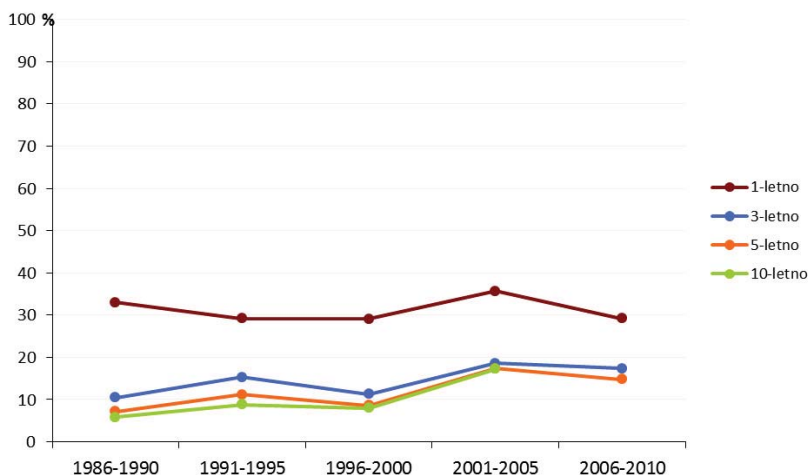
Slika 23. Groba in starostno standardizirana incidenčna in umrljivostna stopnja pri akutni mieločni levkemiji, Slovenija 1985–2010.



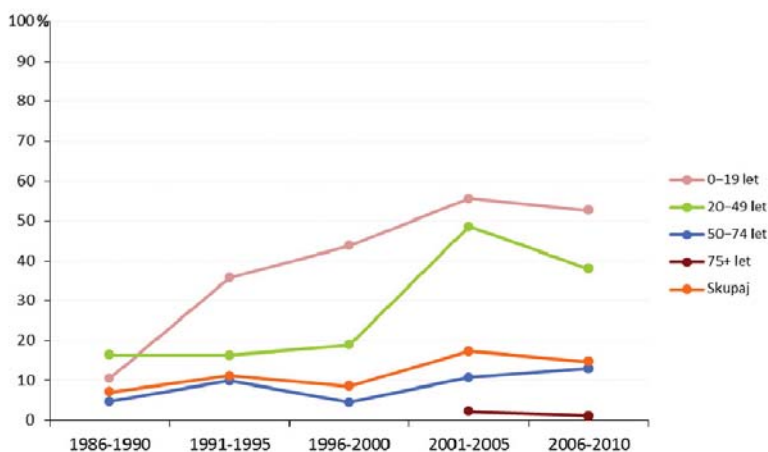
Slika 24. Povprečna starostno specifična incidenca in incidenčna stopnja pri akutni mieločni levkemiji po spolu, Slovenija 2006–2010.

Petletno relativno preživetje vseh bolnikov z AML se postopno večja, je pa še vedno manjše od 20 % (Slika 25). Večje izboljšanje je pri mlajših od 50 let,

medtem ko bolniki, stari 75 let in več, ne preživijo več kot 5 let po diagnozi (Slika 26).



Slika 25. Deset-, pet-, tri- in enoletno relativno preživetje bolnikov z akutno mieloično levkemijo po obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.

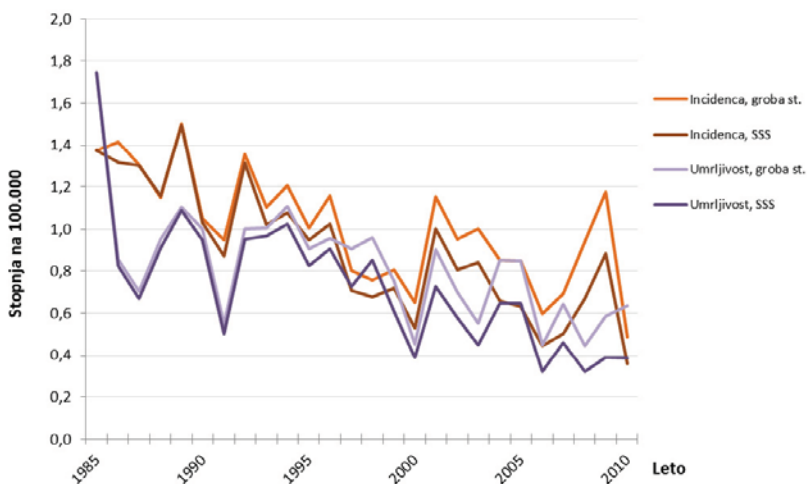


Slika 26. Petletno relativno preživetje bolnikov z AML po starosti in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010. Zaradi majhnih števil in širokih intervalov zaupanja ni narisano preživetje za starostno skupino ≥ 75 let za obdobja 1986–1990, 1991–1995 in 1996–2000.

Kronična mieloična levkemija

KML je maligna novotvorba krvotvorne matične celice, ki jo uvrščamo med mieloproliferativne bolezni.

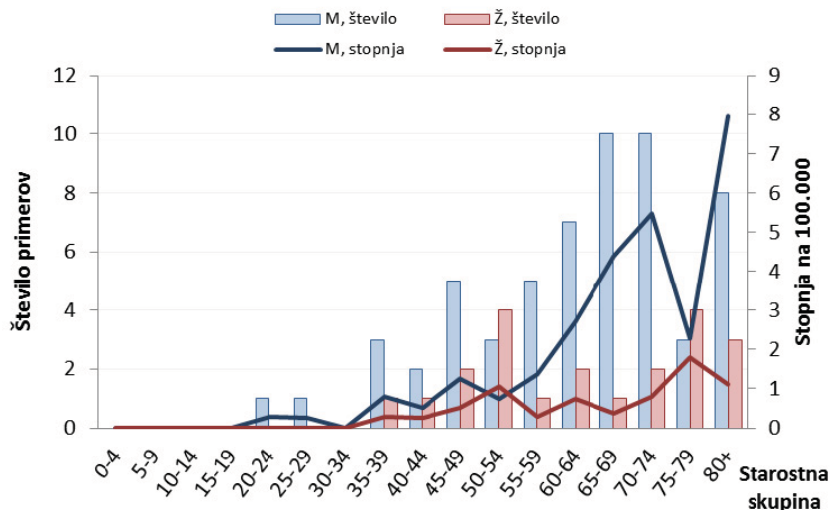
KML je v Sloveniji najredkejša od opredeljenih levkemij. V obdobju 2006–2010 je za njo zbolelo 79 ljudi (58 moških in 21 žensk), letno v povprečju 16. Bolezen je pogostejša pri moških in pri starejših; v obdobju 2006–2010 je pred 50. letom starosti zbolelo le 20 % moških in 19 % žensk (Slika 28). Povprečna groba incidenčna stopnja v tem obdobju je bila pri obeh spolih 0,8/100.000 (1,2/100.000 pri moških in 0,4/100.000 pri ženskah). Incidenčni in umrljivostni stopnji se v vsem opazovanem obdobju nekoliko manjšajo (Slika 27). Groba incidenčna stopnja je v Sloveniji manjša od ugotovljene v raziskavi HAEMACARE (13) za obdobje 2000–2002; možno je, da pri nas vsi primeri niso diagnosticirani ali pa so pomanjkljivo prijavljeni v RRRS.



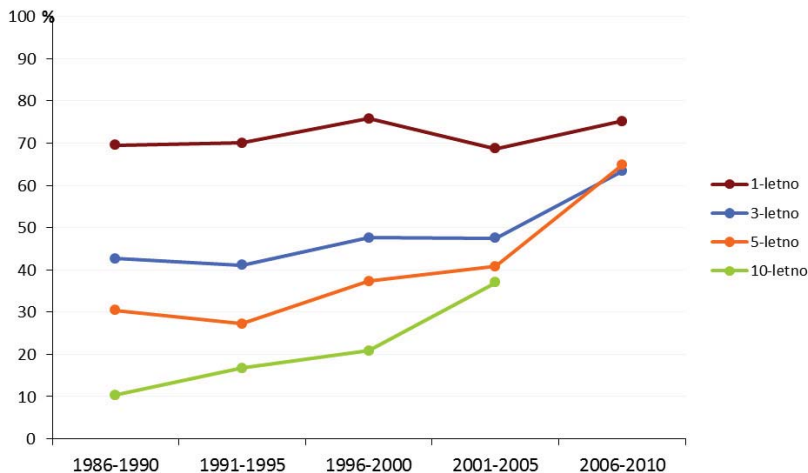
Slika 27. Groba in starostno standardizirana incidenčna in umrljivostna stopnja pri kronični mieloični levkemiji, Slovenija 1985–2010.

Petletno relativno preživetje vseh bolnikov s KML se v vsem opazovanem obdobju veča, še posebej v zadnjem desetletju (Slika 29). Petletno relativno preživetje bolnikov, zbolelih v letih 2001–2005, je bilo 40,8 %, tistih, zbolelih v letih 2006–2010, pa 64,8 %. Največji napredek je pri mlajših od 50 let, saj od 16 bolnikov, diagnosticiranih v letih 2006–2010, do leta 2014 nihče ni umrl (Slika 30). Večanje preživetja v zadnjem obdobju zagotovo odseva

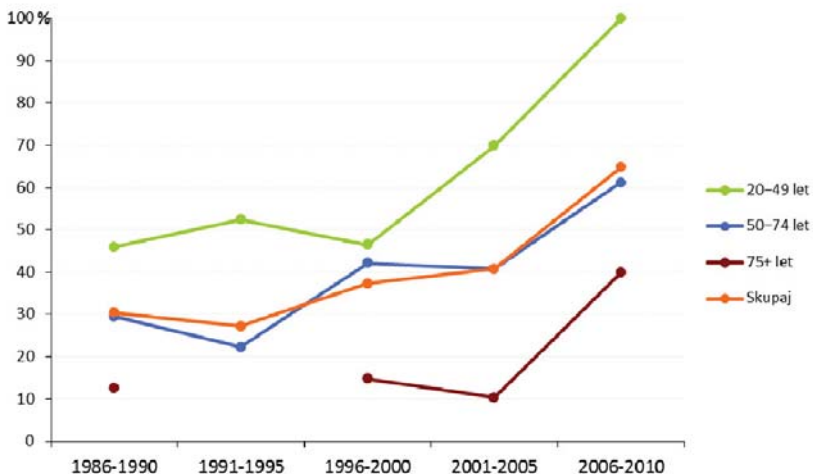
zdravljenje z imatinibom in drugimi zdravili v skladu z najsodobnejšimi priporočili (14).



Slika 28. Povprečna starostno specifična incidenca in incidenčna stopnja pri kronični mieloični levkemiji po spolu, Slovenija 2006–2010.



Slika 29. Deset-, pet-, tri- in enoletno relativno preživetje bolnikov s kronično mieloično levkemijo po obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010.



Slika 30. Petletno relativno preživetje bolnikov s kronično mieloično levkemijo po starosti in obdobju postavitve diagnoze, Slovenija 1986–2010. Zaradi majhnih števil in širokih intervalov zaupanja ni narisano preživetje bolnikov, starejših od 75 let, zbolelih v obdobju 1991–1995.

DRUGE KRONIČNE MIELOPROLIFERATIVNE BOLEZNI IN MIELODISPLASTIČNI SINDROM

Poleg KML smo v RRRS v obdobju 2006–2010 registrirali še 356 primerov drugih kroničnih mieloproliferativnih bolezni: 211 primerov esencialne trombocitemije (povprečna letna groba incidenčna stopnja je bila 2,0/100.000), 68 primerov primarne mielofibroze (0,7/100.000), 66 primerov prave policitemije (0,7/100.000), 10 primerov neklasificirane kronične mieloproliferativne bolezni (0,1/100.000) in 1 primer kronične eozinofilne levkemije.

Od 314 mielodisplastičnih sindromov, registriranih v obdobju 2006–2010, je bilo največ neopredeljenih (140; 1,4/100.000), sledile so refraktarne anemije (111; 1,1/100.000), refraktarna anemija s presežkom blastnih celic (44 primerov; 0,4/100.000), refraktarne anemije s sideroblasti (12; 0,1/100.000) in refraktarne anemije z displazijo več celičnih vrst (6).

DEJAVNIKI TVEGANJA MALIGNOMOV KRVOTVORNEGA IN LIMFATIČNEGA TKIVA

Rakotvornost posameznih dejavnikov ugotavljajo z bazičnimi in epidemiološkimi raziskavami. Pri bazičnih laboratorijskih raziskavah gre za kratkotrajne poskuse na celičnih kulturah in bakterijah ter za dolgotrajne na živalih. Z

analitičnimi epidemiološkimi pa preverjajo povezanost med izpostavljenostjo in rakom pri človeku. O tem, ali je ta zveza res vzročna, večinoma presojuje skupine strokovnjakov, ki snovi na osnovi strogo določenih meril razvrščajo v več skupin glede na stopnjo dokazane povezanosti z rakom.

Tabela 3. Dejavniki, ki so jih v Mednarodni agenciji za raziskovanje raka iz Lyona (International Agency for Research on cancer, IARC) razvrstili kot dokazane ali verjetne karcinogene za malignome krvotvornih in limfatičnih tkiv (16).

Karcinogen	Vzročna povezava	Verjetna povezava
Kemikalije in mešanice		
benzen	levkemija (akutna, nelimfocitna)	levkemija (ALL, KLL, plazmocitom, NHL)
1,3-butadien	hematolimfatični organi	
etilen oksid	-	HL, plazmocitom, KLL
formaldehid	levkemije (predvsem mieloične)	
2,3,7,8-tetrakloro-dibenzo-para-dioksin	-	NHL
Poklici		
pleskanje	-	otroške levkemije, če so bile izpostavljene matere
gumarska industrija	levkemije, limfomi	
Sevanje		
alfa-delci		
- radon-222 in razpadni produkti	-	levkemije
- torij-232 in razpadni produkti	levkemije (razen KLL)	
beta-delci		
- fosfor-32	levkemije (akutne)	
- stroncij-90	levkemije	
X in gama sevanje	levkemije (razen KLL)	plazmocitom, NHL
elektromagnetna polja zelo nizkih frekven		otroške levkemije
Biološki dejavniki		
Epstein-Barrov virus	Burkittov limfom, HL, nekateri limfomi (ekstranodalni T/NK), NHL (povezan z imunsko supresijo)	
virus hepatitisa C	NHL	
HTLV, tip1	levkemije in/ali limfomi (T-celični pri odraslih)	
herpes-virus (HV) 8/Kaposijev sarkom HV	limfomi	
Helicobacter pylori	limfom MALT želodca	
HIV tip 1	NHL	
Razvade		
kajenje tobaka	mieloična levkemija	otroške levkemije pri otrocih kadičcev (zlasti ALL)
Zdravila		
azatioprin	NHL	
busulfan	AML	
klorambucil	AML	
ciklofosfamid	AML	
ciklosporin	NHL	
etopozid		AML
etopozid s cisplatinom in bleomicinom	AML	
melfalan	AML	
MOPP	AML	
semustin	AML	
tiotepa	levkemije	
treosulfan	AML	

Mednarodna agencija za raziskovanje raka iz Lyona (*International Agency for Research on cancer*, IARC), ki je posebna agencija SZO, že več kot 40 let na osnovi zbranih rezultatov različnih raziskav s pomočjo skupin strokovnjakov razvršča kemične, biološke in fizikalne dejavnike glede na stopnjo dokazov za vzročno povezavo z rakom v več skupin (15). Tabela 3 prikazuje kemične, fizikalne in biološke dejavnike, ki so bodisi dokazano ali verjetno povezani z malignomi krvotvornega in limfatičnega tkiva. V prvi skupini so vsi tisti dejavniki, ki so dokazano karcinogeni za človeka, torej je vzročna povezava med dejavnikom in rakavo boleznijo trdna. Verjetna povezava pa pomeni, da vzročna povezava med dejavnikom in rakavo boleznijo ne izpolnjuje vseh meril za odločitev o vzročnosti; večinoma so sem uvrščeni dejavniki iz skupin 2A in 2B (16).

Leta 2011 so v posebnih publikacijah povzeli vse dotedanje izsledke in preiskovane dejavnike ponovno razvrstili glede na stopnjo povezanosti z rakom oz. posameznimi rakavimi boleznimi (17). V dosedanjih analitičnih epidemioloških raziskavah etiologije malignomov krvotvornega in limfatičnega tkiva večinoma še ni upoštevana natančnejša morfološka klasifikacija SZO, zato se večina raziskav nanaša bodisi na celotno skupino bolezni ali večje skupine. Z natančnejšo razvrstitvijo bo mogoče natančneje iskati tudi dejavnike tveganja posameznih vrst bolezni. Glede na to, da so te posamezne vrste bolezni večinoma zelo redke, pa bo za proučevanje njihove etiologije zagotovo treba združiti primere bolezni iz več držav.

LITERATURA

1. World Health Organisation. International classification of diseases for Oncology. 3rd ed. Geneva: World Health Organisation, 2000.
2. Inštitut za varovanje zdravja RS. Mednarodna klasifikacija bolezni in sorodnih zdravstvenih problemov za statistične namene. 10. revizija (International statistical classification of diseases and related health problems). Ljubljana: Inštitut za varovanje zdravja, 1995.
3. World Health Organisation. International statistical classification of diseases and related health problems – 10th revision, edition 2010 (4th ed.). Geneva: WHO Press, 2011. Doseženo 11. 9. 2014 s spletne strani <http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en>.
4. Rak v Sloveniji 2010. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana, Epidemiologija in register raka, Register raka Republike Slovenije, 2013. Doseženo 11. 9. 2014 s spletne strani http://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/dokumenti/RRS/LP_2010.pdf.
5. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editors. World Health Organization classification of tumours: Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press, 2001.
6. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al, editors. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press, 2008.
7. Zadnik V, Primič-Žakelj M. SLORA. Slovenija in rak. Epidemiologija in register raka. Onkološki inštitut Ljubljana. Doseženo 20. 8. 2014 s spletne strani <http://www.slora.si>.

8. Primic-Žakelj M, Zadnik V, Žagar T, Zakotnik B. Preživetje bolnikov z rakom, zbolelih v letih 1991–2005 v Sloveniji (Survival of cancer patients, diagnosed in 1991–2005 in Slovenia). Ljubljana: Onkološki inštitut, 2009.
9. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: IARC Press, 2013. Doseženo 20. 8. 2014 s spletne strani <http://globocan.iarc.fr>.
10. Steliarova-Foucher E, O'Callaghan M, Ferlay J, Masuyer E, Forman D, Comber H, Bray F. European Cancer Observatory: Cancer Incidence, Mortality, Prevalence and Survival in Europe. Version 1.0 (September 2012) European Network of Cancer Registries, IARC. Doseženo 20. 8. 2014 s spletne strani <http://eco.iarc.fr>.
11. Roman E, Smith AG. Epidemiology of lymphomas. *Histopathology* 2011; 58: 4–14.
12. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the committee on Hodgkin's disease staging classification. *Cancer Res* 1971; 31: 1860–1.
13. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMA-CARE project. *Blood* 2010; 116: 3724–34.
14. Preložnik Zupan I, Pajič T, Glaser M, Grmek-Zemljič T, Grat M, Fikfak N, et al. Epidemiološki podatki bolnikov s kronično mieloično levkemijo v Sloveniji (2002–2007). *Zdrav Vestn* 2008; 77: 51–5.
15. IARC. Preamble to the IARC monographs. Lyon, France: IARC, 2006. Doseženo 20. 8. 2014 s spletne strani <http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/index.php>.
16. IARC. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. A review of human carcinogens. Lyon, France: IARC, 2011; 100. Doseženo 20. 8. 2014 s spletne strani <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/PDFs/index.php>.
17. Coglianò VJ, Baan R, Straif K. Preventable exposures associated with human cancers. *JNCI* 2011; 103: 1–13.

DIAGNOSTIKA LEVKEMIJ

Helena Podgornik

Povzetek. Akutne levkemije so model celovitega in sodobnega pristopa k diagnostiki, ki se je uveljavil tudi pri drugih malignih krvnih boleznih. Biološko so akutne levkemije tako heterogene bolezni, da postavev diagnoze zahteva širok nabor laboratorijskih preiskav: citomorfologijo, imunofenotipizacijo z večparametrično pretočno citometrijo, citogenetiko z analizo proganih kromosomov in fluorescenčno hibridizacijo *in situ* ter molekularno genetiko.

Citomorfološki pregled krvi oziroma kostnega mozga je izhodiščna preiskava za postavitev diagnoze. Nekatere specifične najdbe kažejo na nekatere imunofenotipske in genetske značilnosti. Imunofenotipizacija je ključna za opredelitev celične vrste in tako tudi za izbiro zdravljenja ter njegov čim hitrejši začetek. Kromosomske in genetske preureditve omogočajo natančno postavitev diagnoze v skladu z razvrstitvijo levkemij Svetovne zdravstvene organizacije (SZO). Hkrati so tudi močan napovedni dejavnik. Značilni imunofenotip levkemičnih celic ter molekularnogenetski označevalci kasneje služijo za spremljanje učinkovitosti zdravljenja oziroma občutljivo zaznavajo morebitne ponovitve bolezni po doseženi remisiji. Zlasti takrat, ko ne dobimo ustreznega ali zadostnega vzorca za preiskave, je potrebno opraviti tudi histopatološke preiskave. Smiselno je, da diagnostiko vodimo stopenjsko, in pri tem združujemo in primerjamo vse izsledke. Končni rezultat mora biti hitra in natančna postavitev diagnoze, celovita opredelitev napovednega pomena in določitev morebitnih označevalcev za kasnejše spremljanje učinkovitosti zdravljenja.

UVOD

Pojem levkemije obsega raznovrstne akutne in kronične maligne novotvorbe. Še zlasti akutne levkemije (AL), mieloblastne (AML) in limfoblastne (ALL) so zaradi raznolikih mehanizmov levkemogeneze izjemno heterogene bolezni, njihovo prepoznavanje pa je zahtevno (1). Če je pred tridesetimi leti diagnostika levkemij v celoti slonela na morfoloških lastnostih levkemičnih celic, danes uporabljamo razne preiskovalne načine, ki vključujejo tudi najnovejšo razpoložljivo tehnologijo. Celovitost informacij, ki jih na ta način dobimo, ni uporabna več le za natančno opredelitev bolezni in njeno razvrstitev, pač pa tudi za individualno načrtovanje zdravljenja in spremljanje njegove učinkovitosti (2). Pri vsakem bolniku, kjer obstaja sum na AL, je potrebno opraviti citomorfološki pregled kostnega mozga, določiti imunofenotip levkemičnih celic s pretočno citometrijo, analizirati kariotip z analizo proganih kromosomov in potrditi ali izključiti nekatere genetske preureditve z molekularno citogenetiko in molekularno genetiko. Govorimo o t. i. multimodalnem pristopu, saj vsaka od teh preiskav pravzaprav sodi na svoje diagnostično oziroma raziskovalno področje (2). Ker gre za zahtevne in dolgotrajne postopke, ki so obenem tudi dragi, je smiselno uporabljati jasne diagnostične algoritme, ki pripeljejo z najmanjšim številom korakov do celovite informacije v najkrajšem času (1). Ti algoritmi morajo upoštevati biološko raznolikost levkemij glede na vrsto celic (mieloična/limfatična), stopnjo

dozorevanja ob maligni transformaciji (akutna/kronična) kot tudi starost bolnika (odrasli/otroci).

VZORCI ZA PREISKAVE

Punkcija kostnega mozga je poseg, s katerim dostopamo do ključnega vzorca za vse nadaljnje preiskave, ki jih opravimo pri bolnikih, kjer sumimo na levkemijo. Če je punkcija suha, lahko ob levkocitozi in večjem deležu nezrelih celic opravimo nadaljnje preiskave tudi na vzorcu venske krvi. Lahko pa celice osamimo iz biopsijskega stebrička, ki se sicer odvzame za histološke preiskave. Pri izbiri ustreznega antikoagulant upoštevamo, da na morfologijo celic nesprejemljivo vpliva heparin, za rast celic v gojišču, ki je potrebna za citogenetske preiskave, pa je toksičen EDTA (1). Za to, da preiskave lahko dobro napravimo, potrebujemo 5–10 mL kostnega mozga, odvzetega z EDTA in 2–5 mL vzorca, vzetega z Na-heparinom. Vzorec mora dospeti v laboratorij najkasneje v 24 urah.

Citomorfološki pregled kostnega mozga

Citomorfološki pregled kostnega mozga je temeljna preiskava pri krvnih boleznih. Priprava tehnično brezhibnih preparatov stisnjencev kostnega mozga je prvi pogoj za uspešno oceno morfoloških značilnosti krvnih celic. Za vsakega bolnika pripravimo vsaj pet stisnjencev in razmaz kostnega mozga, ki jih posušimo na zraku. Dobro sušenje zagotavlja ustrezno obarvanje celičnih struktur po Papenheimu ali Mayu, Grünwaldu in Giemsi. Preparate mikroskopsko pregledamo najprej pri majhni (100-kratni) in nato pri imerzijski (1.000-kratni) povečavi. Pri levkemijah je kostni mozeg praviloma hipercelularen, pri AL tlakovan z blastnimi celicami. Da lahko postavimo diagnozo AL, mora doseči delež infiltracije z blastnimi celicami v kostnem mozgu vsaj 20 %, diferencirali naj bi najmanj 500 celic z jedri v dveh preparatih (3). Ocenjujemo predvsem morfološke lastnosti nezrelih celic. Izvid citološkega pregleda kostnega mozga mora vsebovati opis celularnosti, eritropoeze in mielopoeze, razmerje med mieloično in eritrocitno vrsto (G : E), število megakariocitov, limfocitov in plazmatk ter podrobnejši opis morebitnih patoloških celic (blasti). Če je mogoče, pa tudi diagnozo (3). Citomorfološki pregled kostnega mozga je hiter in poceni, zato tudi nujno potreben pred nadaljnjimi časovno zahtevnimi in dragimi postopki, predvsem v izogib nepotrebnim preiskavam (4).

Pretočna citometrija

Pretočna citometrija je z velikim napredkom v razvoju pretočnih citometrov z večjim številom laserjev ter z razširitvijo nabora protiteles in fluorokromov

doživela v zadnjem desetletju pravo renesanso (5). Imunofenotipizacija je pri AL in kronični limfatični levkemiji (KLL) ključna preiskava za postavitve diagnoze. Izrazito pa pridobiva na pomenu pri določanju minimalne preostale bolezni (*minimal residual disease*, MRD) po zdravljenju.

Izbira protiteles, ki jih bomo določali v posameznem vzorcu, je odvisna od razpoložljivih podatkov: napotne diagnoze, izsledkov poprejšnjih imunofenotipizacij, drugih laboratorijskih rezultatov, še najbolj pa od morfoloških najdb in značilnosti (5). Nabori protiteles, ki jih uporabljamo, so iz t. i. primarnega in sekundarnega panela. Iz primarnega so namenjeni opredelitvi celičnih populacij v vzorcu in identifikaciji morebitne patološke populacije ter njene velikosti. Poleg splošnega označevalca krvnih celic CD45 in najznačilnejšega označevalca krvotvornih matičnih celic CD34, primarni paneli vsebujejo t. i. linijske označevalce, s pomočjo katerih hitro lahko ugotovimo vrsto akutne levkemije. V Tabeli 1 so navedeni označevalci, ki jih najpogosteje uporabljamo pri sestavi primarnih panelov. S sekundarnimi paneli opredeljujemo označevalce, ki so specifični za poprej določeno vrsto (limfatično ali mieloično). Za pozitivnost posameznega označevalca uporabljamo različne izključitvene vrednosti, vendar večinoma 20 % (6). Obširen nabor protiteles za zaznavanje dozorevanja, diferenciacije in morebitnega aberantnega izražanja v sekundarnih panelih je namenjen celoviti opredelitvi levkemičnega imunofenotipa. Izbira protiteles in fluorokromov pri sestavi panelov je prepuščena laboratorijem, vendar so osnovni nabori protiteles, ki jih pri posamezni skupini levkemij določamo, mednarodno dogovorjeni (5). Tehnični razvoj na tem področju pa spodbuja tudi poskuse standardizacije imunofenotipizacije levkemij in limfomov.

Na osnovi morfoloških lastnosti in imunofenotipa celic razvrščamo AL v skladu s t. i. klasifikacijo FAB (AML M0-M7 in ALL L1-L3), kar večinoma tudi zadošča za začetek zdravljenja (4). Hitrost in precejšnja natančnost diagnoze praviloma že na sam dan punkcije kostnega mozga sta izraziti odliki pretočne citometrije (7). Celovita opredelitev imunofenotipa z zaznavanjem specifičnih antigenov pa omogoča kasnejše spremljanje uspešnosti zdravljenja in določitev MRD. Trenutno je metoda standardizirana in uveljavljena pri spremljanju uspešnosti zdravljenja ALL pri otrocih ter pri KLL.

Izvid, ki ga izdamo, mora vsebovati opis vseh celičnih populacij, predvsem pa značilnosti morebitne patološke populacije z njeno številsko določitvijo. Najdbe opredelimo diagnostično, zapišemo pa tudi tisto, kar je še treba določiti za končno postavitve diagnoze (npr. določitev t(15;17) pri akutni promielocitni levkemiji (APL)).

Tabela 1. Antigeni, ki jih najpogosteje uvrščamo v primarni nabor protiteles pri diagnostiki akutnih levkemij.

B-limfatični	T-limfatični	Mieloični	Linjsko nespecifični
CD10	CD2	CD13	CD34
CD19	CD3	CD117	CD45
CiCD79a	CD7	CiMPO	TdT
	CiCD3		

Citogenetske preiskave

Zadnja izdaja klasifikacije hematoloških novotvorb Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) navaja devet podskupin AML in sedem podskupin ALL s ponavljajočimi se genetskimi preureditvami (8). Za natančno opredelitev bolezni moramo torej s citogenetskimi in molekularnogenetskimi preiskavami nujno potrditi ali izključiti najmanj teh 16-ih genetskih sprememb. Natančna opredelitev je še zlasti pomembna takrat, ko narekuje izbiro zdravljenja. Tako je ne glede na morfološke posebnosti in specifični imunofenotip bistveno, da dokažemo translokacije t(15;17) pri APL in translokacije t(9;22) pri kronični mieloični levkemiji (KML) oziroma ALL.

Za analizo proganih kromosomov potrebujemo deleče se celice. Zato je potrebno praviloma kratkotrajno (24–72 ur) gojenje celic z dodatki ustreznih citokinov, da jih privedemo v metafazo celične delitve, v kateri kromosome lahko analiziramo. Pri vsakem vzorcu pregledamo vsaj 20 metafaz. Preiskava proganih kromosomov omogoča navkljub majhni ločljivosti širok vpogled v genom in maligne spremembe. Ta relativno stara in delovno intenzivna preiskava zato ostaja zlati standard diagnostične obravnave bolnika z levkemijo.

Fluorescenčna hibridizacija *in situ* (FISH) je molekularno citogenetska preiskava, ki je v nasprotju s standardno citogenetsko preiskavo tarčna. Z njo potrjujemo oziroma izključujemo tiste preureditve, ki so bodisi diagnostično bodisi napovedno pomembne. Pred standardno citogenetsko preiskavo ima dve izraziti prednosti. Ne potrebujemo delečih se celic, torej jo lahko izvajamo na interfaznih jedrih neposredno brez gojenja, zato je hitrejša. Omogoča pa tudi natančnejšo oceno velikosti klona, saj lahko ovrednotimo bistveno večje število celic. Zato je uporabna tudi za sledenje velikosti klona in nekoliko tudi za določitev MRD. Za preiskavo FISH potrebujemo DNA-sonde, s katerimi zaznavamo tarčne preureditve. Nabor DNA-sond, ki jih posamezni laboratorij uporablja v diagnostiki levkemij, je prepuščen njegovi presoji in finančnim zmožnostim. Citogenetske smernice pri AL predpisujejo le testiranje navzočnosti translokacije t(12; 21) pri otroških ALL (9), večina laboratorijev pa vključuje v rutinsko testiranje še preureditve gena *MLL* zaradi njihove številnosti in pogoste kriptičnosti. Bolje usklajeni so nabori sond za

opredelitev napovednega pomena pri KLL, kjer je zaznavanje delecije gena *TP53* ključno tudi za ustrezno izbiro zdravljenja.

Izvid citogenetske preiskave mora vsebovati kariotip v skladu z ISCN (*International System of Human Cytogenetic Nomenclature*). Poleg tega pa še mnenje, v katerem na razumljiv način opišemo najdene preureditve, ki jih diagnostično in napovedno umestimo (9). Pri večini bolezni razlikujemo tri napovedne skupine: ugodno, vmesno in neugodno (10). Napovedni pomen je opredeljen le pri ponavljajočih se kromosomskih preureditvah, tistih torej, ki se pojavljajo pri večjem številu bolnikov z enako boleznijo. Te najdemo pri približno tretjini bolnikov z AML in polovici bolnikov z ALL ter pri 80 % bolnikov s KLL. Poleg njih standardna citogenetska preiskava lahko razkrije še kompleksne preureditve, ki so napovedno praviloma neugodne, med katerimi je še posebej neugoden t. i. monosomni kariotip. Nekatere najpogostejše in klasifikacijsko pomembne preureditve z možnimi načini določanja so predstavljene v Tabeli 2.

Tabela 2. Napovedni pomen nekaterih pogostejših in klasifikacijsko pomembnih ponavljajočih se genetskih preureditev pri akutnih levkemijah ter načini njihovega določanja.

Vrsta levkemije		Preureditev	Napovedni pomen	Načini določanja
AML	APL	t(15;17) (q22;q21)	ugoden	kariotipizacija FISH PCR
	levkemije CBF	t(8;21) (q22;q22)	ugoden [#]	
		inv (16) (p13;q22)		
			t(9;11) (q34;q23)	
		t(6;9) (p22;q34)	neugoden	
		inv (3) (q21;q26)		
	normalni kariotip	mutacija v genu <i>NPM1</i>	ugoden*	PCR
		mutacija v genu <i>CEBPA</i>	ugoden*	
		duplikacija v genu <i>FLT3</i>	neugoden*	
ALL		t(9;22) (q34;q11)	neugoden	kariotipizacija FISH PCR
		t(4;11) (q21;q23)	neugoden	
		t(12,21) (p13;q21)	ugoden	FISH PCR
		hiperdiploidni kariotip	ugoden	kariotipizacija FISH
		hipodiploidni kariotip	neugoden	
Vse		kompleksno preurejeni kariotip	neugoden	kariotipizacija

[#] vmesen pri potrjeni mutaciji *c-KIT*; *odvisen od sopojavljanja vseh treh mutacij

Molekularnogenetske preiskave

Pri približno polovici bolnikov z AL ne najdemo nobenih kromosomskih preureditev, govorimo o normalnem kariotipu. Pri teh bolnikih je za opredelitev napovednega pomena nujno potrebno opraviti vsaj določitev mutacij v genih *NPM1* in *CEBPA* oziroma tandemsko duplikacijo v genu *FLT3*. To izvedemo z metodami molekularne genetike.

Verižna reakcija s polimerazo (PCR), kvantitativna PCR in sekveniranje zahtevajo poprejšnjo izolacijo nukleinskih kislin. Najprej s pomočjo centrifugiranja na gostotnem gradientu z uporabo fikola osamimo mononuklearne celice kostnega mozga ali venske krvi. Nato iz njih izoliramo DNA in RNA, ki sta osnova za nadaljnje analize. V hematologiji raje preiskujemo RNA, ki jo tudi prednostno izoliramo takrat, ko je materiala (pre)malo (10).

Tako kot FISH so tudi metode molekularne genetike (z izjemo sekveniranja naslednje generacije, ki mora še najti prostor v rutinski uporabi), tarčne. Z njimi torej potrjujemo ali izključujemo ponavljajoče se genetske spremembe, ki so posledica translokacij oziroma mutacij v posameznih genih. Z nekaterimi izvedbami preiskave PCR, kakršni sta MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*) ali multipleks PCR, lahko istočasno določamo širok nabor fuzijskih genov. Te preiskave so v pomoč predvsem takrat, ko standardna citogenetska preiskava ne uspe, oziroma ko so translokacije nezaznavne na citogenetski ravni (t. i. kriptične). Določanje mutacij v genih pa je potrebno predvsem pri normalnem kariotipu. Izjema je določanje mutacije c-KIT, ki pri levkemijah s translokacijo t(8;21) in inv (16) (CBF levkemije) spremeni sicer ugoden napovedni pomen v vmesnega (10).

Največja odlika molekularnogenetskih metod je njihova velika občutljivost. Ta dosega vrednosti 1×10^{-5} do 1×10^{-6} , kar omogoča tako ugotavljanje odziva na zdravljenje kot zaznavanje MRD, in posledično zgodnje terapevtsko posredovanje. Zaenkrat je določanje MRD s kvantitativno PCR-preiskavo standardizirano pri APL, ALL in KML, pričakuje pa se tudi pri levkemijah CBF. Pri ostalih genetskih spremembah povezava med bolezenskim bremenom in ponovitvijo bolezni ni nedvoumno potrjena (11). Prav spremljanje bolnikov s KML z molekularnogenetskimi preiskavami med zdravljenjem s tirozin kinaznimi inhibitorji, s harmonizacijo določanja fuzijskega transkripta in uvedbo pretvorbenega faktorja ter referenčnega materiala uvaja visoke standarde za sledenje zdravljenja tudi širše v medicini (12).

ZAKLJUČEK

Uporaba vseh naštetih diagnostičnih postopkov omogoča razvrstitev levkemij v skladu s klasifikacijo SZO, ustrezno izbiro zdravljenja in sledenje njegove

učinkovitosti oziroma zgodnje zaznavanje morebitne ponovitve bolezni. S povezovanjem informacij, ki jih dajo izsledki časovno, finančno in kadrovsko zahtevnih preiskav, smo na področju diagnostike levkemij že odločno zakorakali v obdobje naosebljene (personalizirane) medicine, kjer terapevtske odločitve temeljijo na individualni oceni tveganja za vsakega bolnika posebej. Te pa lahko izvajajo le vrhunsko izobraženi kadri v izvrstno opremljenih laboratorijih.

LITERATURA

1. Haferlach T, Kern W, Schnittger S, Schoch C. Modern diagnostics in acute leukemias. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005; 56: 223–34.
2. Haferlach T, Bacher U, Kern W, Schnittger S, Haferlach C. Diagnostic pathways in acute leukemias: a proposal for a multimodal approach. *Ann Hematol* 2007; 86: 311–27.
3. Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol* 2008; 30: 349–64.
4. Andoljšek D. Bolezni krvi in krvotvornih organov. In: Košnik M, Mravje F, Štajer D, Černelč P, Koželj M. *Interna medicina*. 2nd ed. Ljubljana; Littera picta, 2011, 1243–93.
5. Craig FE, Foon KA. Flow cytometric immunophenotyping for hematologic neoplasms. *Blood* 2008; 111: 3941–67.
6. Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010; 115: 453–74.
7. Peters JM, Ansari MQ. Multiparameter flow cytometry in the diagnosis and management of acute leukemia. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 44–54.
8. Swerdlov S. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2008.
9. Hastings R, Howell R, Betts D, Porter S, Haferlach C, Dastugue N, et al. Guidelines and quality assurance for acquired cytogenetics. *E.C.A. Newsletter* 2013; 31: 7–21.
10. Betz BL, Hess JL. Acute myeloid leukemia diagnosis in the 21st century. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 1427–33.
11. Hourigan CS, Karp JE. Minimal residual disease in acute myeloid leukaemia. *Nat Rev Clin Oncol* 2013; 10: 460–71.
12. Doseženo 28. 7. 2014 na http://www.leukemia-net.org/content/diagnostics/index_eng.html

HISTOLOŠKA IN CITOLOŠKA DIAGNOSTIKA MALIGNIH LIMFOMOV

Veronika Kloboves-Prevodnik

Povzetek. Citološka in histološka preiskava sta komplementarni diagnostični metodi, ki sta pri bolnikih z malignimi limfomi nujno potrebni za načrtovanje sodobnega onkološkega zdravljenja. Kadar sumimo na limfom, najprej naredimo citološko preiskavo, da sum na limfom potrdimo ali ovrmemo. Če gre za bolnika, ki še nima histološko potrjenega limfoma, napravimo kirurško biopsijo in histološko preiskavo, da opredelimo vrsto limfoma. Histološke preiskave ne napravimo, le če kirurška biopsija zaradi lokacije limfoma ali pacientovega slabega fizičnega stanja ni izvedljiva. V teh primerih za opredelitev vrste limfoma zadostuje citološka preiskava, vendar je ocena manj zanesljiva. Pri bolnikih, ki imajo histološko potrjeni limfom, za načrtovanje zdravljenja zadostujejo rezultati citološke preiskave.

UVOD

Zdravljenje limfomov temelji na rezultatih histološke in citološke preiskave. Preiskavi se uporabljata za postavitve diagnoze pred začetkom zdravljenja, za zamejitev bolezni in določanje napovednih dejavnikov (primarna diagnostika limfomov) ter spremljanje odziva na zdravljenje, diagnosticiranje transformacije indolentnega v agresivni limfom, potrditev ponovitve limfoma in določanje napovednih dejavnikov med zdravljenjem in ob ponovitvi limfoma (sekundarna diagnostika limfomov). V primarni diagnostiki limfomov se za postavitve diagnoze limfoma uporablja histološka preiskava (1, 2). Citološka preiskava se v primarni diagnostiki uporablja predvsem kot presejalni test, s katerim izberemo bolnike, pri katerih je treba napraviti kirurško biopsijo in histološki pregled. V sekundarni diagnostiki limfomov se praviloma uporablja citološka preiskava (2), saj je v primerjavi s histološko preiskavo manj invazivna, bolniku prijazna in tudi cenejša. Poleg tega so rezultati preiskave znani v 24 urah, v nujnih primerih pa tudi v nekaj urah.

Histološka in citološka diagnostika limfomov morata biti usklajeni s smernicami, ki so zapisane v modri knjigi *WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*, ki jo je izdala Svetovna zdravstvena organizacija leta 2008, in v skladu s slovenskimi smernicami za zdravljenje limfomov. V skladu s smernicami mora diagnoza limfoma temeljiti na kliničnih značilnostih ter morfoloških, imunofenotipskih in molekularnih značilnostih limfomskih celic. Limfome zato ne delimo več na Hodgkinove in ne-Hodgkinove limfome, pač pa na nezrele neoplazme B in T, zrele neoplazme B, zrele neoplazme T/NK in Hodgkinov limfom (1).

Med nezrele neoplazme B in T uvrščamo limfoblastni limfom /levkemijo. Znotraj zrelih neoplazem B so definirane številne bolezenske entitete (vrste limfomov B), ki se razlikujejo po klinični sliki, poteku bolezni in značilnostih

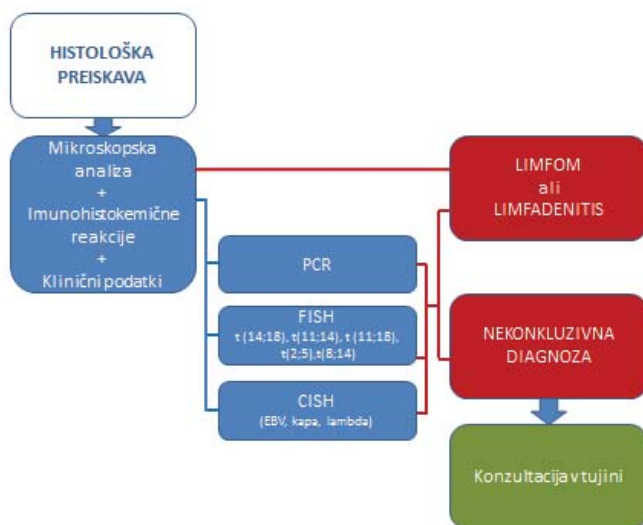
limfomskih celic. Na podlagi velikosti limfomskih celic zrele neoplazme B lahko razdelimo v dve veliki skupini, drobnocelične limfome B, ki imajo praviloma indolenten, neagresiven potek bolezni, in velikocelične limfome B, ki imajo agresiven potek bolezni. Med drobnoceličnimi limfomi B se v vsakodnevni klinični praksi najpogosteje srečujemo s folikularnim limfomom, kronično limfocitno levkemijo/drobnoceličnim limfocitnim limfomom, limfomom plaščnih limfocitov, marginalno celičnim limfomom in neoplazmami plazmatk, med agresivnimi limfomi pa z difuznim velikoceličnim limfomom B. Zrele neoplazme celic T/NK se pri nas precej redkeje pojavljajo kot zrele neoplazme celic B, vendar imajo praviloma agresiven potek bolezni. Naši bolniki najpogosteje zbolevajo zaradi perifernega limfoma T, brez drugih oznak, anaplastičnega velikoceličnega limfoma T in angioimunoblastnega limfoma T. Hodgkinov limfom razdelimo na nodolarno obliko limfocitne predominance in klasični Hodgkinov limfom. Znotraj klasičnega Hodgkinovega limfoma so definirani štirje podtipi bolezni, ki so prognozično pomembni (1).

HISTOLOŠKA PREISKAVA PRI SUMU NA LIMFOM

Histološka diagnoza limfoma temelji na mikroskopski analizi tkivnega vzorca, rezultatih imunofenotipskih in molekularnogenetskih preiskav ter na kliničnih podatkih (spol, starost, anamneza, podatki o poprejšnjem specifičnem onkološkem zdravljenju in stimulaciji hemopoeze z rastnimi dejavniki, lokacija bolezni, hemogram, diferencialna krvna slika, mielogram, rezultati drugih relevantnih laboratorijskih preiskav, npr. imunoelektroforeze, LDH ...).

Mikroskopska analiza in imunofenotipske analize tkivnega vzorca so sestavni del histološke preiskave pri sumu na limfom in običajno zadostujejo za opredelitev vrste limfoma. Za imunofenotipske analize uporabljamo imunohistokemične reakcije. Indiciramo jih na podlagi mikroskopske analize tkivnega vzorca.

Molekularnogenetske preiskave indiciramo, le če z mikroskopsko analizo in imunohistokemičnimi reakcijami ne moremo ugotoviti, za kakšno vrsto limfoma gre. Analizo klonalnosti limfocitnih populacij z metodo reakcije verižne polimerizacije (PCR) indiciramo, kadar želimo ugotoviti, kakšna je klonalnost limfocitov B in T. Fluorescenčno hibridizacijo *in situ* (FISH) uporabljamo za dokaz translokacij, ki so značilne za nekatere vrste limfoma: t(14;18/bcl-2) je značilna za folikularni limfom, t(11;14/CCND1) za limfom plaščnih limfocitov, t(2;5/ALK) za anaplastični velikocelični limfom T, t(8;14/MYC) za Burkittov limfom in t(11;18/MALT1) za limfom tipa MALT. Kromogeno hibridizacijo *in situ* (CISH) uporabljamo za dokaz Epstein-Barrovega virusa (EBV) v limfomskih celicah, lahko pa tudi za ugotavljanje izražanja lahkih verig kapa in lambda za določitev klonalnosti limfocitov B (1, 2) (Slika1).



Slika 1. Algoritem histološke diagnostike limfomov.

PCR – analiza klonalnosti limfocitnih populacij z metodo verižne polimerizacije,
FISH – fluorescenčna hibridizacija in situ, CISH – kromogena hibridizacija in situ,
EBV – Epstein-Barrov virus

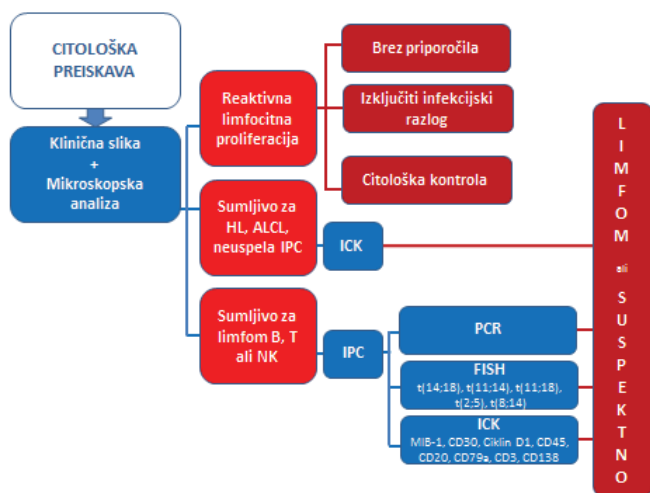
CITOLOŠKA PREISKAVA PRI SUMU NA LIMFOM

Številne raziskave so pokazale, da samo z mikroskopsko analizo citoloških vzorcev ne moremo postaviti zanesljive diagnoze limfoma, ker sta citološka mikroskopska slika reaktivnih in neoplastičnih limfocitnih proliferacij zelo podobni (3). Zato mikroskopski pregled citološkega vzorca danes praviloma ne zadošča več za zanesljivo razlikovanje med reaktivnimi limfocitnimi proliferacijami in limfomom, še manj pa za klasificiranje limfomov. Uporaba citologije v diagnostiki limfomov je zato smiselna le, če rutinsko uporabljamo dodatne imunofenotipske in molekularnogenetske preiskave. Med imunofenotipskimi analizami se največ uporabljata imunofenotipizacija s pretočnim citometrom (IPC) in imunocitokemične reakcije (ICK), med molekularnogenetskimi preiskavami pa analiza klonalnosti limfocitnih populacij z metodo PCR in FISH (2, 4–6).

Dodatne preiskave indiciramo na podlagi mikroskopske analize citološkega vzorca. Če sta klinična in mikroskopska slika značilni za reaktivno limfocitno proliferacijo, dodatnih preiskav ne indiciramo, in postavimo diagnozo le na podlagi mikroskopske analize vzorca. Če klinična slika ni povsem značilna, priporočimo, da se izključi infekcijski razlog za limfocitno proliferacijo ali

citološki kontrolni pregled. Pri zvečanih bezgavkah ga indiciramo čez 4–6 tednov, pri izlivih citološki pregled treh zaporednih izlivov, pri likvorjih in steklovini pa kontrolo, takoj ko je to mogoče.

Kadar sumimo na limfom celic B, T ali NK, najprej napravimo IPC, da ugotovimo, ali gre za reaktivno limfocitno proliferacijo ali limfom, in hkrati določimo antigenske lastnosti limfomskih celic, ki so pomembne za razvrstitev limfoma (3, 5). Ker klonalnosti limfocitov T z IPC ne moremo opredeliti, pri sumu na limfom T vedno napravimo tudi analizo klonalnosti limfocitnih populacij z metodo PCR (7). Za določitev specifičnih translokacij, ki so pomembne za opredelitev tipa limfoma (6), se odločimo, le če histološka preiskava ni izvedljiva. Reakcije ICK v citološki diagnostiki uporabljamo le izjemoma, in sicer kadar sumimo, da gre za Hodgkinov limfom ali anaplastični velikocelični limfom T, ali pa kadar IPC zaradi tehničnih razlogov ni uspela (2). Čeprav citološki vzorci vsebujejo malo celic, jih je običajno dovolj, da napravimo vse dodatne preiskave, ki jih potrebujemo za zanesljivo citološko diagnozo limfoma. Kadar vseh potrebnih preiskav ne moremo narediti, indiciramo ponovni odvzem vzorca (Slika 2).



Slika 2. Algoritem citološke diagnostike limfomov.

HL – Hodgkinov limfom, ALCL – anaplastični velikocelični limfom T,
IPC – imunofenotipizacija s pretočnim citometrom, ICK – imunocitokemične reakcije,
PCR – analiza klonalnosti limfocitnih populacij z metodo verižne polimerizacije,
FISH – fluorescenčna hibridizacija in situ

VLOGA HISTOLOŠKE PREISKAVE V DIAGNOSTIKI LIMFOMOV

V svetu in pri nas zdravljenje malignih limfomov temelji na histološki preiskavi, s katero opredelimo, za kakšno vrsto limfoma gre. Pred začetkom zdravljenja zato vedno naredimo histološko preiskavo. Med zdravljenjem histološko preiskavo naredimo le izjemoma, kadar s citološko preiskavo ne moremo opredeliti, ali gre za ostanek limfoma po zaključku zdravljenja, ponovitev limfoma ali transformacijo indolentnega v agresivni limfom. Tkivo za histološko preiskavo pridobimo s kirurško biopsijo. Pri bolnikih, ki imajo zvečane bezgavke, odstranimo tisto, v kateri smo s citološko preiskavo dokazali limfom ali postavili sum na limfom. V skupini zvečanih bezgavk je treba odstraniti največjo, in ne tiste, ki je najlažje dostopna. Če sumimo, da gre za ekstrapnodalni limfom (ščitnica, žleze slinavle, tonzila, črevo ...), odstranimo del tkiva ali cel organ. Zaželeno je, da pred biopsijo limfom citološko verifiramo. Kadar sumimo, da je limfom le v vranici, jo celo odstranimo (2).

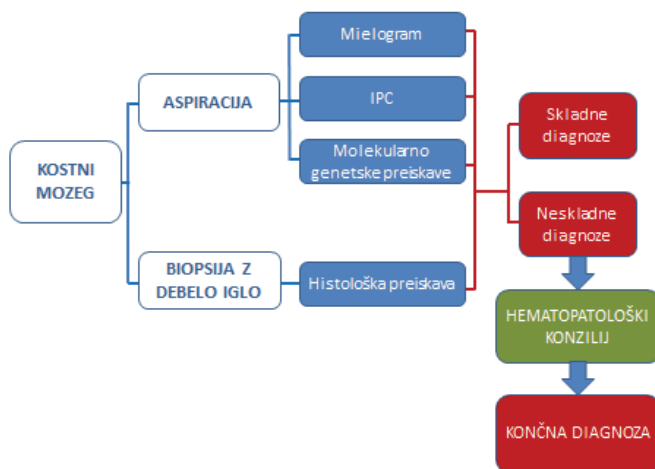
V onkologiji se v diagnostiki različnih benignih in malignih neoplazem vse bolj uveljavlja *biopsija z deblo iglo*. Z debelo iglo pridobimo stebriček tkiva za histološko preiskavo. Ker je histološka diagnostika limfomov kompleksna, je vzorec, ki ga dobimo z debelo iglo, pogosto premajhen in ne dovolj reprezentativen za zanesljivo opredelitev vrste limfoma. Posebej to velja za limfome, kjer opredelitev vrste limfoma temelji na arhitekturnih značilnostih tkiva. Izkazalo se je, da histološka diagnoza limfoma v takih primerih ni nič bolj natančna od citološke diagnoze, ki jo postavimo na podlagi pregleda vzorca, ki ga pridobimo z aspiracijsko biopsijo s tanko iglo (ABTI) (8). Zato je pri sumu na limfom treba napraviti *kirurško biopsijo* in pridobiti dovolj velik košček tkiva, da bo patolog lahko zanesljivo opredelil, za kakšno vrsto limfoma gre (2).

Histološko preiskavo uporabljamo tudi za zamejitev limfoma v kostnem mozgu. V skladu z mednarodnimi smernicami jo napravimo istočasno s citološko preiskavo (9). Na Onkološkem inštitutu Ljubljana (OI Lj) zato od leta 2009 pri vseh bolnikih, kjer sumimo na patološko dogajanje v kostnem mozgu, napravimo aspiracijo in biopsijo kostnega mozga. Iz aspirata pripravimo celične razmaze in odtisnjence za izdelavo mielograma, IPC in po potrebi molekularnogenske preiskave, iz tkivnega stebrička pa histološko preiskavo (2). Če se citološka in histološka diagnoza ne skladata, primer obravnavamo na hematopatološkem konziliju, kjer na podlagi rezultatov vseh preiskav postavimo končno diagnozo (5) (Slika 3).

VLOGA CITOLOŠKE PREISKAVE V DIAGNOSTIKI LIMFOMOV

Kadar pri bolniku sumimo na limfom, najprej naredimo citološko preiskavo, da sum na limfom potrdimo ali ovržemo. S citološko preiskavo izberemo

najprimernejšo bezgavko ali tkivo za kirurško biopsijo in histološko preiskavo. Če kirurška biopsija zaradi mesta limfoma ali bolnikovega splošnega slabega stanja ni izvedljiva, lahko bolnika izjemoma zdravimo tudi na podlagi rezultatov citološke preiskave, ki mora hematatoonkologu zagotoviti vse podatke, ki bi jih sicer dobil s histološko preiskavo. Le s citološko preiskavo diagnosticiramo primarne limfome iz vzorcev likvorja, steklovine, intraokularnih tumorjev in izlivov (2, 5).



Slika 3. Algoritem diagnostike limfomov v kostnem mozgu.
IPC – imunofenotipizacija s pretočnim citometrom

Citološka preiskava je uveljavljena za ugotavljanje razširjenosti limfoma, oceno uspeha zdravljenja, diagnosticiranje transformacije indolentnega v agresivni limfom in za potrditev ponovitve bolezni. V teh primerih histološka preiskava ni indicirana. Naredimo jo le izjemoma, če za citološko preiskavo ni možno dobiti dovolj ustreznega materiala za diagnozo ali pa če s citološko preiskavo patološkega procesa ni mogoče zanesljivo opredeliti (2–6) (Tabela 1).

Z IPC, ki jo naredimo v sklopu citološke preiskave pred prvim zdravljenjem limfoma, pridobimo pomembne podatke o antigenskih lastnostih limfomskih celic, ki so pomembne za nadaljnje diagnostične postopke in načrtovanje zdravljenja. Podatki o imunofenotipu limfomskih celic olajšajo citološko diagnostiko v vzorcih, kjer so limfomske celice pomešane z številnimi reaktivnimi limfatičnimi celicami (kostni mozeg, kri, izlivi, likvor, steklovina) in omogočajo diagnozo minimalnega ostanka limfoma po zaključku zdravljenja, ki

ga le z mikroskopsko analizo citološkega vzorca ne moremo odkriti (5). Zato moramo IPC napraviti pri vsakem bolniku z limfomom, in sicer v diagnostičnem postopku pred prvim zdravljenjem. IPC lahko napravimo tako iz citološkega kot histološkega vzorca.

Tabela 1. Vloga histološke in citološke preiskave v diagnostiki limfomov.

Diagnostika limfomov	Histološka preiskava	Citološka preiskava
Opredelev vrste limfoma pred prvim zdravljenjem	DA, praviloma vedno	NE, le izjemoma (likvor, steklovina, intraokularni tumor, izlivi)
Presejalni test	NE	DA
Zamejitev bolezni	DA (kostni mozeg)	DA
Ocena uspeha zdravljenje	DA (kostni mozeg)	DA
Transformacija limfoma	NE, le izjemoma	DA
Ponovitev bolezni	NE, le izjemoma	DA
Napovedni dejavniki	DA	DA

S citološko preiskavo lahko določimo tudi prognostične in napovedne dejavnike, ki so pomembni za načrtovanje zdravljenja. Zdravljenje bolnikov s sodobnimi biološkimi zdravili je učinkovito, le če so v limfomskih celicah izraženi antigeni, na katere se zdravilo veže. Najbolj uveljavljeno in tudi učinkovito biološko zdravilo, ki se uporablja za zdravljenje limfomov B, je rituksimab. Raziskave v tujini in tudi pri nas so pokazale, da ugotavljanje površinskega antigena CD20 z imunohistokemično metodo v tkivnih vzorcih, fiksiranih v formalinu, ni dovolj natančno. Izkazalo se je, da so v skupini bolnikov s CD20-pozitivnimi limfomi B, tisti, ki imajo slabše preživetje. Proučevanje izraženosti površinskega antigena CD20 s kvantitativno pretočno citometrično metodo, je pokazalo, da je njegova izraženost v skupini bolnikov s slabim preživetjem značilno manjša kot v skupini bolnikov, ki imajo boljše preživetje (10–12). Zato je stopnjo izraženosti površinskega antigena CD20 treba določiti s kvantitativno pretočno citometrično metodo pred začetkom vsakega zdravljenja, ki vsebuje rituksimab.

NAPOTKI ZA PRAKSO

- Aspiracijsko biopsijo s tanko iglo (ABTI) indiciramo, le če je sprememba, ki jo želimo punktirati, klinično sumljiva za limfom.
- Bolnike s tipnimi spremembami napotimo v ambulantno za citološko punkcijo, če je le mogoče na OI Lj.
- Bolnike z netipnimi spremembami napotimo na punkcijo pod ultrasonografskim nadzorom. Bolnika je treba na punkcijo naročiti.
- ABTI zvečanih bezgavk je indicirana, le če so bezgavke klinično ali ultrasonografsko sumljive za limfom. ABTI klinično nesumljivih bezgavk, ki so manjše od 1 cm in jih bolniki opažajo le nekaj dni, ni indicirana. Treba je izključiti infekcijski razlog za limfadenopatijo. Prav tako ni indicirana ABTI bezgavk, ki so klinično nesumljive in jih bolniki opažajo več mesecev ali celo nekaj let in so se v tem obdobju večale in manjšale.
- Kadar bolniku, ki se zaradi limfoma še ne zdravi, s citološko preiskavo diagnosticiramo limfom ali postavimo sum na limfom, sta indicirana kirurška biopsija in histološki pregled. Bolnike, ki jim diagnosticiramo limfom ali postavimo sum na limfom na Oddelku za citopatologijo OI Lj, praviloma naročimo v kirurško ambulantno za biopsijo in histološki pregled. Zato je zaželeno, da ima bolnik, ki ga pošljete na ABTI zaradi suma na limfom, napotnico z vsemi pooblastili, ki velja več mesecev.
- Kadar sumite na abscedentno, nekrozantno vnetje (bakterijski infekt, bolezen mačje praske, tuberkuloza ...), lahko pošljete bolnika na ABTI in odvzem materiala za dodatne mikrobiološke preiskave. Napotnici za ABTI je treba obvezno priložiti tudi napotnico za dodatne mikrobiološke preiskave.
- Kadar citopatolog indicira citološki kontrolni pregled čez 4–6 tednov, je treba bolnika opozoriti, naj nanj pride prej, če bo opazil hitro večanje bezgavk; zdravnik bo presodil, ali je punkcijo treba ponoviti takoj.

ZAKLJUČEK

Histološka in citološka preiskava sta diagnostični metodi, na katerih temelji zdravljenje limfomov. Zanesljivo histološko in citološko diagnozo limfoma lahko ob upoštevanju klinične slike postavimo le na podlagi morfoloških, imunofenotipskih in molekularnih značilnosti limfomskih celic. Zato je v sklopu histološke in citološke preiskave treba napraviti dodatne imunofenotipske in molekularnogenetske preiskave, kar precej podraži obe diagnostični metodi. Drago diagnostiko odtehta dejstvo, da je zdravljenje bolnika, ki temelji na zanesljivi diagnozi, uspešno in tudi cenejše, kot če je diagnoza napačna.

LITERATURA

1. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon, France, 2008.
2. Jezeršek-Novaković B, editor. Smernice za obravnavo bolnikov z malignimi limfomi. Ljubljana: Onkološki inštitut, 2014. Doseženo 20. 8. 2014 na http://www.onko-i.si/uploads/media/Doktrina_2014.pdf
3. Kloboves-Prevodnik V. Citopatološka diagnostika limfomov iz vzorcev bezgavk. *Onkologija* 2010; 14: 139–43.
4. Jezeršek-Novaković B. Hematooncologist's expectations from the cytopathological evaluation in lymphoma patients. In: Strojan-Fležar M, Luzar B, Gutnik H, Pižem J, Kocjan G, editors. *Advances in cythopathology: bridge between clinics and diagnostic pathology*. Ljubljana: Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, 2012: 63–9.
5. Kloboves-Prevodnik V. Can cytopathological examination fulfil the expectations of the haematooncologists? In: Strojan-Fležar M, Luzar B, Gutnik H, Pižem J, Kocjan G, editors. *Advances in cythopathology: bridge between clinics and diagnostic pathology*. Ljubljana: Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, 2012: 69–76.
6. Gazić B, Drev P, Contreras JA, Kloboves Prevodnik V. Can we improve cytopathological diagnostics of lymphomas using FISH. In: Strojan-Fležar M, Luzar B, Gutnik H, Pižem J, Kocjan G, editors. *Advances in cythopathology: bridge between clinics and diagnostic pathology*. Ljubljana: Inštitut za patologijo, Medicinska fakulteta, 2012: 83–7.
7. Cerkovnik P, Kokovič I, Kloboves-Prevodnik V, Novaković S. Določanje klonalnosti limfoidnih proliferacij: uvedba nove metode in primerjava z dosedanjjo metodo. *Onkologija* 2009; 13: 133–6.
8. Ravinsky E, Morales C. Diagnosis of lymphoma by image-guided needle biopsies: fine needle aspiration biopsy, core biopsy or both? *Acta Cytol* 2005; 49: 51–7.
9. Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC; International council for standardization in hematology. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol* 2008; 30: 349–64.
10. Johnson NA, Boyle M, Bashashati A, Leach S, Brooks-Wilson A, et al. Diffuse large B-cell lymphoma: reduced CD20 expression is associated with an inferior survival. *Blood* 2009; 113: 3773–80.
11. Horvat M, Kloboves-Prevodnik V, Lavrenčak J, Jezeršek-Novaković B. Predictive significance of the cut-off value of CD20 expression in patients with B-cell lymphoma. *Oncol Rep* 2010; 24: 1101–7.
12. Kloboves-Prevodnik V, Lavrenčak J, Horvat M, Jezeršek-Novaković B. The predictive significance of CD20 expression in B-cell lymphomas. *Diagn Pathol* 2011; 6: 33.

AKUTNA MIELOIČNA LEVKEMIJA

Samo Zver

Povzetek. Akutna mieloična levkemija (AML) je klonška bolezen, pri kateri nastane okvara na ravni multipotentne krvotvorne matične celice. Klinična slika ob nastopu bolezni je posledica anemije, motenj hemostaze in imunske pomanjkljivosti, praviloma zaradi hude nevtropenije. Diagnozo postavimo s citološko preiskavo kostnega mozga. Zaradi opredelitve, ocene stopnje tveganja in poteka bolezni ter kasnejšega, posameznemu bolniku prilagojenega zdravljenja pa sočasno določimo še imunofenotip levkemičnih celic in naredimo citogenetske in molekularno-genetske preiskave. Praviloma zdravimo s ponavljajočimi se cikli intenzivne kemoterapije, ki vključujejo antraciklinske citostatike. Zdravljenje lahko nadaljujemo/zaključimo z avtologno ali alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic (PKMC). Del bolnikov je mogoče povsem pozdraviti.

UVOD

Akutna mieloična levkemija (AML) je raznolika klonška bolezen. Gre za okvaro na ravni mieloične multipotentne celice. Ključni bolezenski dogodek je novonastala somatska mutacija, ki ji nato sledi nenadzorovana proliferacija multipotentne krvotvorne matične celice. Vse levkemične celice so zato potomke ene same maligno spremenjene celice. Levkemične celice ohranijo sposobnost delitve, izgubijo pa sposobnost dozorevanja. Zato se nezrele levkemične celice kopičijo v kostnem mozgu, periferni krvi in včasih tudi v raznih organih v telesu. Pri številnih podvrstah akutnih levkemij mutacija vključuje recipročne kromosomske translokacije, katerih posledica je nov, fuzijski gen. Kromosomske translokacije večinoma vključujejo gene, ki so pomembni za dozorevanje in diferenciacijo hematopoetičnih matičnih celic.

V osnovi lahko razlikujemo mutacije, ki okvarijo diferenciacijo celic, in tiste, ki stimulirajo proliferacijo celic. Med prvimi so npr. t(8;21): AML-1 ETO, t(15;17): PML-RAR alfa, inv (16): CBFB-MYH 11, točkovne mutacije CBF, CEBPA, antigen WT-1, pri drugih pa so pogoste mutacije protoonkogenov FLT3, RAS, c-KIT, NPM1, BAALC ...

EPIDEMIOLOGIJA AKUTNE MIEOLOIČNE LEVKEMIJE

Z incidenco 3–3,5/100.000 prebivalcev letno je ANL najpogostejša akutna levkemija pri odraslih. Incidenca se veča s starostjo in je v starosti 90 let 35/100.000 prebivalcev letno. Redko, v 15–20 % vseh primerov, se pojavi pri otrocih oziroma mladostnikih, mlajših od 15 let. Mediana starost ob diagnozi je 67 let.

ETIOLOGIJA AKUTNE MIEOLOIČNE LEVKEMIJE

Pri večini bolnikov ni mogoče ugotoviti vzročne povezave med AML in morebitnim sprožilnim dejavnikom. Če se AML pojavi kot posledica zdravljenja poprejšnje rakave krvne bolezni (mielodisplastični sindromi, mieloproliferativne bolezni, aplastična anemija, limfoproliferativne bolezni) ali pa kakšne druge rakave bolezni, potem govorimo o sekundarni AML. Ta pogosteje nastane 4–7 let po zaključenem zdravljenju rakave bolezni. Tvegana sta predvsem izpostavljenost ionizirajočim sevanjem in zdravljenje z nekaterimi citostatiki, predvsem iz skupine alkilirajočih zdravil (ciklofosamid, melfalan, klorambucil). Velikost tveganja sovпада s količino prejetih citostatikov. Sekundarne AML so lahko tudi kasen zaplet zdravljenja z alogensko ali avtologno presaditvijo krvotvornih matičnih celic (PKMC).

Med ostalimi dejavniki omenjajo še izpostavljenost benzenu, tudi kajenje in nekatere viruse (humani T-limfotropni virus tip I; HTLV-I povezujejo s T-celično ALL), vključujoč virus HIV.

AL lahko spremlja prirojene kromosomske nepravilnosti. Dvajsetkrat pogostejša je pri otrocih z Downovim sindromom, vidimo pa jo tudi pri osebah z Klinefelterjev in Fanconijevim sindromom ter ataksijo telangiektazijo. AL so pogostejše v nekaterih družinah, tudi pri enojajčnih dvojčkih, če le zbolí eden od njiju. Bolezen se pojavi pri drugem dvojčku navadno približno leto dni zatem, ko je zbolel prvi. Menijo, da imajo dedni dejavniki nekaj – sicer še ne pojasnjenega – pomena predvsem pri otrocih in mlajših odraslih, pri odraslih menda ne.

SIMPTOMI IN ZNAKI AKUTNE MIEOLOIČNE LEVKEMIJE

Nenadne, hitro nastale klinične težave so pravilo in le redko je mogoče z anamnezo odkriti težave, ki bi bile starejše kot mesec dni. Značilni so simptomi anemije, kot so oslabelelost, napredujoča nemoč in slabša fizična zmogljivost, težka sapa ob naporu, nato pa tudi že v mirovanju, vrtočlavlava z ortostatizmi in palpitacije. Na koži telesa in vidnih sluznicah so vidne krvavitve, ki so posledica trombocitopenije. Najpogostejše gre za petehije ali sufuzije, lahko pa tudi za obsežne ekhimoze. Bolniki lahko krvavijo iz sluznic dihal ali prebavil in v očesno ozadje. Pri ženskah v rodnem obdobju je lahko prvi znak krvavitve ob mesečnem perilu, ki se ne ustavi. Skrajnost je sindrom DIK (diseminirana intravaskularna koagulacija), ki skoraj vedno spremlja poseben podtip AML, akutno promielocitno levkemijo (APL). Hemostaza je pogosto okvarjena tudi v primerih velikega števila levkocitov v periferni krvi. Zaradi levkopenije je lahko prva težava okužba, najpogostejše pljučnica, neredko pa kar septično šokovno stanje. Značilni so visoka telesna tempe-

ratura z mrzlicami, potenjem, slabim počutjem, oligurijo. Izvor okužbe so najpogostejše spodnja dihalna, ustna votlina, perianalno področje in koža.

S kliničnim pregledom lahko odkrijemo bledico kože in vidnih sluznic in že opisane krvavitve. Pri podvrstah AML (monoblastne levkemije) včasih vidimo nabrekle, hipertrofirane dlesni in podkožne svetlo rožnate levkemične infiltrate (*leukemia cutis*). Dispnja ni nujno znak okužbe, pač pa lahko spremlja levkostazo. Bolnik je hipoksemičen, lahko tudi zmeden, z motenim, meglenim vidom zaradi krvavitev na očesnem ozadju, na pregledni sliki pljuč pa so vidna številna zasenčenja. Značilen je tudi izvid pregleda očesnega ozadja, kjer izstopa nabreklo, »klobasasto« spreminjeno žilje. S kliničnim pregledom odkrijemo zvečana jetra oz. vranico v 20 % oz. 24 %. Ob ugotovitvi bolezni ima lahko zvečane bezgavke 15 % bolnikov z AML. Infiltracija osrednjega živčevja z levkemičnimi celicami je ob postavitvi diagnoze AML redka, razen pri monoblastnih oblikah AML. Pogosto mesto ekstramedularnega levkemičnega infiltrata so tudi testisi; zato jih je nujno tudi pregledati!

Redko se AML pokaže kot solidna tumorska tvorba kjer koli v telesu zunaj kostnega mozga, na primer v podkožju, prebavilih pa tudi v srčni mišici. Takšen tumor imenujemo klorom oziroma granulocitni sarkom.

DIAGNOSTIKA AKUTNE MIEOLOIČNE LEVKEMIJE

Prva in večinoma tudi ključna preiskava je pregled krvne slike, vključujoč razmaz periferne krvi. V krvni sliki je zelo pogosto zvečano število levkocitov, ki pa je lahko tudi normalno ali celo zmanjšano (Slika 1). V diferencialni krvni sliki blastne celice niso nujne (alevkemična levkemija), vedno pa so v kostnem mozgu. Praviloma je vidna normocitna ali makrocitna anemija, navadno hude stopnje, in pomembna trombocitopenija. Neredko v testih hemostaze odkrijemo sindrom diseminirane intravaskularne koagulacije (DIK). Sindrom DIK vedno spremlja posebno podvrsto levkemije, akutno promielocitno levkemijo (APL), pogost pa je tudi ob sočasnem septičnem dogajanju. V biokemijskih izvidih sta zaradi hitrega presnovnega obrata blastnih celic zvišani vrednosti encima laktatna dehidrogenaza (LDH) in sečne kisline. Pri elektrolitih v krvi najpogostejše vidimo hipokaliemijo in hipofosfatemijo. Bolniki, ki imajo veliko levkemičnih celic v periferni krvi, imajo lahko zaradi razpada celic po odvzemu krvi lažno hiperkaliemijo ali pa – nasprotno – lažno hipokaliemijo, če po odvzemu krvi pride do privzema kalija s strani levkemičnih celic. Napako odkrijemo, če določimo vrednost kalija v vzorcu plazme. Hipoglikemija je lahko posledica porabe glukoze s strani blastnih celic.

Vzorec: EDTA

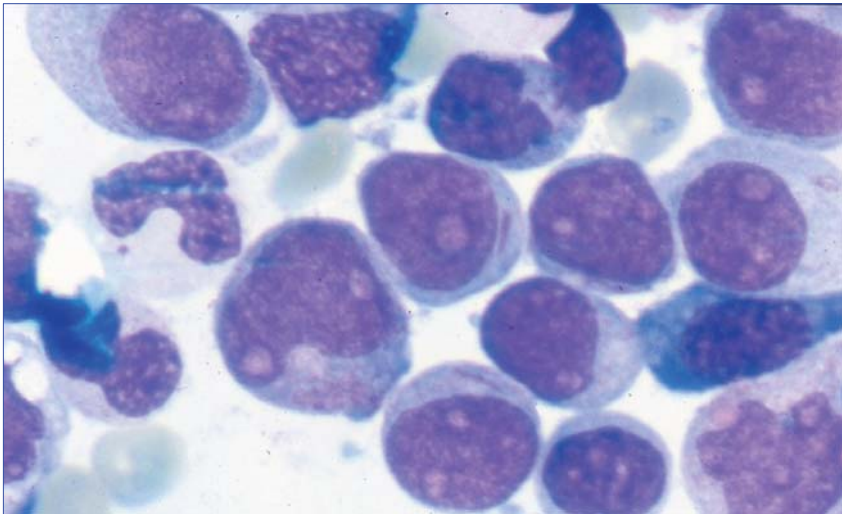
Krvna slika (analizator)			
Preiskava		Izsledek	Ref. vr.
Levkocitna krvna slika			
Levkociti [10 ⁹ /L]	H	54.11	3.7 - 9.5
Nevtrofilci [10 ⁹ /L]		3.17	1.5 - 7.4
Limfociti [10 ⁹ /L]	H	17.7	1.1 - 3.5
Monociti [10 ⁹ /L]	H	33.1	0.21 - 0.92
Eozinofilci [10 ⁹ /L]		0.03	0.02 - 0.67
Bazofilci [10 ⁹ /L]		0.12	0.00 - 0.13
Nezreli granulociti [10 ⁹ /L]		0.51	
Eritroblasti [10 ⁹ /L]		0.60	
Nevtrofilci [%]		5.9	
Limfociti [%]		31.7	
Monociti [%]		61.2	
Eozinofilci [%]		0.1	
Bazofilci [%]		0.2	
Nezreli granulociti [%]		0.9	
Eritroblasti [%]		1.1	
Eritrocitna krvna slika			
Hemoglobin [g/L]	L	97	133 - 167
Hematokrit [f]	L	0.300	0.39 - 0.50
Eritrociti [10 ¹² /L]	L	2.95	4.32 - 5.66
PVE [fL]	H	101.7	82 - 92
PHE [pg]	H	32.9	27.3 - 32.6
PKHE [g/l]		323	316 - 349
KWE [%]	H	16.5	9.9 - 15.5
Trombocitna krvna slika			
Trombociti [10 ⁹ /L]	L	66	157 - 384
VST [%]		0.06	
PVT [fL]		9.6	6.5 - 11.6
KWT		9.7	

Diferencialna krvna slika	
Preiskava	Izsledek
blasti [%]	53
promielociti [%]	1
mielociti [%]	2
metamielociti [%]	0
paličasti nevtrofilci [%]	1
segmentirani nevtrofilci [%]	12
eozinofilci [%]	0
bazofilci [%]	0
limfociti [%]	20
promonociti [%]	0
monociti [%]	11
plazmatke [%]	0
eritroblasti [Št/100 Lkc]	3
mikromegakariociti [Št/100 Lkc]	
Absolutne vrednosti (mikroskop)	
nezreli granulociti [10 ⁹ /L]	1.62
nevtrofilci [10 ⁹ /L]	7.03
eozinofilci [10 ⁹ /L]	0.00
limfociti [10 ⁹ /L]	10.82
monociti [10 ⁹ /L]	5.95

Slika 1. Primer krvne slike pri akutni mieloični levkemiji.

Diagnozo AML potrdimo s citološko preiskavo/pregledom kostnega mozga. Ta je praviloma hipercelularen in tlakovan z levkemičnimi blastnimi celicami. Za diagnozo AML mora biti delež infiltracije z blastnimi celicami v kostnem mozgu večji od 20 %. V citoplazmi mieloblastov lahko vidimo Auerjeve paličice (Slika 2). To je skupek azurofilnih zrnč v lizosomih mieloblastov, ki so specifični za AML. Zaradi enakomerne infiltracije kostnega mozga z blastnimi celicami biopsija kostnega mozga ni potrebna. Opravimo jo, samo če

je punkcija kostnega mozga suha. Diagnostiko nadgradimo z določitvijo celičnih imunoloških označevalcev na površini in v citoplazmi levkemičnih celic in s citogenetsko oziroma molekularnogenetsko preiskavo. Pod pojmom citogenetika razumemo določitev kariotipa, kot tudi ciljano iskanje znanih kromosomskih preureditev z metodo fluorescenčne *in-situ*-hibridizacije (FISH). Tudi z molekularnogenetskimi preiskavami ciljano iščemo najpogostejše znane preureditve/mutacije genov. Citogenetika in molekularna genetika pa imata poleg diagnostike še izjemno pomembno vlogo pri razvrstitvi bolezni, ki je temelj za izbiro vsakemu bolniku posebej prilagojenega zdravljenja.



Slika 2. Levkemične blastne celice mieloične vrste z Auerjevimi paličicami v citoplazmi.

RAZVRSTITEV AKUTNIH MIELOIČNIH LEVKEMIJ

V preteklosti je razvrstitev AML temeljila na **morfoloških in citokemijskih** značilnostih levkemičnih celic. Razvrstitev je uvedla skupina francoskih, ameriških in britanskih hematologov in jo zato poznamo kot *Klasifikacijo FAB*. Razvrstitev je bila v uporabi več kot 35 let. Podtipi AML so razvrščeni v skupine od M0-M7 (Tabela 1). Morfološka razvrstitev je z uporabo imunoloških metod, citogenetike in molekularne genetike postala neustrezna, saj ne upošteva napovedi poteka in zdravljenja bolezni. Zato uporabljamo razvrstitev malignih krvnih bolezni, kamor sodijo tudi AML, *Svetovne zdravstvene organizacije* (SZO), nastalo leta 1997 (revizija razvrstitve, ki je trenutno v veljavi, je iz leta 2008). Bistveno je, da ta temelji na določitvi

imunoloških označevalcev levkemičnih celic (imunofenotip) in na njihovih citogenetskih oziroma molekularnogenetskih nepravilnostih (Tabela 2). Pričakujemo, da bodo razvrstitve akutnih levkemij temeljile na rezultatih molekularnogenetskih preiskav, vključujoč mikro mreže RNK in DNK.

Tabela 1. Morfološka FAB (francosko-ameriško-britanska) razvrstitev akutnih levkemij. AML – akutna mieloična levkemija.

M0: slabo diferencirana AML
M1: mieloblastna levkemija brez dozorevanja
M2: mieloblastna levkemija z dozorevanjem
M3: hipergranularna promielocitna levkemija
M3v: mikrogamularna varianta promielocitne levkemije
M4: mielomonocitna levkemija
M5a: monoblastna levkemija-slabo diferencirana
M5b: monoblastna levkemija-diferencirana
M6: eritrolevkemija
M7: megakarioblastna levkemija

Tabela 2. Razvrstitev akutnih mieloičnih levkemij Svetovne zdravstvene organizacije iz leta 2008. AML – akutna mieloična levkemija

AML z značilnimi ponavljajočimi se citogenetskimi translokacijami in nastalimi onkogeni

- t(8;21): RUNX1-RUNX1T1
- t(15;17): PML/RAR α
- inv16: CBF β /MYH11
- t(9;11): MLLT3-MLL
- t(6;9): DEK-NUP214
- inv3 ali t(3;3): RPN1-EV11
- megakarioblastna AML t(1;22): RBM15-MKL1
- AML z mutacijo NPM1
- AML z mutacijo CEBPA

AML z mielodisplazijo povezanimi spremembami

AML zaradi predhodnega zdravljenja

AML, ki ni drugače opredeljena, razvrščena z imunološko in morfološko metodo

- AML z minimalno diferenciacijo
- AML brez dozorevanja
- AML z dozorevanjem
- Akutna mielomonocitna levkemija
- Akutna monoblastna/monocitna levkemija
- Akutna eritrolevkemija
- Akutna megakarioblastna levkemija
- Akutna bazofilna levkemija
- Akutna panmieloza z mielofibrozo

Mieločni sarkom

Mieloična novotvorba v povezavi z Downovim sindromom

Akutne levkemije več celičnih linij

Določitev celičnih imunoloških označevalcev

Določitev celičnih imunoloških označevalcev na površini in v citoplazmi levkemičnih celic s pretočnim citometrom je ključna preiskava za takojšnjo opredelitev podvrste AML. Izvid je na voljo v nekaj urah, najpogosteje pa uporabimo vzorec, dobljen iz kostnega mozga. Če je število levkemičnih celic veliko tudi v periferni krvi, zadošča tudi vzorec periferne krvi. Da lahko govorimo o »pozitivnem celičnem imunološkem označevalcu«, ga moramo najti na vsaj 20 % vseh pregledanih celic.

Mieloblaste označujeta antigena CD13 in CD33 na njihovih membranah (Tabela 3). Imunološki označevalci, ki so pogosto na mieloblastih, so še CD9, CD11b, CD14, CD15, CD34, mieloperoksidaza (MPO) in CD117. Izraženost nekaterih označevalcev se včasih ujema z morfološko podvrsto AML (npr. glikoforin A in eritrolevkemija). Mieloblasti imajo lahko na površini poleg mieloičnih tudi celične imunološke označevalce, značilne za limfatično vrsto, kot so CD2, CD5, CD7, CD10 in CD19.

Tabela 3. Osnovni imunofenotip levkemičnih celic pri akutni mieloični in akutni limfatični levkemiji. AML - akutna mieloična levkemija; ALL - akutna limfatična levkemija; c - citoplazemski

Mieloblasti	anti-MPO; CD13; CD33; CDw65; CD117
Limfoblasti, usmerjeni v B-celično vrsto	CD19; cCD22; CD79a; CD10
Limfoblasti, usmerjeni v T-celično vrsto	cCD3; CD2; CD7

Imunofenotipa levkemičnih celic ni mogoče natančno opredeliti v približno 5 %, saj imajo levkemični blasti označevalce tako za mieloično kot tudi za limfatično celično vrsto. Včasih pa celice AL vključujejo dve povsem različni in med seboj jasno ločljivi celični populaciji. To lahko vidimo pri 7 % primerov AL. Takrat govorimo o bifenotipski AL, kar lahko pomeni tudi drugačen izid zdravljenja.

Klonalne citogenetske nepravilnosti

Odkrijemo jih pri večini bolnikov z AML in na njihovi osnovi temelji tudi razvrstitev SZO (Tabela 2). Nekatere med njimi, kot so t(8;21); t(15;17) in inv (16), praviloma pomenijo ugoden potek in izid zdravljenja bolezni. Nekatere druge pogostejše citogenetske nepravilnosti, kot sta delecija dela (dolge ročice) kromosomov 5 ali 7 (del(5q); del(7q)), ki se vsaka posebej pojavljata pri več kot 10 % bolnikov z AML, kompleksne kromosomske nepravilnosti (kar pomeni sočasen pojav več kot treh kromosomskih nepravilnosti), t(3;3), t(6;9) in še nekatere druge, pomenijo neugoden potek AML

oziroma hitro ponovitev bolezni. Ti bolniki sodijo v neugodno prognostično skupino, kar upoštevamo pri načrtovanju zdravljenja. Normalen kariotip ima 15–20 % odraslih bolnikov in ti skupaj z bolniki, ki imajo lahko še nekatere druge kromosomske nepravilnosti (trisomija kromosoma 8, t(9;11) ...), sodijo v srednje ugodno napovedno skupino izida zdravljenja AML. Pri bolnikih z normalnim kariotipom je ključen status mutacij NPM1, FLT3-ITD in CEBPA. Najdba mutacije FLT3-ITD za bolnika ne pomeni nič dobrega. Napovedno vrednost citogenetskih in molekularnogenetskih nepravilnosti prikazuje Tabela 4.

Tabela 4. Citogenetske in molekularnogenetske nepravilnosti in njihova napovedna vrednost pri AML. AML - akutna mieloična levkemija

Ugoden potek AML

- inv(16) ali t(16;16)
- t(8; 21)
- t(15;17)
- normalni kariotip z mutacijo NPM1 ali izolirano mutacijo CEBPA brez mutacije FLT3-ITD

Srednji potek AML

- normalen kariotip
- +8
- t(9;11)
- t(8; 21), inv(16) ali t(16;16) z c-KIT mutacijo
- neopredeljena kot ugodna ali neugodna

Neugoden potek AML

- kompleksni kariotip z več kot tremi kromosomskimi nepravilnostmi
 - monosomski kariotip (vsaj dve monosomiji ali ena monosomija + ena strukturna nepravilnost)
 - -5, 5q-, -7, 7q-
 - 11q23 – non t(9;11)
 - inv(3); t(3;3)
 - t(6;9)
 - t(9;22)
 - normalni kariotip z dokazano mutacijo FLT3-ITD
-

OSNOVE ZDRAVLJENJA

Zdravljenje razdelimo v tri sklope: takojšnje in neodložljivo zdravljenje, podporno zdravljenje in zdravljenje, specifično za vrsto AML.

Nujne in takojšnje ukrepe zahtevajo visoka levkocitoza, šokovno septično stanje, masivne krvavitve in levkemične infiltracije osrednjega živčevja. Septični šok zdravimo s širokospektralnimi antibiotiki, krvavitev s pripravki eritrocitov, trombocitov in sveže zmrznjene plazme (SZP). Če ima bolnik veliko število levkemičnih celic ($> 50 \times 10^9/L$) ali s kliničnim pregledom ugotovljeno moteno zavest, krvavitve na očesnem ozadju in difuzne pljučne infiltrate s hipoksemijo, je treba takoj začeti zdraviti z levkoferezo. Intenzivna hidracija z alkalizacijo urina je nujna ob izraziti levkocitozi ali večjih tumorskih infiltratih, da poskusimo preprečiti sindrom akutne tumorske lize. Agresivno zmanjšujemo tudi raven sečne kisline in spremljamo vrednosti ledvičnih retentov, LDH, serumskega kalija. Če je pacientova zavest motena ali odkrijemo meningealne znake, je treba razmisliti o lumbalni punkciji, saj lahko gre za levkemično infiltracijo možganskih ovojnic. Seveda je treba prej izključiti zvišani intrakranialni tlak.

Pri **podpornem zdravljenju** ima pomembno vlogo pogovor z bolnikom in svetovanje, saj ima beseda »levkemija« veliko pomenov glede izida zdravljenja. Ves čas zdravljenja bolniki potrebujejo nadomestno transfuzijsko zdravljenje. S transfuzijami koncentriranih eritrocitov vzdržujemo vrednost Hb večjo od 80–90 g/L, s transfuzijami trombocitov pa število trombocitov večje od $10 \times 10^9/L$.

V septičnem stanju in ob grozeči krvavitvi mora biti število trombocitov večje od $20 \times 10^9/L$. Če bolnik s trombocitopenijo krvavi, potem trombocitno plazmo nadomeščamo neupoštevaje raven trombocitopenije. Da bi zmanjšali delež septičnih stanj, ki jih povzročajo po Grammu negativne bakterije (izvor septicemije so večinoma prebavila), bolnikom ves čas nevtropenije dajemo levofloksacin ali ciprofloksacin. Redka alternativa je lahko trimetoprim/sulfametoksazol, ki ga v hematologiji zaradi mielosupresivnega delovanja nimamo v čislh. Za preventivo invazivnih glivičnih okužb, predvsem invazivne aspergiloze, bolnike zdravimo s posakonazolom, redkeje pa tudi z drugimi azoli, predvsem vorikonazolom. Posakonazol je ta hip na voljo v obliki sirupa, v kratkem pa pričakujemo tudi intravensko obliko zdravila.

Febrilno nevtropenijo empirično zdravimo s proti-psevdomonasnimi cefalosporini (ceftazidim, cefepim), ureidopenicilini (piperacilin/tazobaktam), karbapenemi (meropenem, imipenem/cilastatin, ertapenem), le izjemoma v kombinaciji z aminoglikozidi. Kasneje – glede na izolirano klico ali še vedno empirično – dodamo vankomicin, teicoplanin, linezolid, klindamicin, redko se glede na izvide kužnin odločimo tudi za daptomicin, tigeciklin ali kolistin.

Po štirinajstdnevnem obdobju (ali pa še prej) kritične nevtropenije nastopi čas glivičnih okužb.

Glivične okužbe težko dokažemo, zato najpogosteje zdravimo empirično. V dobršni meri zato, ker večina bolnikov že preventivno prejema protiglivično zdravilo. Odločimo se za liposomsko obliko amfotericina ali za zdravilo iz skupine ehinokandinov, caspofungin. Za empirično zdravljenje glivičnih okužb azolov ne uporabljamo, če so bolniki poprej že prejeli protiglivično profilakso z azolnimi protiglivičnimi zdravili. Če je povzročitelj znan, aspergilozo zdravimo z vorikonazolom, kandidozo pa z enim od ehinokandinov, kot sta caspofungin ali mikafungin. Anidulafungin pri bolnikih z nevtropenijo nima registracije za zdravljenje. Ob okužbah lahko zdravimo tudi z dodatkom granulocitnih rastnih dejavnikov (G-CSF in GM-CSF), s katerimi za nekaj dni skrajšamo nevtropenično obdobje. Slednje ne vpliva na celokupno preživetje, obstaja pa možnost, da z njimi stimuliramo levkemični klon.

Za zdravljenje vsakega bolnika z AML potrebujemo dober žilni dostop. Zato ima vsak bolnik vstavljen večlumenski centralni venski kateter (CVK), najpogosteje v notranjo jugularno veno ali pa v veno subklavijo. Med drugim po CVK bolnika tudi primerno hidriramo, saj želimo preprečiti sindrom tumorske lize med indukcijsko kemoterapijo. Bolnikom dajemo še alopurinol zaradi hiperurikemije, antiemetike med kemoterapijo in tudi kasneje, ves čas pa je potrebna tudi skrbna nega sluznice ustne votline.

Specifično zdravljenje AML razdelimo v dve obdobji. Prvo je začetno indukcijsko zdravljenje, ki mu nato sledi konsolidacijsko oziroma vzdrževalno zdravljenje. Zdravljenje – odvisno predvsem od izvida citogenetike/molekularne genetike – lahko pri nekaterih bolnikih zaključimo z avtologno ali alogensko PKMC. Pred začetkom zdravljenja je potrebna natančna ocena delovanja srca in pljuč, kot tudi spremljanje toksičnega delovanja citostatikov na omenjena organska sistema med zdravljenjem samim.

Indukcijsko zdravljenje AML vključuje kombinacijo antraciklinskega citostatika (praviloma daunorubicin 60–90 mg/m², tri dni v ciklusu, zelo redko idarubicin) in citozin-arabinozida v sedmih zaporednih dneh. Od leta 2013 na Hematološkem oddelku v Ljubljani omenjeni kombinaciji dodamo še nukleozidni analog kladribin (2-kloro-deoksi-adenozin), s katerim dodatno zvečamo delež doseženih remisij in tudi izboljšamo preživetje zdravljenih bolnikov. Izbira zdravljenja je prilagojena starosti bolnika in morebitnim pridruženim boleznim, predvsem boleznim srca in dihal. Bolnike, ki so mlajši od 60 let, zdravimo z večjimi odmerki citostatikov in bolj agresivno. Starejše bolnike zdravimo s prilagojenimi shemami kemoterapije oziroma uporabljamo tudi nekatera nova zdravila, kot so klofarabin, azacitidin in decitabin. Med zdravljenjem s konvencionalno kemoterapijo so bolniki nepretrgoma v bolnišnici 4–6 tednov. V tem času je v ospredju dolgotrajna

aplazija kostnega mozga s posledičnimi okužbami in krvavitvami. Popolno remisijo bolezni doseže 70–80 % bolnikov, mlajših od 55–60 let, že po prvem indukcijskem krogu zdravljenja. Remisijo potrdimo s punkcijo kostnega mozga v obdobju njegove regeneracije; morfološko delež blastnih celic ne sme biti večji od 5 %. Če so blasti številnejši, govorimo o delni remisiji ali celo o obliki AML, odporni na zdravljenje. To je seveda najslabši napovedni dejavnik izida bolezni. Pri takih bolnikih zdravljenje nadaljujemo s posebnimi »reševalnimi shemami citostatikov« v zelo velikih odmerkih, kar je učinkovito pri 20–50 % bolnikov. Minimalno rezidualno bolezen lahko spremljamo tudi s pretočno citometrijo.

Če bi po uspešnem indukcijskem zdravljenju bolnika nehali zdraviti, bi nastal hiter relaps AML (zaslediti je mogoče rezidualno krvno bolezen). Zato seveda zdravljenje nadaljujemo. Bolnikom damo še 3–5 intenzivnih **konsolidacijskih krogov kemoterapije**, ki tako kot indukcijski krog zdravljenja vključujejo antraciklinske citostatike, citozin-arabinozid in etopozid. Eno ključnih zdravil pri indukcijskem zdravljenju so srednji ali veliki odmerki citozin arabinozida. Koliko takšnih konsolidacijskih krogov je potrebno, še ne vemo, verjetno pa se število giblje med 1 in 4.

Neupoštevaje razdelitev AML na prognostične podskupine in starost, je možnosti, da bodo bolniki dolgoročno ozdravljeni, približno ena tretjina. Če pogledamo zgolj podskupino AML z ugodno napovedjo, se možnost ozdravitve zveča na 60–70 %. Uspešnost zdravljenja lahko pri napovedno manj ugodnih oblikah AML izboljšamo s PKMC, potem, ko ocenimo prognozo bolezni. Bolnikom, ki so v slabi prognostični skupini (neugodne citogenetske spremembe, veliko število levkocitov ob postavitvi diagnoze, sekundarne oblike AML, na primarno zdravljenje odporna oblika AML), svetujemo sorodno ali nesorodno alogensko PKMC že v prvi remisiji bolezni. Zaradi zahtevnosti zdravljenja in visoke smrtnosti morajo biti bolniki načeloma mlajši od 60–65 let. Z uveljavljanjem nemieloablativne alogenske PKMC se starostne meje pomikajo navzgor, to je proti 65. letu starosti. Ustreznega darovalca krvotvornih matičnih celic najdemo mnogo več kot polovici bolnikov, ki tako zdravljenje potrebujejo. Zdravljenje lahko pri določenih bolnikih zaključimo tudi z avtologno PKMC, katere mesto v prvi remisiji bolezni še ni povsem opredeljeno. Alogenska in avtologna PKMC sta uveljavljena načina zdravljenja tudi pri bolnikih v drugi remisiji bolezni, alogenska PKMC pa je edina možnost ozdravitve pri bolnikih z refraktarno AML.

Med AML zahteva posebno zdravljenje **akutna promielocitna levkemija (APL)**. APL označuje citogenetska nepravilnost t(15;17), katere posledica je nastanek onkogenega PML-RAR α . APL zdravimo s kombinacijo antraciklinskega citostatika in *all-trans*-retinoične kisline (ATRA; tretinoin), ki je derivat vitamina A. ATRA omogoči, da se levkemični promielociti lahko normalno diferencirajo dalje, vse do stopnje zrelih nevtrofilnih granulocitov. Tako

dosežemo remisijo bolezni in preprečimo sindrom DIK. Ta je posledica razpada levkemičnih promielocitov in sprostitve njihovih vključkov v sistemski krvni obtok in je glavni vzrok umrljivosti teh bolnikov. Na podoben način deluje tudi arzenov trioksid (ATO, As_2O_3), ki ga uporabljamo pri zdravljenju odpornih oblik APL. ATO je celo bolj učinkovito diferenciacijsko zdravilo za zdravljenje APL kot ATRA. Na ta način povsem pozdravimo skoraj 90 % vseh bolnikov z APL. Učinkovito je tudi sočasno zdravljenje s kombinacijo ATRE in arzenovega trioksida, posebej bolnikov, ki imajo zadržek prejeti antraciklinski citostatik. Specifičen problem zdravljenja APL z ATRO in ATO je diferenciacijski sindrom. Ta se manifestira z nejasno vročino, porastom telesne teže, plevralnimi in perikardialnimi izlivmi, edemi, pljučnimi infiltrati, hepatopatijo ...

Poseben problem zdravljenja je **AML pri starejših bolnikih**, kjer preživetje po postavitvi diagnoze bolezni neredko merimo v tednih. Zaradi številnih zapletov zdravljenja z visokimi odmerki citostatikov in posledično visoke umrljivosti se mnogokrat odločimo samo za simptomatsko ukrepanje. Zdravimo anemijo, morebitne življenjske ogrožajoče krvavitve, visoko število levkocitov pa skušamo zmanjšati z nizkimi odmerki citozin-arabinozida ali z oralnimi citostatiki (melfalan, merkaptopurin, tiogvanin, hidroksiurea). Nekatere bolnike lahko poskusimo zdraviti tudi s hipometilacijskimi zdravili, kot sta že omenjena decitabin in azacitidin.

Učinkovitost zdravljenja AML pri bolnikih z značilnimi citogenetskimi/molekularnogenetskimi spremembami danes rutinsko spremljamo s citogenetskimi (metodologija FISH) oziroma molekularnogenetskimi preiskavami (metoda PCR). Z njimi lahko v sicer morfološko normalnem kostnem mozgu, ko ni levkemičnih blastnih celic, ugotovimo minimalno rezidualno bolezen (MRD) ali pa začetni relaps AML. Tako lahko intenzivnost zdravljenja zvečamo ali pa ponovno začnemo zdraviti že v obdobju, ko je levkemično breme še lahko. Eden od načinov spremljanja MRD je tudi spremljanje izraznosti antigena Wilmsovega tumorja (antigen WT). Njegova izraznost je pri bolnikih z AML močno zvečana in dobro korelira z učinkovitostjo zdravljenja oziroma z aktivnostjo bolezni.

V prihodnje bomo AML zdravili tudi z novejšimi, biološkimi zdravili. Za nekatere vrste AML že imamo monoklonska protitelesa (gemtuzumab) in inhibitorje proteosomov ter nekatere inhibitorje že omenjenih tirozinskih kinaz (npr. inhibitorj za AML in FLT3 kinaze – sorafenib, kvizartinib) in farnetil transferaze (tipifarnib), ki sta posebej aktivni pri določenih oblikah AML. Razvijajo tudi zdravila, s katerimi bomo lahko ciljano krotili bolezensko izražanje onkogenov, specifičnih.

NAČELA SLEDENJA STANJA BOLNIKOV

Prve mesece (pol leta) so bolniki večinoma deležni izključno bolnišnične obravnave. Po prvem indukcijskem krogu kemoterapije s punkcijo in citološko oceno kostnega mozga ocenimo uspešnost zdravljenja. V nadaljevanju preiskave ne ponavljamo, razen če obstaja utemeljen sum za ponovitev AL ali pa če potrebujemo vzorec kostnega mozga za citogenetske/molekularnogenetske preiskave, s katerimi sledimo MRD.

Po zaključenem zdravljenju AL s kemoterapijo ali avtologno/alogeno PKMC bolnikovo stanje spremljamo ambulantno, odvisno od težav, prve mesece pogosteje, lahko v tedenskih do mesečnih intervalih. Kasneje interval kontrolnih pregledov podaljšamo na tri do šest mesecev. Ključen je pregled krvne slike, vključujoč njen periferni razmaz. Pri bolnikih z znanimi citogenetskimi nepravilnostmi vedno sledimo MRD, spremljamo pa tudi antigen WT. Večinoma je za sledenje MRD potreben vzorec kostnega mozga, vsaj prvi dve leti pa je interval vzorčenja 3–4 mesece.

Prav je da so bolniki opozorjeni, naj ob okužbi ali krvavitvi takoj poiščejo zdravniško pomoč ali pa vprašajo za navodila svojega hematologa.

UPORABLJENA LITERATURA

- Holowiecki J, Grosicki S, Giebel S, Robak T, Kyrz-Krzemien S, Kuliczowski K, et al. Cladribine, but not fludarabine, added to daunorubicin and cytarabine during induction prolongs survival of patients with acute myeloid leukemia: a multicenter, randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2012; 30; 2441–8.
- Provan D, Singer CRJ. Leukemia. In: Provan D, Singer CRJ, Baglin T, Lilleyman J, editors. *Oxford handbook of clinical haematology*. Oxford: Oxford university press, 2009: 120–32.
- Thompson AT. Acute leukemias. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, editors. *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Vol 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013: 1577–616.
- Zver S. Akutne levkemije. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, editors. *Interna medicina*. 3rd ed. Ljubljana: Littera picta, 2011: 1301–08.
- Zver S. Avtologna in alogenična presaditev krvotvornih matičnih celic. In: Kocijančič A, Mrevlje F, Štajer D, editors. *Interna medicina*. 3rd ed. Ljubljana: Littera picta, 2005: 1355–60.

KRONIČNA MIELOIČNA LEVKEMIJA IN DRUGE KRONIČNE MIELOPROLIFERATIVNE NOVOTVORBE

Uroš Mlakar

Povzetek. Z napredkom razumevanja molekularne patogeneze kroničnih mieloičnih novotvorb se je spremenila njihova diagnostika, zdravljenje in prognoza. Odkritje gena BCR-ABL1 pri kronični mieloični levkemiji leta 1985, ki mu je sledila leta 2001 uvedba prvega inhibitorja tirozinske kinaze imatiniba, je spremenilo kronično mieloično levkemijo v eno od najbolj uspešno zdravljenih mieloičnih novotvorb. Odkritje mutacije JAK2 leta 2005 pri pravi policitemiji, esencialni trombocitemiji in primarni mielofibrozi je olajšalo diagnostiko. Uporaba inhibitorja JAK2 ruksolitiniba pa je korak naprej v zdravljenju splenomegalije in drugih simptomov pri primarni mielofibrozi. V prispevku obravnavamo klinično sliko, diagnostiko in zdravljenje pri kronični mieloični levkemiji, pravi policitemiji, esencialni trombocitemiji in primarni mielofibrozi.

UVOD

Med kronične mieloproliferativne novotvorbe (KMPN) uvrščamo skupino klonskih bolezni, katerih skupna značilnost je zvečano nastajanje krvnih celic. Zvečano nastajanje je posledica proliferacije ene ali več vrst mieloičnih celic v kostnem mozgu. Dozorevanje celic je relativno normalno. Zaradi ekstrapredularne hematopoeze, levkemične infiltracije in sekvestracije prebitka krvnih celic v vranici in jetrih navadno nastane hepatosplenomegalija. Drugi dve značilnosti KMPN sta napredovanje bolezni in prehod v akutno levkemijo. Postopno napredovanje bolezni lahko pripelje do odpovedi kostnega mozga zaradi mielofibroze. Klonska evolucija pa lahko privede do preobrazbe v akutno levkemijo. V tem primeru govorimo o blastni preobrazbi. Razlikujemo levkemične in nelevkemične KMPN. V prvo skupino sodi kronična mieloična levkemija. Med nelevkemične KMPB pa uvrščamo pravo policitemijo, esencialno trombocitemijo in primarno mielofibrozo.

KRONIČNA MIELOIČNA LEVKEMIJA

Kronična mieloična levkemija (KML) je posledica razrasti klona nenormalne krvotvorne matične celice z značilno citogenetsko spremembo. Gre za recipročno translokacijo med 9. in 22. kromosomom (t(9;22)). Pri tem nastali spremenjeni 22. kromosom imenujemo tudi *kromosom Philadelphia* (Ph-kromosom). Na njem nastane združen gen BCR-ABL1. Posledica je tvorba nenormalnega proteina, ki ima večjo temeljno tirozin kinazno aktivnost kot normalni protein ABL1. To zveča proliferacijo predvsem celic granulocitne vrste. Bolezen ima dvo ali trofazni potek. Razlikujemo kronično obdobje, obdobje pospešenega poteka in obdobje blastne preobrazbe.

Incidenca kronične mieloične levkemije (KML) je ocenjena na 1,25/100.000 na leto. Bolezen se lahko razvije v katerem koli starostnem obdobju. Najpogostejše jo ugotovimo v petdesetem letu starosti. Nekoliko pogostejša je pri moških.

Simptomi in znaki kronične mieloične levkemije

Pri večini bolnikov je ob odkritju bolezen v kroničnem obdobju. Tretjina bolnikov je brez težav, drugi imajo splošne simptome (utrujenost, hujšanje, nočno potenje) in simptome zaradi zvečane vranice (tiščanje pod levim rebrom, občutek zgodnje sitosti). Pri fizikalni preiskavi v več kot v 75 % primerov odkrijemo zmerno do obilno splenomegalijo. Pogosto so nekoliko zvečana tudi jetra. Zaradi anemije je lahko vidna bledica. V obdobju pred odkritjem inhibitorja tirozinske kinaze imatiniba je kronično obdobje bolezni trajalo 4–6 let. Temu obdobju je sledilo 6–12-mesečno obdobje pospešenega poteka, za katerega je bila značilna neučinkovitost tedanjega zdravljenja. Pospešenemu obdobju pa je sledil prehod v akutno levkemijo (blastna preobrazba). Ta se lahko pojavi tudi brez poprejšnjega obdobja pospešenega poteka. Zdravljenje blastne preobrazbe je bilo praviloma neuspešno in bolniki so umrli v 3–6 mesecih.

Uvedba zdravljenja z inhibitorji tirozin kinazne aktivnosti proteina BCR-ABL1 je dramatično spremenila potek bolezni. Tovrstno zdravljenje zavre proliferacijo levkemičnega klon. Čeprav bolnikov ne ozdravimo, dosežemo v večini primerov dolgotrajni nadzor bolezni. Zato je sedaj preživetje bolnikov v kroničnem obdobju bolezni v 90 % več kot 5 let (mediana preživetja zaenkrat še ni določena).

Diagnostika kronične mieloične levkemije

Ob odkritju bolezni je v krvni sliki levkocitoza (praviloma $> 25 \times 10^9/L$, pogosto $100\text{--}200 \times 10^9/L$) predvsem zaradi zvečanega števila nevtrofilcev v različnih stopnjah dozorevanja. V diferencialni krvni sliki ugotovimo glede na delež posameznih razvojnih stopenj navadno dva vrhova, in sicer pri segmentiranih nevtrofilcih in mielocitih. Mieloblastov je navadno manj kot 2 %. Opazna je tudi bazofilija, vendar je delež bazofilcev navadno manj kot 15-odstoten. Število trombocitov je normalno ali zvečano. Veliko bolnikov ima tudi anemijo blage stopnje. Ključen za diagnozo KML je dokaz t(9;22) oziroma združenega gena BCR-ABL1. S klasično citogenetsko preiskavo kostnega mozga ugotovimo t(9;22) v 90–95 % primerov. V preostalih sta v translokacijo dodatno vključena še en kromosom ali dva ali pa gre za skrito translokacijo. Gen BCR-ABL1 lahko ugotovimo z dokazom prepisa tega gena v informacijsko RNK z metodo polimerazne verižne reakcije z obratno transkripcijo (RT-PCR). Praviloma ob odkritju bolezni naredimo poleg klasične citoge-

netske preiskave kostnega mozga tudi kvantitativno preiskavo RT-PCR iz periferne krvi. Z njo ocenimo velikost levkemičnega klon. Rezultat preiskave se poda na mednarodnem merilu (*International Scale*, IS).

Laboratorijski znaki pospešenega obdobja KML so: 10–19 % blastov v krvi ali kostnem mozgu, več kot 20 % bazofilcev v krvi, vztrajna trombocitopenija ($< 100 \times 10^9/L$) ali trombocitoza ($> 1.000 \times 10^9/L$) in nove citogenetske spremembe. Če ugotovimo 20 % ali več blastov v krvi oziroma kostnem mozgu ali ekstramedularno kopičenje blastov, gre za blastno preobrazbo.

Zdravljenje kronične mieločne levkemije

Zdravljenje začnemo s prvo (imatinib) ali drugo (nilotinib, dasatinib) generacijo inhibitorjev tirozinske kinaze (tirozin kinazni inhibitorji, TKI). Oceno uspešnosti zdravljenja kaže velikost levkemičnega klon, določena s kvantitativnim RT-PCR iz periferne krvi. Vrednost 10 % IS ali manj pomeni zmanjšanje klon za en desetiški logaritem od določene standardne začetne vrednosti in se običajno sklada s hematološko remisijo (normalizacija krvne slike in vranice). Vrednost ≤ 1 % IS je praviloma skladna s popolnim citogenetskim odzivom (0 % celic s Ph-kromosomom). O glavnem molekularnem odzivu pa govorimo pri vrednosti $\leq 0,1$ % IS, kar pomeni zmanjšanje klon za tri desetiške logaritme.

Cilji zdravljenja so doseči v 3 mesecih vrednost ≤ 10 % IS, v 6 mesecih ≤ 1 % IS in v 12 mesecih $\leq 0,1$ % IS. V večini primerov te cilje dosežemo. Le pri manjšini pride do primarne neodzivnosti na zdravljenje ali izgube že doseženega odziva. V zadnjem primeru govorimo o sekundarni neodzivnosti. Primarna ali sekundarna neodzivnost sta navadno posledica točkovnih mutacij gena BCR-ABL1. V teh primerih je navadno učinkovito zdravljenje z enim od preostalih TKI. Izjema je mutacija T315I, ki je odporna tudi na drugo generacijo TKI. Ker pri nas TKI tretje generacije še niso na voljo, se v takem primeru odločimo za alogensko presaditev krvotvornih matičnih celic. Za bolnike v pospešenem obdobju ali v blastni preobrazbi se priporoča začetek zdravljenja z večjim odmerkom enega od TKI. Če je možno, se nato naredi alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic. Pri bolnikih z ustreznim odzivom trajanje zdravljenja s TKI zaenkrat še ni določeno.

PRAVA POLICITEMIJA

Prava policitemija (PP) je klonska bolezen krvotvorne matične celice, za katero je značilno zvečano nastajanje predvsem celic rdeče vrste, manj granulocitne in megakariocitne vrste. Zvečana eritropoeza je neodvisna od normalnih regulatornih mehanizmov. Bolezen ima ponavadi dvofazni potek. Policitemičnemu obdobju z zvečano maso eritrocitov v obtoku sledi obdobje

mielofibroze (postPP-mielofibroza) s citopenijami zaradi neučinkovite hematopoeze. V 95 % primerov je dokazljiva pridobljena točkovna mutacija gena JAK2 (JAK2-V617F), v preostalih 5 % pa so druge vrste mutacij gena JAK2 s podobnim učinkom na encim kot mutacija V617F.

Incidenca je v Evropi ocenjena 0,8–1/100.000 na leto. Bolezen je nekoliko pogostejša pri moških. Povprečna starost ob diagnozi je 60 let. Zelo redko se pojavi pred 20. letom starosti.

V patogenezi PP kot tudi esencialne trombocitemije in primarne mielofibroze ima pomembno vlogo napaka v delovanju citoplazemske tirozin kinaze JAK2. Encim JAK2 je vezan na citoplazemski del receptorja za eritropoetin, trombopoetin in G-CSF (*granulocyte colony stimulating factor*). Ima pomembno vlogo pri prenosu signalov v celico, ki jih sproži vezava omenjenih rastnih dejavnikov na receptor. Točkovna mutacija gena JAK2 (JAK2-V617F) povzroči, da encim JAK2 pridobi temeljno aktivnost neodvisno od ravnega dejavnika, kar ima za posledico od ravnih dejavnikov neodvisno proliferacijo celic. Od dodatnih, še nepoznatih dejavnikov je odvisno, razrast katere vrste mieloičnih celic bo prevladovala.

Ker je pri PP eritropoeza neodvisna od eritropoetina, se zveča masa eritrocitov v obtoku (eritrocitoza). Skladno z večjim hematokritom se zveča viskoznost krvi. Zvečana viskoznost krvi kot tudi zvečano število in aktivacija trombocitov so glavni vzroki za večjo ogroženost s trombotičnimi zapleti.

Simptomi in znaki prave policitemije

Včasih bolniki nimajo težav in bolezen odkrijemo naključno. Simptomi se navadno razvijejo postopno. Težave, kot so glavobol, motnja vida, zvonjenje v ušesih in vrtoglavica, so pogoste in so posledica motenj mikrocirkulacije v osrednjem živčevju zaradi aktivacije trombocitov, kar ima za posledico mikrovaskularne tromboze. Tudi pri eritromelalgiji (pekoča bolečina in rdečica prstov in stopal), ki ni redka, gre za podobno dogajanje v koži. Pri bolnikih s PP je večja verjetnost arterijskih in venskih tromboz. Venske tromboze se lahko pojavijo na neobičajnih mestih (mezenterične in hepatične vene ter vranična in portalna vena) in so lahko prvi znak bolezni. Med dokaj značilne simptome sodi tudi srbenje kože predvsem po kopanju s toplo vodo. To težavo navaja polovica bolnikov.

Zaradi pletore so koža obraza in dlani temno rdeče, intenzivno rdeči sta tudi veznica in ustna sluznica. Vranica je tipljivo zvečana pri 70 % primerov, jetra pri 30 %. PP ima relativno benigni potek. Mediana preživetja je več kot 10 let. Glavni vzrok večje zbolelosti in umrljivosti so trombotični zapleti. Prehod iz policitemičnega obdobja v obdobje *post-PP mielofibroze* je počasen. V obdobju 15 let se razvije postPP-mielofibroza v približno 20 %. Ver-

jetnost za blastno preobrazbo pri bolnikih, ki se zdravijo samo z venepunkcijo, je majhna (1–3 %).

Diagnostika prave policitemije

V krvni sliki je poleg višjega hematokrita in koncentracije hemoglobina pri dveh tretjinah primerov opazna še nevtrofilija, pri polovici pa trombocitoza. V vsakdanjem kliničnem delu ocenjujemo stopnjo eritrocitoze s pomočjo hematokrita.

Za diagnozo PP zadostuje, če poleg večje vrednosti hematokrita ($> 0,52$ pri moških in $> 0,48$ pri ženskah) ugotovimo tudi mutacijo JAK2-V617F. Preiskavo naredimo na vzorcu periferne krvi. Če mutacije ne najdemo, kar je redko, postavimo diagnozo PV, s tem da izključimo druge vzroke zvišanega hematokrita. Najprej izključimo navidezno zvišanje hematokrita zaradi zmanjšane plazme (lažna eritrocitoza). Zelo zvišan hematokrit ($> 0,60$ pri moških in $> 0,56$ pri ženskah) izključuje lažno eritrocitozo. Pri zmerno zvišanem hematokritu le radioizotopska meritev mase eritrocitov v obtoku omogoči razlikovati lažno od absolutne eritrocitoze. Po ugotovitvi absolutne eritrocitoze izključimo različne vzroke za sekundarno eritrocitozo z dodatnimi preiskavami (npr. plinska analiza arterijske krvi, koncentracija eritropoetina v serumu).

Zdravljenje prave policitemije

S puščanjem krvi (venepunkcija) normaliziramo maso eritrocitov v obtoku in s tem viskoznost krvi. Ciljna vrednost hematokrita je manj kot 0,45. Dosežemo jo z odvzemom 300–500 ml krvi v dve- do tridnevni razmikih. Kasneje, ko pride do pomanjkanja železa, so za vzdrževanje ciljne vrednosti hematokrita potrebne le občasne venepunkcije. Za preprečevanje žilnih zapletov priporočajo še acetilsalicilno kislino 100 mg/dan. Med potekom bolezni potrebuje večina bolnikov tudi citoreduktivno zdravljenje zaradi napredovanja mieloproliferacije (trombocitoza, napredujoča ali simptomatična splenomegalija, splošni simptomi). Zdravilo izbire je citostatik hidroksikarbamid (hidroksiurea). Alternativa zlasti za mlajše bolnike pa je interferon alfa.

ESENCIALNA TROMBOCITEMIJA

Esencialna trombocitemija (ET) je klonska mieloproliferativna bolezen, ki v prvi vrsti prizadene megakariocitno vrsto. Glavna značilnost je stalno zvečano število trombocitov nad $450 \times 10^9/L$. V polovici primerov je mutacija JAK2-V617F.

Incidenca je ocenjena na 1–2,5/100.000 na leto. ET je enako pogosta pri obeh spolih. Najpogostejše jo imajo bolniki, stari 50–60 let. Vzrok za nastanek ET ni poznam. Pri razvoju bolezni imajo verjetno poleg mutacije JAK2-V617F določeno vlogo tudi druge, še neodkrite molekularne napake v signalnih poteh od receptorja v jedro.

Simptomi in znaki esencialne trombocitemije

Več kot polovica bolnikov ob odkritju bolezni nima opaznih težav. V 20–50 % jo odkrijemo ob pojavu tromboze ali krvavitve. Simptomi trombotičnih zapletov (mikrovaskularne, arterijske in venske tromboze) so podobni kot pri PP. Glavna dejavnika tveganja za tromboze sta starost več kot 60 let in poprejšnja tromboza. Krvavitve so pogostejše pri številu trombocitov, večjem od $1.000 \times 10^9/L$. Deloma je to posledica pomanjkanja visokomolekularnih multimerov von Willebrandovega faktorja v krvi, ki je tem večje, čim večje je število trombocitov v krvi. Krvavitve so najbolj pogoste iz sluznic prebavil in zgornjih dihal. Zmerno zvečano vranico ugotovimo pri polovici primerov.

Diagnostika esencialne trombocitemije

V krvni sliki, razen trombocitoze in anizocitoze trombocitov, navadno ni drugih sprememb. Za razliko od PP, pri kateri je v kostnem mozgu zaznaven razrast vseh treh vrst mieloičnih celic, prevladuje pri ET le razrast celic megakariocitne vrste z zvečanim številom velikih zrelih megakariocitov.

Diagnostična merila za ET so: trombociti $> 450 \times 10^9/L$, najdba mutacije JAK2-V617F, izsledkov, značilnih za PP in primarno mielofibrozo, pa ni. Če ni mutacije JAK2-V617F (JAK2-V617F negativna ET), moramo, preden se odločimo za diagnozo ET, izključiti različne druge vzroke za reaktivno trombocitozo (vnetje, novotvorbe, pomanjkanje železa).

Zdravljenje esencialne trombocitemije

Bolnike, hudo ogrožene s trombozo (starost > 60 let, poprejšnja tromboza) zdravimo z majhnimi odmerki acetilsalicilne kisline in s hidroksikarbamidom. Namesto hidroksikarbamida lahko za zniževanje števila trombocitov uporabimo dva pripravka, ki ne sodita v skupino citostatikov; interferon alfa ali anagrelid. Bolnike, manj ogrožene s trombozo, zdravimo samo z acetilsalicilno kislino. Če je število trombocitov $> 1.000 \times 10^9/L$, se tudi za zmanjšanje nevarnosti krvavitev priporoča citoreduktivno zdravljenje npr. s hidroksikarbamidom.

Med nelevkemičnimi KMPB ima ET najugodnejši potek. V obdobju 10 let pri 10 % nastane mielofibroza (*post-ET mielofibroza*). Ocenjujejo, da pride do

blastne preobrazbe pri okrog 3 % bolnikov, ki se zdravijo s hidroksikarbamidom. Ker gre pri ET za bolnike v poznem srednjem življenjskem obdobju in ker ima bolezen dolgotrajen potek, življenjska doba večine bolnikov ni krajša od pričakovane.

PRIMARNA MIELOFIBROZA

Primarna mielofibroza (PMF) je klonska bolezen krvotvorne matične celice neznane etiologije, za katero je značilna proliferacija megakariocitne in granulocitne vrste, ki jo spremlja razrast vezivnega tkiva v kostnem mozgu in ekstramedularna hematopoeza predvsem v vranici in jetrih. Za bolezen je značilen postopen prehod iz začetnega prefibrotičnega (hipercelularni kostni mozeg z minimalno retikulinsko fibrozo) v fibrotično obdobje, za katero je značilna retikulinska in kolagenska fibroza, pogosto tudi osteoskleroza. Mutacija JAK2-V617F je v polovici primerov. Poleg mutacije JAK2-V617F so pri nekaterih bolnikih s PMF ugotovili tudi mutacijo receptorja za trombopoetin in različne citogenetske spremembe. To kaže, da je patogeneza kompleksna in da so pri nastanku bolezni udeleženi številni genetski, verjetno pa tudi epigenetski dejavniki.

Po nekaterih ocenah je incidenca PMF 0,5–1,5/100.000 na leto. Najpogostejše odkrijemo PMF v sedmem desetletju življenja.

Simptomi in znaki primarne mielofibroze

Tretjina bolnikov je ob odkritju bolezni brez težav. Ostali navajajo utrujenost, dispnejo, hujšanje, nočno potenje, krvavitve. Imajo lahko tudi težave zaradi zvečane vranice. Zvečana vranica in jetra sta posledici ekstramedularne hematopoeze. Zvečano vranico ima večina (90 %), jetra pa polovica bolnikov.

Diagnostika primarne mielofibroze

Spremembe krvne slike v prefibrotičnem obdobju so anemija blage stopnje ter blaga do zmerna levkocitoza in trombocitoza. Za fibrotično obdobje PMF je značilna levkoeritroblastna krvna slika (mielociti in eritroblasti v krvnem razmazu) in izrazita poikilocitoza z dakriociti. Poleg tega je zaznavna še anemija zmerne do hude stopnje. Število levkocitov in trombocitov je lahko zmanjšano, normalno ali zvečano. Pogosto je zvečana aktivnost laktatdehidrogenaze v serumu. Punkcija kostnega mozga je po navadi suha. Ključna preiskava za diagnozo PMF je biopsija s histološkim pregledom kostnega mozga.

Zdravljenje primarne mielofibroze

Asimptomatičnih bolnikov praviloma ne zdravimo. Za citoreduktivno zdravljenje (hidroksikarbamid) se odločimo, če imajo splošne simptome, kostno bolečino, izrazito splenomegalijo in levkocitozo ali trombocitozo. Pri bolnikih z anemijo prihaja v poštev zdravljenje z androgeni ali eritropoetinom, če smo poprej izključili druge vzroke za anemijo (pomanjkanje železa ali folatov). Kljub opisanim načinom zdravljenja postane večina bolnikov odvisna od transfuzij eritrocitov. Če so zaradi zvečane vranice težave hude, prihaja v poštev obsevanje vranice z ionizirajočimi žarki. Uvedba inhibitorjev JAK2 odpira nove možnosti zdravljenja PMF. Inhibitor JAK2 ruxolitinib omili simptome, zmanjša splenomegalijo in po zadnjih podatkih nekoliko izboljša preživetje.

Mediana preživetja od diagnoze bolezni je 3–5 let. Glavni vzroki smrti so: okužbe in krvavitve zaradi odpovedi kostnega mozga, tromboze, portalna hipertenzija, srčna odpoved in blastna preobrazba. Do blastne preobrazbe v akutno mieloično levkemijo pride v 5–10 % primerov.

PRIPOROČENA LITERATURA

Baccarani M, Deininger MW, Rosti G. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia, *Blood* 2013; 122: 872–84.

Mrakar U. Kronične mieloproliferativne bolezni. In: Novaković S, Hočevnar M, Jezeršek-Novaković B, Strojani P, Žgajnar J, Rudolf Z, Sok M, editors: *Onkologija, raziskovanje, diagnostika in zdravljenje raka*. 1st ed. Ljubljana: Mladinska knjiga, 2009: 390–5.

Passamonti F. How I treat polycythemia vera. *Blood* 2012; 120: 275–84.

Tefferi A. How I treat myelofibrosis, *Blood* 2011; 117: 3494–504.

Vardiman JW, Melo JV, Baccarani M, Thiele J. Myeloproliferative neoplasms. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H, et al, editors: *WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphatic tissues*. 4th ed. Lyon: IARC Press, 2008: 31–86.

MIELODISPLASTIČNI SINDROMI

Matjaž Sever

Povzetek. Mielodisplastični sindromi (MDS) so heterogene bolezni s skupno lastnostjo neučinkovitega nastajanja celic v kostnem mozgu. Bolniki ob nastopu bolezni najpogosteje opazijo težave zaradi anemije, pogosto pa ugotovimo spremembe v krvni sliki ob spremljanju drugih bolezni. Izključiti moramo druga stanja, ki lahko povzročijo podobne spremembe kot MDS. Ključna za diagnozo in napoved poteka MDS so citološki pregled kostnega mozga in citogenetske preiskave. Bolezen razvrstimo po sistemu *Svetovne zdravstvene organizacije* in napovemo potek glede na *Prenovljeni mednarodni sistem napovedovanja MDS*. Zdravljenje poteka najpogosteje s popravljanjem citopenije z rastnim dejavnikom, npr. epoetinom, lahko tudi s transfuzijami s sočasno kelacijo. Pri napovedno neugodnem poteku zdravimo z azacitidinom, ki pomembno vpliva na potek bolezni z malo sopojavi. Če so možnosti, zdravimo s citostatiki in presaditvijo krvotvornih matičnih celic; slednje je edino, kar lahko bolnika pozdravi.

UVOD

Mielodisplastični sindromi (MDS) so skupina bolezni, ki potekajo s citopenijo v krvi in lahko preidejo v akutno mieloično levkemijo. Skupno jim je neučinkovito nastajanje celic v kostnem mozgu. Ugotavljanje in zdravljenje MDS ostajata tudi v današnjem času zahtevna v primerjavi z drugimi hematološkimi boleznimi. Bolezen potrdimo s citološkim pregledom kostnega mozga. Za napoved bolezni potrebujemo molekularne in citogenetske preiskave. Zdravljenje je individualno in odseva lastnosti same bolezni in pridruženih bolezni. Obsega širok spekter od opazovanja in podpornega zdravljenja do uporabe citostatikov in presaditve krvotvornih matičnih celic (PKMC).

ETIOLOGIJA MIELODISPLASTIČNIH SINDROMOV

Velika večina bolnikov z MDS v anamnezi ne navaja vzroka, ki bi povzročil bolezen ali vsaj prispeval k njenemu nastanku. Pri majhnem deležu bolnikov pa lahko ugotovimo MDS kot posledico genetskih sprememb (Downov sindrom in Fanconijeva anemija) ali dejavnikov iz okolja. Najpomembnejši dejavnik okolja je poprejšnja izpostavljenost citostatičnemu zdravljenju in obsevanju z ionizirajočimi žarki zaradi hematološke bolezni ali novotvorbe parenhimskega organa. V povprečju se taka oblika MDS razvije 5–6 let po zaključku zdravljenja z antraciklini in ima slabo prognozo (1).

KLINIČNA SLIKA IN DIAGNOSTIKA MIELODISPLASTIČNIH SINDROMOV

Najpogostejši znak MDS je anemija. Postopno napredujoča utrujenost in zmanjšana zmogljivost med naporji je najpogostejša težava bolnikov.

Manjši delež bolnikov ima krvavitve ob trombocitopeniji ali okužbe zaradi nevtropenije. Neredko pri bolnikih odkrijemo naključno citopenijo med diagnostičnimi postopki zaradi drugih bolezenskih stanj. Osnovne preiskave za opredelitev MDS obsegajo: celotno krvno sliko, biokemijske preiskave z določitvijo elektrolitov, dušičnih retentov, jetrnih encimov, vitamina B12 in folne kisline, opredelitev zalog železa v telesu, raven eritropoetina, citološki in lahko tudi histološki pregled kostnega mozga, pretočno citometrijo z določitvijo HLA DR15 in citogenetske preiskave, vključno s FISH (2).

PREGLED KOSTNEGA MOZGA IN KRVİ PRI MIELODISPLASTIČNIH SINDROMIH

Za ugotovitev bolezni in njeno razvrstitev po priporočilih *Svetovne zdravstvene organizacije* iz leta 2008 je treba opraviti morfološki pregled kostnega mozga. Razmaz kostnega mozga obarvamo po metodi May-Gruenwald-Giemsa ter barvanjem na železo. Da lahko govorimo o displaziji celične vrste, moramo najti vsaj 10 % celic z displastičnimi spremembami. Natančno moramo prešteti število blastov, ker imajo vlogo v napovedi poteka bolezni. V preparatu z barvanjem na železo je treba prav tako natančno določiti delež sideroblastov. Na podlagi ocene ugotovimo enega od mielo-displastičnih sindromov (Tabela 1) (3).

Biopsijo kostnega mozga opravimo, ko sumimo na sočasne druge bolezni, oziroma da so spremembe v krvni sliki posledica drugega patološkega dogajanja. Opredeljujemo predvsem morebitno fibrozo v kostnem mozgu, metastaze in hipoplazijo kostnega mozga. Diferencialno-diagnostično nam to pomaga pri opredelitvi primarne mielofibroze, panmieloze z mielofibrozo, kronične mielomonocitne levkemije in hipoplastičnega MDS.

CITOGENETSKE PREISKAVE PRI MIELODISPLASTIČNIH SINDROMIH

Citogenetske spremembe so značilne za MDS. Kromosomske spremembe najdemo pri približno polovici bolnikov, pri katerih ugotovimo MDS. Citogenetske spremembe so številne in odsevajo heterogenost bolezni. Njihov pomen je v ugotavljanju, napovedovanju poteka in odločanju o zdravljenju MDS. Posledično so citogenetske spremembe zajete praktično v vseh sistemih za oceno napovedi poteka bolezni, posebej imajo pomen v prenovljenem sistemu *Revised International Prognostic Scoring System* (R-IPSS). Glede na omenjeno je pomembno, da napravimo citogenetski status bolnika ob ugotovitvi bolezni. Za ugotavljanje sprememb običajno uporabimo klasično citogenetsko metodo določanja kariotipa v metafazi. Komplementarna preiskava pri klasični tipizaciji je in situ fluorescenčna hibridi-

zacija (FISH). Omogoča večjo občutljivost in pomembno zveča število ugotovljenih kromosomskih nepravilnosti. V zadnjih letih smo s pomočjo analize citogenetskih sprememb v večjih populacijah bolnikov z MDS prišli do novjših spoznanj. Trenutno razvrščanje in pomen citogenetskih sprememb pri MDS prikazuje Tabela 2 (4).

Tabela 1. Razvrščanje mielodisplastičnih sindromov po Svetovni zdravstveni organizaciji.
bl – blasti, mo – monociti

Bolezen	Kri	Kostni mozeg
Refraktarna citopenija z enovrstno displazijo	Uni/bicitopenija, bl<1 %	Displazija ene vrste (>10 %), bl<5 %, prstanasti sideroblasti <15 %
Refraktarna anemija s prstanastimi sideroblasti	Anemija, ni bl	Prstanasti sideroblasti>15 %, samo diseritropoeza, bl<5 %
Refraktarna citopenija z večvrstno displazijo	Citopenija/e, bl<1 %, ni Auerjevih palčk, Mo<1x10 ⁹ /l	Displazija ≥2 vrst (≥10 %), bl<5 %, ni Auerjevih palčk, ±15 % prstanastih sideroblastov
Refraktarna anemija s pribitkom blastov -1	Citopenija/e, bl<5 %, ± Auerjeve palčke, Mo<1x10 ⁹ /l	Displazija 1≥ vrst, bl 5–9 %, ni Auerjevih palčk
Refraktarna anemija s pribitkom blastov -2	Citopenija/e, bl 5–19 %, ± Auerjeve palčke, Mo<1x10 ⁹ /l	Displazija 1≥ vrst, bl 10–19 %, ± Auerjeve palčke
Nerazvrščen MDS	Citopenija, bl<1 %	Displazija <10 % celic ene/več vrst in značilne citogenetske spremembe, bl<5 %
MDS z delecijo 5q	Anemija, št. trombocitov normalno ali zvečano, bl<1 %	Število megakariocitov normalno ali zvečano s hipolobuliranimi jedri, bl<5 %, del(5q), ni Auerjevih palčk

Tabela 2. Citogenetska razvrstitev v novem sistemu R-IPSS (Revised International Prognostic Scoring System).

Ocena napovedi poteka bolezni glede na citogenetične spremembe				
Odlična	Dobra	Srednja	Slaba	Zelo slaba
Posamezne spremembe: del(11q) -Y	Normalen kariotip	Posamezne spremembe: del(7q) +8 i(17q) +19 vse ostale neodvisni kloni	Enojne: del(3q) -7 inv(3)/t(3q)/ del(3q)	Kompleksne >3 spremembe
	Posamezne spremembe: del(5q) del(12p) del(20q)	Dve spremembi: katerikoli dve spremembi	Dve spremembi: vključujoč 7/7q-	
	Dve spremembi: v kombinaciji z del(5q)		Tri spremembe	

Ugotovili so, da je bil prvotni napovedni sistem v nekaterih pogledih nedosleden do napovedne vrednosti citogenetskih sprememb. V njem so zajeli zelo majhno število bolnikov s citogenetskimi spremembami, niso poznali pomena redkih citogenetskih nenormalnosti, intermediarni kariotip so določali na podlagi izključevanja, dvojne citogenetske nenormalnosti niso bile zajete, podskupine bolnikov s kompleksnim kariotipom niso bile ustrezno razdelane in – ne nazadnje – model je dal relativno manjšo težo citogenetskimi spremembam s slabo prognozo v primerjavi s številom blastov v kostnem mozgu. Vse pomanjkljivosti so upoštevali pri izdelavi novega modela napovedovanja MDS – R-IPSS (Tabela 3) (5).

Tabela 3. Prenovljeni mednarodni sistem za napovedovanje MDS.
Hb –hemoglobin, Ng – nevtrofilni granulociti, Tr – trombociti.

Št. točk	0	0,5	1	1,5	2	3	4
Kariotip	Odličen		Dober		Srednji	Slab	Zelo slab
Blasti (%)	≤2		>2–<5%		5–10%	>10%	
Hb (g/l)	>100		80–<100	<80			
Ng (x10 ⁹ /l)	≥0,8	<0,8					
Tr (x10 ⁹ /l)	≥100	50–<100	<50				

Št. točk	Tveganje	Mediana preživetja (leta)
≤1,5	Zelo majhno	8,8
>1,5–3	Majhno	5,3
>3–4,5	Srednje	3,0
>4,5–6	Veliko	1,6
>6	Zelo veliko	0,8

Pretočna citometrija pri mielodisplastičnih sindromih

Mednarodna skupina za pretočno citometrijo pri MDS je določila metode obdelave vzorcev kostnega mozga bolnikov in minimalni nabor protiteles za pretočno citometrijo pri MDS. Metoda je pokazala veliko specifičnost pri bolnikih, pri katerih z morfološko preiskavo ne dobimo jasnega izvida, ki bi kazal na MDS s presežkom blastov, prstanastimi sideroblasti ali drugimi kromosomskimi spremembami. V teh primerih sicer uporabljamo diagnozo *citopenija nedoločenega pomena*, s pretočno citometrijo pa lahko natančneje določimo imunofenotipske spremembe mieloične in monocitne vrste (6). Metoda zaenkrat še ni v rutinski uporabi.

MOLEKULARNOGENETSKE PREISKAVE PRI MIELODISPLASTIČNIH SINDROMIH

Z razvojem citogenetskih preiskav lahko pri MDS ugotavljamo točkovne kromosomske spremembe, ki jih s standardno citogenetiko ne moremo zaznati. Iz tega razloga ta metoda pridobiva klinično uporabnost. Pridobljene somatske mutacije so ugotovili v številnih genih, npr. TET2, ASXL1, RUNX1, TP53, EZH2, CBL in ETV6. Večina naštetih mutacij je bila odkrita pri različnih boleznih mieloične vrste in niso specifične za MDS. Ne glede na to pa so v poročilih ugotovili, da ima kar 52 % bolnikov z normalno citogenetiko vsaj eno točkovno mutacijo (7). Gledano na celo populacijo bolnikov z MDS pa lahko delež, ki ima točkovne mutacije, dosega celo 74 % (8). Molekularnogenetske preiskave zaenkrat niso standardna metoda v klinični praksi, v prihodnosti pa bodo zelo verjetno igrale pomembno vlogo pri ugotavljanju in napovedovanju poteka MDS.

ZDRAVLJENJE BOLNIKOV Z MIELODISPLASTIČNIM SINDROMOM

Spremljanje stanja bolnikov brez težav

S spremljanjem večjega števila bolnikov z MDS so ugotovili, da imajo tisti s stabilno refraktarno anemijo ali izolirano delecijo 5q podobno preživetje kot splošna populacija v istem starostnem obdobju. Pri taki skupini bolnikov je zato pozorno spremljanje bolezni eden od načinov, kako pristopiti k zdravljenju MDS.

Zdravljenje z ravnimi dejavniki

Anemijo, nevtropenijo in trombocitopenijo imajo v različnih kombinacijah in stopnjah skoraj vsi bolniki z MDS. Njihove posledice lahko zmanjšujemo s transfuzijami in epoetini za izboljšanje oksiformne kapacitete krvi, z antibiotiki in G-CSF za zdravljenje in preprečevanje okužb ter trombocitnimi pripravki, analogi trombopoetina in antifibrinolitiki za zmanjšanje krvavitev.

Simptomatska anemija je najpogostejši problem pri bolnikih z MDS. Pri malo ogroženi skupini namesto transfuzij uporabljamo epoetine ker pospešujejo razraščanje rdeče vrste v kostnem mozgu. Poznamo epoetin alfa, epoetin beta in dolgo delujoči darbepoetin. Mediana odziva znaša dve leti, bolniki pa imajo boljše preživetje kot z zdravljenjem s transfuzijami eritrocitov. Zdravljenje običajno začnemo pri vrednosti hemoglobina < 100 g/l, ciljni hemoglobin je < 120 g/l. Začetni odmerek epoetina znaša 40.000 U/teden, najpogostejši vzdrževalni odmerek pa je 30.000 U/teden. Pri darbepoetinu začnemo zdravljenje z odmerkom 300 µg/2 tedna, maksimalni odmerek

znaša 300 µg/teden. Če je zdravljenje z epoetinom neuspešno, lahko po 2–3 mesecih dodamo v zdravljenje G-CSF. S tem pri nekaterih bolnikih dosežemo sinergistično delovanje obeh citokinov in dodaten odziv. Začetni odmerki G-CSF je 3 x 300 µg/teden (9, 10).

V zadnjem obdobju imamo na voljo zdravila, ki vplivajo na trombopoezo in so registrirana za zdravljenje drugih bolezni. Pri MDS poteka več raziskav z romiplostinom in eltrombopagom. Rezultati so spodbudni in pričakujemo uporabo teh zdravil v vsakdanji praksi.

Zdravljenje s transfuzijami eritrocitov in kelacija železa

Bolniki z MDS, ki dobijo anemijo in zato potrebo po transfuzijskem zdravljenju, imajo slabšo prognozo. Vrednosti hemoglobina pod 90 g/L pri moških in pod 80 g/L pri ženskah slabšajo preživetje bolnikov (11). Bolniki ob vsaki transfuziji prejmejo 200–300 mg železa. Preobremenitev z njim se tako lahko pojavi že po 20–25 transfuzijah. Razvije se lahko sekundarna hemokromatoza s prizadetostjo več organov: srca, jeter, hipofize. Zvečane vrednosti feritina v serumu so tako dokazano povezane s slabšim preživetjem (12), manjšajo pa tudi uspešnost alogenske PKMC. Danes zato pri bolnikih, ki so rezistentni na zdravljenje z epoetini, in imajo vrednost feritina nad 1.000, oziroma so že prejeli 20–25 transfuzij, lahko izvajamo kelacijo z deferasiroksom. Deferasiroks uspešno zniža koncentracijo feritina v serumu ter obremenitev telesa z železom (13).

Azacitidin

Azacitidin je bilo prvo in zaenkrat edino zdravilo, ki se je izkazalo učinkovito pri MDS z majhnim in velikim tveganjem. Zdravilo so v zgodnjih raziskavah primerjali s podpornim zdravljenjem v odmerku 75 mg/m² s.c. 7 dni vsakih 28 dni. Pri 48 % bolnikov, zdravljenih z azacitidinom, so dosegli odziv na zdravljenje; le-ta je bil le 5-odstoten pri bolnikih s podpornim zdravljenjem. Azacitidin je tudi podaljšal čas do prehoda v AML, ublažil simptome utrujenosti in izboljšal kakovost življenja (14). Po novejših raziskavah se mediana preživetja bolnikov podaljša za 9,5 mesecev, ob tem da so primerjali stanje bolnikov na azacitidinu tudi s stanjem bolnikov, zdravljenih s citostatiki (15). Odziv med zdravljenjem lahko pričakujemo šele po štirih mesecih, pri nekaterih bolnikih pa tudi po šestih mesecih in kasneje. Novejša spoznanja so, da se pri skoraj polovici bolnikov odziv izboljša pri nadaljevanju zdravljenja z azacitidinom tudi do 12 mesecev in več. Zdravljenje je zato smiselno nadaljevati, dokler je opazen napredek (16). Neželeni učinki so blagi, zato je azacitidin še posebej primeren za zdravljenje starejših bolnikov, kjer smo sicer omejeni pri izbiri učinkovitega citostatskega zdravljenja.

V zadnjem obdobju je bilo objavljenih tudi več poročil o raziskavah zdravljenja MDS z decitabinom. Zaenkrat zdravilo ni registrirano za to bolezen. Združenje *European LeukemiaNet* (ELN) tudi priporoča azacitidin vsem bolnikom, ki niso primerni za intenzivno kemoterapijo ali presaditev KMC.

Lenalidomid

Od leta 2013 imamo v Sloveniji registriran lenalidomid za zdravljenje MDS z malim in srednjim-1 tveganjem s sočasno delecijo 5q. Zdravilo so registrirali na podlagi preskušanj raziskave faze 3. Primerjali so odmerka lenalidomid 10 mg in 5 mg proti placebu pri bolnikih, ki so bili transfuzijsko odvisni. Po 26. tednih spremljanja so v skupini z odmerkom 10 mg ugotovili neodvisnost od transfuzij pri 56,1 % bolnikov in citogenetski odziv pri 50 % bolnikov. V drugi skupini bolnikov, zdravljenih z odmerkom 5 mg, je bil odziv z neodvisnostjo od transfuzij v 42,6 % in citogenetski odziv pri 45 %. Najpogostejši zapleti pri bolnikih so bili nevtropenija (do 75,4 %), trombocitopenija (do 40,6 %) in venska tromboza (do 5,8 %). Za premostitev nevtropenije so bolniki prehodno potrebovali zdravljenje z G-CSF. V skupini na lenalidomidu MDS ni prešel v akutno levkemijo nič pogostejše kot v skupini na placebu (17).

Lenalidomid so preskusili tudi v skupini bolnikov z malim in srednjim-1 tveganjem brez delecije 5q. Bolnikom so dajali 10-mg odmerke, in sicer 21 dni s tedenskim premorom. Odziv na zdravljenje so zaznali pri 43 % bolnikov, 26 % je doseglo neodvisnost od transfuzije, 19 % pa je imelo citogenetski odziv. Opisano zdravljenje v tej skupini bolnikov sicer ni uradna indikacija za zdravljenje z lenalidomidom (18).

Imunosupresivno zdravljenje

Imunosupresivno zdravljenje je namenjeno bolnikom, mlajšim od 60 let, ki imajo manj kot 5-odstotno infiltracijo kostnega mozga z mieloblasti, normalno citogenetiko, so transfuzijsko odvisni in so bili poprej neuspešno zdravljeni z epoetinom. V eni od novejših raziskav faze 3 so tako primerjali zdravljenje z ATG in ciklosporinom s placebom. Odziv je bil pri pomembno večjem deležu bolnikov kot v skupini s placebom. Bolniki, ki so jih zdravili z ATG, so imeli več zapletov, kot so krvavitve, serumska bolezen, alergijski simptomi, kardiovaskularni zapleti, tromboze in okužbe. Bolniki s hipoplastičnim kostnim mozgom so imeli po šestih mesecih pomembnejše boljši odziv kot bolniki brez hipoplastičnega kostnega mozga (19).

Zdravljenje s citostatiki

S citostatiki zdravimo bolnike, ki so v dobrem telesnem stanju in so obenem mlajši od 65 let. Običajno imajo neugodno citogenetiko in

infiltracijo kostnega mozga z mieloblasti (RAPB). Napravljenih je bilo več raziskav z različnimi kombinacijami zdravil. Praviloma uporabljamo citozin arabinozid, v kombinaciji z antraciklinom, nukleozidnim analogom ali inhibitorjem topoizomeraze. Tako zdravljenje je indukcijsko in doseže popolno remisijo v 24–79 %. Relapse vidimo pri 33–91 % bolnikov, umrljivost med kemoterapijo pa je 2–42 %. Intenzivno zdravljenje je praviloma namenjeno tistim, ki so pred presaditvijo krvotvornih matičnih celic (20).

Alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic

Alogenska PKMC je edini način zdravljenja MDS, ki omogoči ozdravitev. Pri tem se moramo zavedati, da je postopek primeren za mlajše bolnike, da za polovico kandidatov ne najdemo ustreznega darovalca kostnega mozga, in da ima sam postopek veliko smrtnost. Najprimernejši za ta način zdravljenja so bolniki z velikim in srednjim-2 tveganjem. Dolgoročni uspeh ob ustrezni izbiri časa PKMC dosežemo pri 30–50 % bolnikov (21). Remisijo je mogoče doseči na dva načina: z že omenjenim intenzivnim zdravljenjem ali indukcijo z azacitidinom. Slednje zdravljenje zaenkrat ni standardno, je pa vsaj tako uspešno kot klasično s citostatiki (22).

Mieloablativno kondicioniranje napravimo pri mlajših bolnikih, pri starejših in s pridruženimi boleznimi pa uporabljamo nemieloablativno kondicioniranje. Zmanjša se smrtnost, povezana s samo PKMC, po drugi strani pa je delež bolnikov s ponovitvijo bolezni večji.

ZAPLETI IN NEŽELENI POJAVI PRI ZDRAVLJENJU BOLNIKOV Z MIELODISPLASTIČNIM SINDROMOM

Najhujši zaplet zdravljenja je okužba pri hudi nevtropeniji. Vsi bolniki morajo poznati znake možne sistemske okužbe: ko imajo telesno temperaturo višjo od 38 °C več kot 4 ure ali ko jim poraste nad 38,5 °C, morajo obiskati zdravnika. Bolnike s hudo nevtropenijo in s sistemsko okužbo zdravimo v bolnišnici. Predpisujemo protibakterijska in protiglivična zdravila.

ZAKLJUČEK

Mielodisplastični sindromi so heterogene bolezni, katerih skupna lastnost je neučinkovito nastajanje celic v kostnem mozgu. Ključni za diagnozo in napoved poteka so izvidi citološkega pregleda kostnega mozga in citogenetskih preiskav. Zdravljenje je največkrat usmerjeno v popraviljanje citopenije, in sicer z ravnim dejavnikom. Pri neugodnem poteku je na voljo zdravljenje z azacitidinom. Če možnosti dopuščajo, zdravimo s citostatiki in presaditvijo

krvotvornih matičnih celic. Slednji način zdravljenja je edini, ki bolnika lahko pozdravi.

LITERATURA

1. Kantarjian HM, Keating MJ, Walters RS, Smith TL, Cork A, McCredie KB, et al. Therapy-related leukemia and myelodysplastic syndrome: clinical, cytogenetic, and prognostic features. *J Clin Oncol* 1986; 4: 1748–57.
2. Mlakar U. Smernice za odkrivanje in zdravljenje mielodisplastičnih sindromov pri odraslih. *Zdrav Vestn* 2010; 79: 455–64.
3. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114: 937–51.
4. Schanz J, Tüchler H, Solé F, Mallo M, Luño E, Cervera J, Granada I, et al. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *J Clin Oncol* 2012; 30: 820–9.
5. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012; 120: 2454–65.
6. Porwit A, van de Loosdrecht AA, Bettelheim P, Brodersen LE, Burbury K, Cremers E, et al. Revisiting guidelines for integration of flow cytometry results in the WHO classification of myelodysplastic syndromes-proposal from the International LeukemiaNet working group for flow cytometry in MDS. *Leukemia* 2014. doi: 10.1038/leu.2014.191. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24919805.
7. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, Galili N, Nilsson B, Garcia-Manero G, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2011; 364: 2496–506.
8. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, et al; Chronic myeloid disorders working group of the International cancer genome consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2013; 122: 3616–27.
9. Hellstrom-Lindberg E, Gulbrandsen N, Lindberg G, Ahlgren T, Dahl IM, Dybedal I, et al. A validated decision model for treating the anaemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin + granulocyte colonystimulating factor: significant effects on quality of life. *Br J Haematol* 2003; 120: 1037–46.
10. Park S, Grabar S, Kelaidi C, Beyne-Rauzy O, Picard F, Bardet V, et al. Predictive factors of response and survival in myelodysplastic syndrome treated with erythropoietin and G-CSF: the GFM experience. *Blood* 2008; 111: 574–82.
11. Malcovati L, Della Porta MG, Strupp C, Ambaglio I, Kuendgen A, Nachtkamp K, et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). *Haematologica* 2011; 96: 1433–40.
12. Malcovati L, Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, Boni M, Travaglini E, et al. Prognostic factors and life expectancy in myelodysplastic syndromes classified according to WHO criteria: a basis for clinical decision making. *J Clin Oncol* 2005; 23 (30): 7594–603.
13. Cappellini MD, Porter J, El-Beshlawy A, Li CK, Seymour JF, Elalfy M, et al; EPIC Study investigators. Tailoring iron chelation by iron intake and serum ferritin: the prospective EPIC study of deferasirox in 1744 patients with transfusion-dependent anemias. *Haematologica* 2010; 95: 557–66.

14. Silverman LR, McKenzie DR, Peterson BL, Holland JF, Backstrom JT, Beach CL, et al. Further analysis of trials with azacitidine in patients with myelodysplastic syndrome: studies 8421, 8921, and 9221 by the Cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol* 2006; 20: 3895–903.
15. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009; 10 : 223–32.
16. Lewis RS, Fenaux P, Mufti GJ, Santini V, Hellström-Lindberg E, Gattermann N, et al. Continued azacitidine therapy beyond time of first response improves quality of response in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 2011; 117: 2697–702.
17. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, Beyne-Rauzy O, Mufti G, Mittelman M, et al; MDS-004 lenalidomide del5q study group. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood* 2011; 118: 3765–76.
18. Raza A, Reeves JA, Feldman EJ, Dewald GW, Bennett JM, Deeg HJ, et al. Phase 2 study of lenalidomide in transfusion-dependent, low-risk, and intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes with karyotypes other than deletion 5q. *Blood* 2008; 111: 86–93.
19. Passweg JR, Giagounidis AA, Simcock M, Aul C, Dobbelsstein C, Stadler M, et al. Immunosuppressive therapy for patients with myelodysplastic syndrome: a prospective randomized multicenter phase III trial comparing antithymocyte globulin plus cyclosporine with best supportive care-SAKK 33/99. *J Clin Oncol* 2011; 29: 303–9.
20. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, Adès L, Cermak J, Del Cañizo C, et al; European leukemia net. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood* 2013; 122: 2943–64.
21. Oran B, Popat U, Andersson B, Champlin R. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelodysplastic syndromes. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2013; Suppl 2: S282–8.
22. Damaj G, Duhamel A, Robin M, Beguin Y, Michallet M, Mohty M, et al. Impact of azacitidine before allogeneic stem-cell transplantation for myelodysplastic syndromes: a study by the Société Française de greffe de moelle et de thérapie-cellulaire et groupe-franco-phone des myélodysplasies. *J Clin Oncol* 2012; 30: 4533–40.

NEZRELI LIMFOMI IN AKUTNE LEVKEMIJE CELIC B IN T

Matevž Škerget, Jožef Pretnar

Povzetek. Maligne ne-Hodgkinove limfome delimo glede na fenotip celic na B, T in limfome celic naravnih ubijalk. Glede na stopnjo diferenciacije pa jih razdelimo na nezrele (prekurzorske) in zrele. Nezrele novotvorbe B- in T-celične vrste se kažejo bodisi kot maligni limfomi ali kot akutne limfoblastne levkemije. Za opredelitev je poleg rutinskih slikovnih hematoloških in pato-morfoloških preiskav treba opraviti imunološke, citogenetske in molekularnogenetske preiskave. Izsledki preiskav niso pomembni samo za točno diagnozo, ampak imajo tudi napovedni pomen. Nezrele ne-Hodgkinove limfome in limfoblastne levkemije zdravimo z istimi kombinacijami različnih citostatikov. Indukcijskemu sledi intenzivno konsolidacijsko in zatem še vzdrževalno zdravljenje. Kljub napredku so uspehi zdravljenja še vedno bistveno slabši kot pri otroških limfoblastnih levkemijah, zato je smiselno zdravljenje intenzivirati z alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic, če ima bolnik ustreznega darovalca.

UVOD

Maligni ne-Hodgkinovi limfomi (NHL) so klonske bolezni, ki so posledica maligne transformacije celic limfatične vrste B, T ali celic naravnih ubijalk (*natural killers*, celice NK). Glede na stopnjo diferenciacije jih razdelimo na prekurzorske (nezrele) in na zrele NHL (Klasifikacija *Svetovne zdravstvene organizacije*, SZO). Prekurzorski NHL in akutne limfoblastne levkemije so načeloma ena bolezen, le z različno začetno klinično sliko. Prognoza in načini zdravljenja so enaki, zato govorimo o prekurzorskem B- oziroma T-limfoblastnem limfomu/levkemiji. Pri levkemijah gre za predominantno levkemično sliko z infiltracijo kostnega mozga z več kot 25 % blastnih celic. Pri limfomu pa je v ospredju limfomska slika, z manj kot 25 % blastov v kostnem mozgu (1).

LIMFOBLASTNI LIMFOMI/LEVKEMIJE B – LBL in B-ALL

Epidemiologija LBL in B-ALL

Primeri prekurzorskih novotvorb vrste B obsegajo okrog 2 % vseh primerov limfatičnih novotvorb. Najpogostejše se pojavljajo v otroštvu, zlasti akutna limfoblastna levkemija (ALL), ki je sploh najpogostejša maligna bolezen pri otrocih. Pojavljajo pa se tudi pri odraslih, mediana starosti ob odkritju bolezni je okrog 40 let. Nekoliko pogostejše zbole vajo moški. Incidenca je 1–4 na 100.000 prebivalcev (2).

Klinična slika LBL in B-ALL

Pri ALL je v ospredju levkemična slika z znaki odpovedi kostnega mozga s slabokrvnostjo, krvavitvami zaradi trombocitopenije in okužbami zaradi nevtropenije. Pogosto pri pregledu ugotovimo tudi prizadetost ekstramedularnih tkiv in organov (bezgavke, jetra, vranica, osrednje živčevje, moda). Pri limfoblastnem limfomu (LBL) je v ospredju prizadetost bezgavk, kože, mehkih tkiv in kosti. Obsežni mediastinalni tumorji so redkejši.

V krvni sliki pri ALL praviloma ugotovimo anemijo in trombocitopenijo. Število levkocitov je običajno zvečano na račun blastnih celic, lahko pa je v začetnem obdobju tudi normalno ali celo zmanjšano. V kostnem mozgu je pri ALL več kot 25 % limfoblastov. Pri LBL je običajno krvna slika normalna. Kostni mozeg ni infiltriran, oziroma vsebuje do 25 % limfoblastov (1).

Diagnostika LBL in B-ALL

Poleg rutinskih citoloških in histoloških preiskav krvi, kostnega mozga, prizadetih organov oziroma tkiv, pri ALL in LBL vedno opravimo imunološke, citogenetske in molekularnogenetske preiskave. Poleg za diagnozo so predvsem izvidi citogenetskih in molekularnogenetskih preiskav pomembni tudi za prognozo in način zdravljenja (1).

Imunofenotipizacija

Z imunofenotipizacijo ugotovimo, ali so na membrani in v citoplazmi malignih celic specifični antigeni za B-celično vrsto. Za B-limfoblaste je značilna pozitivna reakcija za membranski antigen CD 19 in citoplazemska antigena CD 79a in CD22.

Večinoma so pozitivni za antigene CD10, CD22, CD24 in TdT (terminalna deoksinukleotidil transferaza). Glede na antigene, ki so odsev zrelosti blastnih celic, lahko limfoblastne levkemije razdelimo v tri podvrste. Pri zgodnji prekurzorski (pro-B) ALL je pozitivna le reakcija na CD19, CD79a, CD22 in jedrno TdT. Pri tako imenovani intermediarni ali obči obliki (*common ALL*) je pozitivna reakcija za CD10. Pri zreli prekurzorski ALL (*pre-B ALL*) ugotovimo citoplazemske težke verige μ (3).

Citogenetske in molekularnogenetske preiskave

S citogenetskimi preiskavami (klasična analiza proganih kromosomov in fluorescenčna hibridizacija *in situ* – FISH) potrdimo morebitne kromosomske spremembe v levkemičnih celicah. Z molekularnogenetskimi preiskavami pa potrdimo mutacije na posameznih genih. Nekatere citogenetske spremembe definirajo specifične entitete s fenotipskimi in prognostičnimi poseb-

nostmi in jih po klasifikaciji SZO uvrščamo v posebno skupino. V to skupino uvrščamo ALL/LBL s translokacijo gena BCR na kromosomu 22 in gena ABL1 na kromosomu 9, s katero nastane tako imenovani kromosom Philadelphia. Translokacija t(9;22) pomeni slabšo prognozo. Preživetje izboljša vključitev inhibitorjev tirozinske kinaze (imatinib, nilotinib, dasatinib) v shemo običajnega zdravljenja. Poleg te kromosomske spremembe se v to skupino uvrščajo še ALL/LBL s preureditvami gena MLL, translokacijo t(12;21), hiperin hipodiploidnim kariotipom, translokacijo t(5;14) in translokacijo t(1;19) (3). Pri odraslih najpogostejša in klinično najpomembnejša citogenetska sprememba je t(9;22), medtem ko podobno pogosto (približno četrтина bolnikov) pri otrocih najdemo napovedno ugodno translokacijo t(12;21) in hiperdiploidni kariotip.

Zdravljenje LBL in B-ALL

Bolnike z ALL in LBL zdravimo s kemoterapijo, ki vključuje različne citostatike, najpogostejše s kombinacijami, ki vključujejo daunorubicin, citozinarabinozid, vinkristin, ciklofosamid, visoke odmerke metotrexata in encim L-asparaginazo. Indukcijskemu zdravljenju sledi intenzivno konsolidacijsko zdravljenje in zatem vzdrževalno zdravljenje, ki traja do dve leti. Pri bolnikih s translokacijo t(9;22) vključimo v zdravljenje tudi enega od inhibitorjev tirozinske kinaze. Zaradi pogostostih relapsov bolezni v osrednjem živčevju nudimo bolnikom profilaktično zdravljenje levkemije osrednjega živčevja z obsevanjem in intratekalno aplikacijo citostatikov. V Sloveniji je zdravljenje ALL centralizirano in ga pri odraslih opravljamo na Kliničnem oddelku za hematologijo UKC Ljubljana. Trenutno uporabljamo protokol UK ALL XII (4). Zdravljenje LBL je prav tako centralizirano in ga pri odraslih izvajajo na Onkološkem inštitutu Ljubljana. Uporabljajo podobno shemo s kombinacijo citostatikov po nemškem protokolu BFM (5). Z intenzivnim citostatskim zdravljenjem dosežemo remisijo pri okrog 80–90 % bolnikov. Po doseženi remisiji nadaljujemo s konsolidacijskim in vzdrževalnim zdravljenjem, da poskusimo preprečiti zgodnjo ponovitev bolezni. Kljub temu se pri večini bolnikov bolezen ponovi, tako da dosežemo dolgo preživetje le pri 20–30 % bolnikov.

Ker je prognoza pri konvencionalnem zdravljenju s kemoterapijo slaba, bolnikom, ki izpolnjujejo pogoje in imajo ustreznega darovalca krvotvornih matičnih celic, opravimo še alogensko presaditev. Drugače kot pri zrelih limfomih avtologna presaditev krvotvornih matičnih celic pri nezrelih nima pomembnejše vloge (6).

LIMFOBLASTNI LIMFOMI/LEVKEMIJE T (T-LBL in T-ALL)

Epidemiologija T-LBL in T-ALL

Prekurzorske T-ALL so redkejšje kot B-ALL in obsegajo le okrog 15 % vseh primerov otroških ALL in okrog 25 % vseh primerov ALL pri odraslih. Najpogostejša je v adolescenci. Pogostejša je pri moških. Pri T-LBL pa je ravno obratno: 85–90 % primerov LBL namreč pripada T-celični vrsti. Tako kot pri T-ALL so tudi T-LBL najpogostejši v adolescenci in pogosteje zbole vajo moški (2).

Klinična slika T-LBL in T-ALL

Pri T-ALL je v ospredju levkemična slika, običajno brez izrazitih znakov odpovedi kostnega mozga. Pogosto pri pregledu ugotovimo tudi prizadetost ekstramedularnih tkiv in organov (bezgavke, jetra, vranica, osrednje živčevje, testisi). Zelo pogosto ugotovimo izrazito tumorsko zvečan mediastinum zaradi infiltracije timusa. Pri T-LBL je v ospredju zvečan tumor v mediastinumu, pogosto s sočasno plevralnim izlivom. Zvečane so lahko tudi bezgavke v ostalih ložah, nebnice, jetra, vranica, osrednje živčevje in pri moških tudi moda. Mediastinalni tumor lahko raste zelo hitro in moti vtok krvi v srce (sindrom zgornje vene kave) (7).

Število levkocitov je pri T-ALL praviloma močno zvečano na račun blastnih celic, ob tem pa večkrat ne ugotavljamo izrazitejše anemije, trombocitopenije in nevtropenije. V kostnem mozgu je pri ALL več kot 25 % limfoblastov. Pri LBL je običajno krvna slika normalna. Kostni mozeg ni infiltriran in vsebuje do 25 % limfoblastov.

Diagnostika T-LBL in T-ALL

Morfološko T-limfoblastov ne moremo razlikovati od B limfoblastov. To je mogoče le z imunološkimi preiskavami, ki jih zato vedno opravimo. Napovedna vloga in vpliv na izbiro zdravljenja citogenetskih in molekularnogenetskih preiskav sta bistveno manjša pri T-celični kot pri B-celični vrsti.

Imunofenotipizacija

Z imunofenotipizacijo ugotovimo, ali so na membrani in v citoplazmi malignih celic specifični antigeni za T-celično vrsto. Za T-limfoblaste je značilna pozitivna reakcija za membranski antigen CD7 in citoplazemski antigen CD3. Večinoma so pozitivni tudi za antigene CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD8 in TdT. Glede na dokazane antigene, ki so odsev zrelosti blastnih celic, lahko T-ALL delimo v pro-T (pozitivna reakcija na citoplazemski CD3

in CD7 in slabo pozitivna reakcija na CD34), pre-T (pozitivna reakcija na citoplazemski CD3, CD7, CD2, in slabo pozitivna reakcija na CD34), kortikalne (pozitivna reakcija na citoplazemski CD3, CD7, CD2, CD1a in negativna reakcija na CD34) ter medularno ALL (pozitivna reakcija na citoplazemski CD3, CD7, CD2, membranski CD3 in negativna reakcija na CD34). V zelo redkih primerih na T-limfoblastih najdemo antigene, značilne za celice NK (CD16, CD57) (3).

Citogenetske in molekularnogenetske preiskave

Kromosomske spremembe ugotovimo kar pri 50–70 % vseh T-ALL/LBL. Ne glede na relativno pogostost preureditev pa imajo le-te pri T-ALL bistveno manjši napovedni pomen in neposredno ne vplivajo na natančnost diagnoze kot pri B-ALL. Večina sprememb je na 14. in 7. kromosomu, kjer so geni za T-celične receptorje. Delecija na kromosomu 9 – del(9p) ima za posledico izgubo tumore supresorskega gena CDKN2A s posledično izgubo nadzora nad celičnim ciklusom. Tudi nekatere druge spremembe – na primer translokacija t(7;9) z mutiranim genom NOTCH 1 – imajo prognostičen pomen (3).

Zdravljenje T-ABL in T-ALL

T-ALL/LBL zdravimo s kemoterapijo, tako kot B-celično ALL/LBL. Na KO za hematologijo uporabljamo identični protokol UK-ALL XII. V nekaterih centrih uporabljajo za T-ALL/LBL nekoliko spremenjene protokole. Na splošno je učinkovitost zdravljenja pri T-ALL/LBL slabša kot pri B-celičnih. Pogostejša je primarna rezistenca, zgodnja ponovitev bolezni in prizadetost osrednjega živčevja. Pri bolnikih, ki izpolnjujejo pogoje in imajo ustreznega darovalca krvotvornih matičnih celic, prihaja v poštev alogenska presaditev (6).

ZAKLJUČEK

Prekurzorske B- in T-celične novotvorbe so redke novotvorbe limfatičnega sistema, z izjemo B-ALL pri otrocih. Sodobna klasifikacija temelji predvsem na imunoloških, citogenetskih in molekularnogenetskih spoznanjih. Intenzivno zdravljenje s kombinacijo več citostatikov ob dobri podpori s transfuzijo krvnih komponent in učinkovitim antibiotičnim zdravljenjem je v zadnjem desetletju bistveno izboljšalo delež remisij tudi pri odraslih bolnikih. Še vedno pa se pri večini odraslih bolezni ponovi, tako da so dolgoročni uspehi zdravljenja še vedno slabši kot pri otrocih. Z alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic izboljšamo dolgoročne rezultate zdravljenja.

LITERATURA

1. Borowitz MJ, Chan JKC. Precursor lymphoid neoplasms. In: Swerdlow, Campo E, Harris NL et al, editors: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th ed. Lyon; International agency for research on cancer 2008: 166–78.
2. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Botteman MF, Pashos CL. A systematic literature review of the clinical and epidemiological burden of acute lymphoblastic leukemia. *Eur Cancer Care* 2005; 14: 53–62.
3. Zver S. Akutna limfatična levkemija. In: Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Koželj M, Černelč P, editors. *Interna medicina*. 4th ed. Ljubljana: Littera picta, 2011: 1305–8.
4. Rowe JM, Buck G, Burnett AK, Chopra R, Wiernik PH, Richards SM, et al. Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of more than 1500 patients from the international ALL trial: MRC UKALL XII/ECOG E2993. *Blood* 2005; 12: 3760–7.
5. Chang JE, Medlin SC, Kahl BS, Longo WL, Williams EC, Lionberger J, et al. Augmented and standard Berlin-Frankfurt-Münster chemotherapy for treatment of adult ALL. *Leuk Lymphoma* 2008; 49: 2298–307.
6. Mohty M. Indications for HSCT in adults – Acute lymphoblastic leukaemia. In: Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T eds. *Haematopoietic stem cell transplantation. The EBMT handbook*, 6th ed; Paris 2012: 330–41.
7. Jezeršek Novaković B. Maligni limfomi. In: Novaković S, Hočevan M, Jezeršek Novaković B, Strojman P, Žgajnar J, editors. *Onkologija*. Ljubljana: Mladinska knjiga, 2009: 374–81.

ZRELI LIMFOMI CELIC B, T IN NK

Barbara Jezeršek-Novaković

Povzetek. Maligni limfomi so heterogena skupina novotvorb, ki nastanejo zaradi nenadzorovanega razraščanja celic limfatičnega tkiva. So klonske bolezni, ki nastanejo z maligno preobrazbo ene celice limfatične vrste – B, T ali naravnih celic ubijalk (NK). Vzroki za nastanek limfomov ostajajo pri večini oblik neznani, vendar pri nekaterih podtipih obstaja vzročna povezava z virusnimi ali bakterijskimi okužbami. Pogosteje se pojavljajo pri bolnikih s pomanjkljivo imunsko odzivnostjo in pri nekaterih poklicih v kmetijstvu, morda zaradi večje izpostavljenosti pesticidom.

Klasifikacija *Svetovne zdravstvene organizacije* (SZO) malignome limfatičnega tkiva zdeli na limfome celic B, limfome celic T/NK ter Hodgkinove limfome, limfome celic B in limfome celic T/NK pa naprej na nezrele in zrele (periferne) limfome.

Klinična slika je lahko povsem neznačilna in spominja na okužbe. Največkrat so prvi znak zvečane obodne bezgavke. Zvečajo se lahko tudi bezgavke v medpljučju ali trebušne bezgavke. Možna je prizadetost nelimfatičnih organov. Tip limfoma opredelimo s histološko preiskavo bezgavke oziroma vzorca zbolelega organa. Sicer diagnostični postopek vključuje krvne preiskave, slikovno diagnostiko, citološke in histološke preiskave bezgavk, vzorcev kostnega mozga ali drugih tkiv in pregled pri otologu.

Večino bolnikov z zreliimi limfomi prej ali slej v poteku bolezni zdravimo z obema osnovnima metodama zdravljenja – t.j. s sistemsko terapijo (citostatsko terapijo in/ali biološko/tarčno terapijo) in obsevanjem z ionizirajočimi žarki. Pri sodobnem citostatskem zdravljenju bolnik običajno prejema kombinacije citostatikov po določenih shemah v točno določenem časovnem zaporedju (krogi citostatske terapije). Zadnja leta se pri obravnavanju bolnikov z indolentnimi in agresivnimi limfomi vse bolj uveljavlja posebna oblika biološke terapije. To so monoklonska protitelesa, ki so sposobna vezave na značilne strukture na membranah celic limfomov B, nekatera pa tudi celičnih membranah limfomov T. Obsevanje z ionizirajočimi žarki postaja na področju limfomov vse bolj dopolnilno zdravljenje po zaključenem sistemskem zdravljenju. Kot edina oblika zdravljenja ostaja samo v primerih lokaliziranih indolentnih limfomov. Stanje bolnikov z agresivnimi limfomi, ki so po zaključenem zdravljenju v popolni remisiji, skrbno sledimo zaradi morebitne ponovitve bolezni pa tudi zaradi pravočasnega odkrivanja drugega malignoma. Verjetnost ponovitve bolezni je največja v prvih dveh letih po zaključenem zdravljenju. Razširjeni indolentni limfomi veljajo za neozdravljive s konvencionalnim zdravljenjem, zanje je značilen potek z vedno krajšimi obdobji remisij. Takšne bolnike spremljamo do njihove smrti.

UVOD

Maligni limfomi so heterogena skupina novotvorb, ki nastanejo zaradi nenadzorovanega razraščanja celic limfatičnega tkiva. So klonske bolezni in nastanejo z maligno transformacijo ene celice limfatične vrste B, T ali naravnih celic ubijalk (NK) (1).

ETIOLOGIJA

Vzroki za nastanek limfomov so pri večini oblik neznani. Pri nekaterih podtipih je znana vzročna povezava z virusnimi okužbami (virus Epstein-Barr

pri Burkittovem limfomu, humani T-limfocitotropni virus 1 pri limfomu T /levkemiji T odraslih, okužba s humanim herpesvirusom 8, virusom hepatitisa C), bakterijsko okužbo (*Helicobacter pylori* pri MALTomu želodca, *Campylobacter jejuni*, *Borrelia burgdorferi*), imunosupresijo (prirojena imunosupresija ali pridobljena npr. pri okužbi z virusom humane imunske pomanjkljivosti, imunosupresivna terapija po presaditvi organov), izpostavljenostjo pesticidom (2, 3).

Na molekularni ravni so pri nastanku limfomov pogoste kromosomske translokacije. Njihova posledica so največkrat združitve močnega promotorja (običajno za sintezo težkih verig imunoglobulinov) in strukturnih delov proto-onkogenov (npr. bcl-2, myc). Zaradi tega pride do nenadzorovane ekspresije transkripcijskih faktorjev, ki silijo celice v nadaljnje delitve (npr. translokacija t(8;14) pri Burkittovem limfomu) ali do nekontrolirane ekspresije zaviralcev apoptoze (npr. translokacija t(14;18) pri folikularnem limfomu). Mutacije tumorskih supresorskih genov so na področju limfomov redkejša, največkrat jih zasledimo pri transformaciji v agresivnejšo obliko limfoma. Najpogostejša je mutiran *p53*, redkeje ostali tumorski supresorski geni (*p16*, *p14*) (2–4).

KLASIFIKACIJA LIMFOMOV

Klasifikacija *Svetovne zdravstvene organizacije* (SZO) malignomov limfatičnega tkiva iz leta 2008 (Tabela 1) razvršča limfome glede na tip celic, ki prevladujejo v tumorju ter njihove fenotipske, molekularne in genetske značilnosti. Limfom se lahko razvije z treh tipov celic: B, T in NK. Malignome limfatičnega tkiva razdelimo na limfome celic B, limfome celic T/NK in Hodgkinove limfome. Limfome celic B in limfome celic T/NK klasifikacija naprej razdeli na nezrele in zrele (periferne) limfome (1).

KLINIČNA SLIKA

Simptomi zrelih limfomov so navadno nespecifični. Največkrat bolniki tožijo o izgubi apetita in telesne teže, o slabosti, občasno o bruhanju, nelagodju v trebuhu in prebavnih motnjah. Pogosto imajo nepojasnjeno vročino in se ponoči potijo. Lahko jih srbi koža, muči jih splošna utrujenost (2, 3, 5).

V večini primerov je prvi znak bolezni zvečanje obodnih bezgavk na vratu ali v nadključničnih kotanjah, v pazduhah ali dimljah. Na otip so bezgavke neboleče, čvrsto elastične in premakljive. Če so zvečane tudi bezgavke v mediastinumu, se to kaže kot oteženo dihanje, suh dražeč kašelj ali z motenim pretokom krvi v zgornji votli veni. Slednje se lahko izrazi z oteklino obraza, vratu, zgornjih okončin in na zgornjem delu prsnega koša ter z razširjenimi podkožnimi žilami na teh področjih.

Tabela 1. Klasifikacija malignomov limfatičnega tkiva Svetovne zdravstvene organizacije 2008.

Limfomi celic B

Nezreli limfomi B

- limfoblastni limfom B/levkemija B brez drugih oznak
- limfoblastni limfom B/levkemija B z rekurentnimi citogenetskimi anomalijami

Periferni limfomi B

- kronična limfatična levkemija B/drobnocelični limfocitni limfom
- prolimfocitna levkemija B
- limfoplazmatični limfom vključno z Waldenstromovo makroglobulinemijo
- bolezni težkih verig
- dlakastocelična levkemija
- splenični limfom B/levkemija B, neklasificiran
- ektranodalni limfom marginalne cone/MALTo
- splenični limfom marginalne cone
- nodalni limfom marginalne cone
- multipli mielom
- plazmacitom (solitarni in ekstraosalni)
- bolezni odlaganja monoklonskih imunoglobulinov
- osteosklerotični mielom (elementi sindroma POEMS)
- folikularni limfom (nizke in visoke stopnje malignosti)
- primarni kožni limfom folikularnih centrov
- limfom plaščnih celic
- difuzni velikocelični limfom B, brez drugih oznak
- velikocelični limfom B s presežkom limfocitov T
- plazmablasti limfom
- ALK-pozitivni velikocelični limfom B
- primarni difuzni velikocelični limfom B centralnega živčevja
- primarni kožni difuzni velikocelični limfom B noge
- EBV-pozitivni velikocelični limfom B starejših
- difuzni velikocelični limfom B povezan s kroničnim vnetjem
- primarni mediastinalni (timični) velikocelični limfom B
- intravaskularni velikocelični limfom B
- primarni efuzijski limfom
- velikocelični limfom B, tip limfoidne granulomatoze
- velikocelični limfom B, ki vznikne iz multicentrične Castelmanove bolezni
- neklasificirani limfom B, mejni primer med difuznim velikoceličnim limfomom B in Burkittovim limfomom
- neklasificirani limfom B, mejni primer med difuznim velikoceličnim limfomom B in klasičnim Hodgkinovim limfomom
- Burkittov limfom/levkemija

Nadaljevanje →

Limfomi celic T

Nezreli limfomi T

- limfoblasti limfom T/levkemija T
-

Zreli (periferni) limfomi T/NK

- Levkemični
 - prolimfocitna levkemija T
 - levkemija velikih granuliranih limfocitov T
 - kronične limfoproliferativne bolezni celic NK
 - agresivna levkemija celic NK
 - limfom T odraslih/levkemija T odraslih (HTLV-1 poz.)
 - Ekstranodalni
 - ekstranodalni limfom NK/T, nazalni
 - limfom T z enteropatijo
 - hepatosplenični gama delta-limfom T
 - primarni kožni gama delta limfom T
 - podkožni, panikulitisu podobni limfom T
 - fungoidna mukoza
 - Sezaryjev sindrom
 - primarne kožne CD30-pozitivne limfoproliferativne bolezni
 - primarni kožni anaplastični velikocelični limfom
 - limfoidna papulomatoza
 - primarni kožni periferni limfomi T, redki tipi
 - EBV-pozitivne T-celične limfoproliferativne bolezni otroške dobe
 - Nodalni
 - periferni limfom T, brez drugih oznak
 - angioimunoblastni limfom T
 - anaplastični velikocelični limfom T, ALK-pozitivni
 - anaplastični velikocelični limfom T, ALK-negativni
-

Hodgkinov limfom

- Nodularna oblika limfocitne predominance
 - Klasični Hodgkinov limfom
 - z limfociti bogati tip
 - mešanocelični tip
 - tip nodularne skleroze
 - tip limfocitne delecije
-

Če so prizadete bezgavke v trebuhu, lahko povzročijo bolečine, v hujših primerih celo motijo odtekanje seča iz ledvic in pomikanje blata v črevesju ali pa povzročijo otekanje spodnjih okončin. Razmeroma pogosto je bolezensko spremenjena vranica, redkeje so jetra. Bolnik bo ob tem tožil, da ima bolečine pod levim ali desnim rebrnim lokom, kjer si bo morda že sam otipal zvečan organ ali pa ga bo zdravnik. Redkeje so bolezensko spremenjena pljuča, kar se kaže kot težko dihanje in kašelj; ter drugi nelimfatični organi ali tkiva (ledvice, možgani, kosti, plevra, peritonej, perikard moda, jajčniki, ščitnica, koža...). Zreli limfomi pa lahko prizadenejo tudi mandlje, žrelo, obnosne votline, želodec, redkeje pa tanko ali debelo črevo. Prizadetost kostnega mozga povzroči le zvečanje števila levkocitov na račun limfomskih celic, ki krožijo po krvi, ali pa limfomske celice izpodrinejo zdrave celice v kostnem mozgu. To se kaže kot zmanjšanje števila nekaterih levkocitov, kot anemija in zmanjšanje števila trombocitov. Zaradi zmanjšanja števila levkocitov, predvsem granulocitov, v periferni krvi se razvije izrazita nagnjenost k okužbam; zaradi zmanjšanja števila trombocitov pa so bolniki nagnjeni h krvavitvam (2, 3, 5).

PRIMARNA DIAGNOSTIKA

Natančna anamneza in klinični pregled sta ključni začetni del diagnostike malignega limfoma. Pri kliničnem pregledu se osredotočimo predvsem na tipne obodne bezgavke, stanje prsnih organov, velikost jeter in vranice ter na morebitne druge tipne tumorje v trebuhu. Opravimo krvne preiskave, s katerimi ocenimo presnovno stanje bolnika pred začetkom zdravljenja. Kompletna krvna slika in diferencialna bela krvna slika sta nam v pomoč pri oceni prizadetosti kostnega mozga z limfomom. Določimo tudi hitrost sedimentacije eritrocitov, naredimo proteinogram in serološke preiskave za hepatitis B in C ter virus humane imunske pomanjkljivosti. Po potrebi opravimo imunofenotipizacijo limfocitov periferne krvi. Od slikovnih preiskav je treba narediti rentgenogram prsnih organov v dveh projekcijah ter obnosnih votlin. Ultrasonografsko preiščemo trebuh in po potrebi tudi periferne bezgavke. Preiskava izbire pa je računalniška tomografija vratu, prsnega koša in trebuha z medenico s kontrastom in brez. Dodatno pridejo v poštev izotopne preiskave glede na lokacijo in tip bolezni – predvsem pozitronska emisijska tomografija (2, 3, 5, 6).

Pregled pri otologu je potreben zaradi možne lokacije limfoma v žrelu, na mandljih, na jeziku in v obnosnih votlinah. Za endoskopske preiskave pa se odločamo po potrebi in glede na lokacijo bolezni (gastro-, entero-, kolonoskopija, epifaringoskopija, sinusoskopija, bronhoskopija, mediastinoskopija ter endoskopska ultrasonografija) (2, 3, 5, 6).

Na osnovi rezultatov opravljenih preiskav določimo razširjenost (stadij) bolezni po *klasifikaciji stadijev Ann Arbor* (2–6).

Citološke in histološke preiskave

S citološko preiskavo pregledujemo celice, ki jih dobimo z aspiracijsko biopsijo s tanko iglo in celice v telesnih tekočinah (izlivi, likvor, urin, kri, prekatna vodka, vsebina cist in psevodcist). Punktiramo predvsem zvečane bezgavke, lahko pa tudi druga tkiva (npr. zvečana mandlja, tumor v trebuhu ...) in kostni mozeg. S histološko preiskavo reprezentativnega vzorca tkiva (po pozitivnem citološkem izvidu) opredelimo tip limfoma. Potreben je pregled celotne odstranjene bezgavke oziroma reprezentativnega vzorca obolelega organa. Bezgavko odstrani kirurg, ostale vzorce pa dobimo z ultrasonografsko vodeno biopsijo ali z biopsijo pri endoskopskem pregledu, če kirurška biopsija ni izvedljiva. Rutinski postopek pri zamejitvi bolezni sta tudi aspiracija in biopsija kostnega mozga. Pri nekaterih podtipih limfomov opravimo tudi molekularnobiološke preiskave, kot npr. določanje tipičnih translokacij, delecij ali trisomij ... (1–3, 5, 6).

ZDRAVLJENJE

Po opravljenih preiskavah bolnika zdravimo glede na ugotovljeni tip bolezni, stadij ter bolnikove zmogljivosti. Na izid bolezni pri različnih histoloških podtipih limfomov vplivajo naslednji dejavniki: starost, stadij bolezni, bolnikova zmogljivost, število ektranodalnih lokacij, serumska koncentracija laktatne dehidrogenaze, število prizadetih nodalnih področij, koncentracija hemoglobina, velikost tumorske mase, sedimentacija eritrocitov in drugi (4, 6). Pri vsakem bolniku se o zdravljenju odločamo individualno. Večino bolnikov z zrelimi limfomi prej ali slej v poteku bolezni zdravimo z obema osnovnima metodama zdravljenja – t.j. s sistemsko terapijo (citostatsko terapijo in/ali biološko/tarčno terapijo) in obsevanjem z ionizirajočimi žarki (4, 6).

Citostatike bolnik prejema v obliki infuzij ali v obliki tablet. Pri sodobnem citostatskem zdravljenju bolnik običajno prejema kombinacije citostatikov (in le redko en sam citostatik) po izbranih shemah v točno določenem časovnem zaporedju (krogi citostatske terapije). Kot najučinkovitejši pri zdravljenju limfomov so se izkazali antraciklinski antibiotiki (doksorubicin in epidoksorubicin, manj daunorubicin), alikilirajoči citostatiki (ciklofosamid, ifosamid, klorambucil, dakarbazin, karmustin, mekloreタミン), vinka alkaloidi (vinkristin, vinblastin, manj vindezin), pa tudi druge protitumorske učinkovine, kot so prokarbazin, inhibitor topoizomeraze II etopozid, neantraciklinski protitumorski antibiotik bleomicin, antimetabolit fludarabin in kortikosteroidi (metilprednizolon). Pri najbolj agresivnih oblikah limfomov v citostatske

sheme vključujemo tudi druge antimetabolite (antagonist folne kisline metotreksat v velikih odmerkih, ki dobro prodira skozi krvomožgansko pregrado, citozin arabinozid, merkaptopurin in tiogvanin) (2–6).

Zadnja leta se pri obravnavanju bolnikov z zreli limfomi vse bolj uveljavlja posebna oblika biološke terapije. Kot zdravilo v teh primerih uporabljamo monoklonska protitelesa, ki so sposobna vezave na značilne strukture na membranah celic limfomov B, nekatera pa tudi membranah celic limfomov T (rituksimab – protitelo proti antigenu CD20, alemtuzumab – protitelo proti antigenu CD52). Takšna protitelesa dajemo v infuzijah in so učinkovita tako samostojno, še bolj pa v kombinaciji s citostatiki (2–6).

Na področju limfomov postaja obsevanje z ionizirajočimi žarki vse bolj le dopolnilno zdravljenje po zaključenem sistemskem zdravljenju. Kot edina oblika zdravljenja ostaja samo pri lokaliziranih indolentnih limfomih (2–6).

Ker zreli limfomi potekajo zelo različno, jih v grobem delimo v dve skupini – t. i. indolentne limfome in agresivne limfome. Pristop k zdravljenju je pri teh dveh skupinah limfomov popolnoma različen.

Bolnike z **agresivnimi limfomi** na začetku vedno zdravimo s kombinacijo citostatikov. Izbira kombinacije in število krogov (oz. trajanje citostatskega zdravljenja) je odvisna od histološkega tipa agresivnega limfoma, stadija bolezni in prognostičnih dejavnikov. Po zaključenem citostatskem zdravljenju lahko sledi obsevanje. Če agresivni limfom ni razširjen (stadij I), načeloma po končani citostatski terapiji vedno obsevamo prizadeto regijo. Bolnike z višjimi stadiji bolezni (stadiji I do IV) pa zdravimo z več krogi citostatikov (običajno 6 do 8) z dodatkom biološke terapije ali brez nje in obsevamo le predele ostanka bolezni. Bolnike z najbolj agresivnimi limfomi zdravimo na enak način kot otroke z akutno limfoblastno levkemijo – v teh primerih traja citostatsko zdravljenje neprekinjeno celo 2 leti (2–6).

Bolnike z **indolentnimi limfomi** stadija I ali II zdravimo s kirurško odstranitvijo prizadetih bezgavk in/ali obsevanjem. Pri bolnikih z razširjenimi indolentnimi limfomi (stadij III ali IV), pa se je na osnovi izkušenj iz preteklosti izkazalo, da agresivno zdravljenje ne izboljša preživetja, ampak ga lahko celo poslabša. Zato takšnega bolnika le klinično spremljamo in ga ne zdravimo, dokler je bolezen stabilna. Če pa napreduje in začne bolniku povzročati težave (nenadno naglo večanje bezgavk, pojav splošnih simptomov, pojav anemije ali trombocitopenije, velike tumorske mase v trebuhu, ki povzročajo motnje v odtoku seča, pomikanju blata po črevesju idr.), bolnika začnemo zdraviti s citostatiki. Najprej lahko z manj agresivnimi, če pa ti nimajo uspeha, preidemo na agresivnejše kombinacije citostatikov brez dodatka biološke terapije ali tudi z njo. Tudi pri teh bolnikih prihaja v poštev zdravljenje z obsevanjem – bodisi ostanka bolezni ali večjih tumorskih mas (2–6).

Posebna oblika zdravljenja bolnikov z zreliimi limfomi je visokodozna kemo-terapija/obsevanje s presaditvijo kostnega mozga oz. perifernih matičnih celic. Za takšno zdravljenje, ki je nadaljevanje konvencionalnega, se odločimo relativno redko, in sicer pri mlajših bolnikih, ki nimajo spremljajočih bolezni, imajo pa prognostično zelo neugodne oblike limfoma ali ponovljeno bolezen. Po visokodozni terapiji mu lahko vračamo njegove lastne krvotvorne matične celice (avtologna presaditev) ali tuje, ki pa morajo biti kar najbolj skladne (alogenska presaditev) (2–6).

Kirurškega zdravljenja bolnikov z zreliimi limfomi praktično ni; izjeme so bolniki z indolentnimi limfomi stadija I ali II, oz. posamični bolniki, ki imajo limfom le na eni lokaciji, npr. v želodcu, črevesju, ščitnici ... Pri njih zdravljenje začnemo s kirurško odstranitvijo obolenih bezgavke ali organa, čemur sledi citostatska terapija in/ali obsevanje (5, 6). Kirurški poseg pa vedno pomembno prispeva k postavitvi diagnoze (odstranitev bezgavke za histološko preiskavo).

PONOVITEV BOLEZNI IN SLEDENJE STANJA

Stanje bolnikov z agresivnimi limfomi, ki so po zaključenem zdravljenju v popolni remisiji bolezni, skrbno spremljamo, da bi kar najhitreje odkrili morebitno ponovitev bolezni ali kak drug malignom. Verjetnost, da se bolezen ponovi, je največja v prvih dveh letih po zaključenem zdravljenju. Razširjeni indolentni limfomi veljajo za neozdravljive s konvencionalnim zdravljenjem, zanje je značilen potek z vedno krajšimi obdobji remisij. Zdravstveno stanje takšnih bolnikov spremljamo do njihove smrti (5, 6).

LITERATURA

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al, editors. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. 4th edition. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2008.
2. Marcus R, Sweetenham JW, Williams ME. Lymphoma. Pathology, diagnosis and treatment. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
3. Canellos GP, Lister TA, Young BD, editors. The lymphomas. 2nd edition. Philadelphia: Saunders, 2006.
4. O'Brien S, Vose JM, Kantarjian HM, editors. Management of hematological malignancies: Cambridge: Cambridge University Press, 2011.
5. Jezeršek-Novakovič B. Maligni limfomi. In: Novakovič S, Hočevar M, Jezeršek-Novakovič B, Strojman P, Žgajnar J, editors. Onkologija. Raziskovanje, diagnostika in zdravljenje. Ljubljana: Mladinska knjiga; 2009: 374–81.
6. http://www.onko-i.si/uploads/media/Doktrina_maligni_limfomi_2014.doc

KRONIČNA LIMFOCITNA LEVKEMIJA

Peter Černelč, Helena Podgornik, Neda Gržinič

Povzetek. Na kronično limfocitno levkemijo (KLL) pomislijo v osnovnem zdravstvu, ko ugotovijo v limfocitozo z več kot $5 \times 10^9/L$ in Gumprechtove sence v razmazu krvi. S pretočnim citometrom potrdimo bolezen z dokazom celic B v krvi. Nadaljnje preiskave odložimo vse do odločitve o začetku zdravljenja, saj se ob napredovanju bolezni zaradi klonске evolucije lahko bolezen spremeni. Bolezen se najpogosteje ugotovi v starosti nad 70 let, ko intenzivni načini zdravljenja niso več možni. Bolnike začnemo zdraviti, ko jim bolezen povzroča težave. Za oceno poteka bolezni in za izbiro zdravljenja naredimo citogetesko preiskavo FISH, kjer prepoznamo bolezen z najbolj neugodnim potekom, kot ga napoveduje dokaz dela kromosoma 17p, ki zahteva intenziven način zdravljenja, pri mlajših bolnikih od 60 let tudi alogensko presaditev krvotvornih matičnih celic, ki omogoča ozdravitev.

UVOD

Kronična limfocitna levkemija (KLL) je opredeljena z limfocitozo z več kot $5 \times 10^9/L$ celic B v krvi. Potrdimo jo z določitvijo celičnih označevalcev CD19+/CD20+ na celicah B, ki imajo receptorje CD5 in CD23 in restrikcijo ene lahke verige ali so brez nje. Limfocite B najdemo pri bolezni tudi v kostnem mozgu, lahko pa tudi v limfatičnem tkivu in vranici (1). Ko ugotovimo kopičenje malih limfocitov B v bezgavkah in kostnem mozgu, ne pa v krvi, govorimo o limfomu malih limfocitov. KLL se pojavlja v družinah. Sorodniki bolnikov s KLL v prvem kolenu imajo trikrat večjo verjetnost kot splošna populacija, da bodo zboleli za KLL. Med sorodniki bolnikov je pogostejša tudi klonška limfocitoza celic B. Gre za stanje, ko pri osebi najdemo v krvi manjši klon celic B z imunofenotipskimi značilnostmi celic B, kot pri KLL (1, 2).

KLL je najpogostejša levkemija odraslih zahodnega sveta, ki pa navkljub napredku v razumevanju njenega nastanka in razvoju novih zdravil še vedno ostaja za večino bolnikov neozdravljiva. Vzrokov za nastanek KLL ne poznamo. Incidenca bolezni je 3–5 na 100.000 prebivalcev letno, pri moških je pogostejša kot pri ženskah. Ker je večina zbolelih odkrita naključno, je pojavnost na splošno podcenjena. Nanjo močno vpliva tudi geografski dejavnik, saj je bolezen npr. znatno redkejša v Aziji (3). V Sloveniji smo ugotovili v letu 2010, po zadnjem objavljenem poročilu Registra raka Republike Slovenije 94 bolnikov s KLL, incidenca je bila 4,7/100.000 (4).

Incidenca KLL se po petdesetem letu starosti strmo večja (5). Razlogov za to je več. Zmanjšuje se tvorba limfocitov B, medtem ko se napake signalizacije B-celičnega receptorja množijo. Splošno pa ima na nastanek raka

vpliv kopičenje reaktivnih kisikovih spojin, ki povzročajo genomsko nestabilnost, zmanjšanje T-celične imunosti in posledično neučinkovito izločanje malignih celic B, ter krajšanje telomer (6, 7). Povprečna starost ob odkritju je pri moških 70 let, pri ženskah 74 let, medtem ko je povprečna starost ob smrti pri moških 74 let, pri ženskah pa 81 let (3).

KLL so dolgo razumeli kot homogeno bolezen, v zadnjem obdobju pa so raziskave pokazale, da gre za morfološko, imunološko in genetsko heterogeno bolezen, kar se odseva tako v njenem poteku kot v odzivu na zdravljenje (8). Klinično je lahko KLL dolgo stabilna s pričakovano življenjsko dobo, ki je skoraj primerljiva s pričakovano, do hitro napredujoče, ki vodi v zgodnjo smrt (3). Tretjina bolnikov preživi več kot 20 let in sploh ne potrebuje zdravljenja. Pri 3–10 % bolnikov bolezen hitro napreduje (Richterjev sindrom), lahko pa preide v prolimfocitno levkemijo. Bolezen lahko spremljajo zapleti, kot avtoimunska hemolitična anemija, avtoimunska trombocitopenija in okužbe.

ZNAČILNOSTI BOLEZNI

Klon limfocitov B se pri KLL razrašča, tako da njihov delež pogosto doseže tudi 99 % vseh mononuklearnih celic v venski krvi. S tem povzročijo zmanjšanje števila normalnih celic imunskega odziva in so neposreden vzrok imunske pomanjkljivosti pri bolnikih s KLL. V nasprotju z večino malignih celic se pri KLL deli le 2–5 % limfocitov B, medtem ko večina celic miruje v fazi G₀ celičnega cikla. Vendar pa imajo te celice znatno daljšo življenjsko dobo (nekaj mesecev) kot normalni limfociti B (nekaj dni). Delno gre to pripisati rastnim dejavnikom mikrookolja, bolj pa pa zmanjšani hitrosti apoptoze, ki jo povzroči tako zmanjšana aktivnost pro-apoptotičnih kot zvečana aktivnost anti-apoptotičnih dejavnikov. Spremenjeno ravnovesje pro- in anti-apoptotičnih dejavnikov, ki je zdaj tudi osrednja tema raziskav novih terapevtskih učinkovin, je posledica nenormalnih genov in proteinov (9).

Doslej niso določili še nobene genetske preureditve, ki bi bila neposredno odgovorna za nastanek KLL, pač pa so zanj značilne številne različne preureditve. Intersticijska delecija na dolgem kraku kromosoma 13 (40–60 % bolnikov) ima za posledico izgubo področja, ki ne kodira zapisa za protein, pač pa za nekatere mikroRNA (miR-15a, miR-16-1), ki po zaviranju tarčnih genov delujejo kot genski regulatorji. Zveča se izražanje genov za proteina Bcl2 in TCL1. Prvi kot zaviralec apoptoze, drugi pa prek aktivacije proteina NF- κ B in inaktivacije proteina BAD, sta močna dejavnika podaljšanega preživetja (10). Mehanizem patogeneze pri drugih pogostejših kromosomskih spremembah je soroden, njihova stična točka pa je protein p53. Delecija na kromosomu 17 (okrog 10 % nezdravljenih bolnikov) vodi v izgubo supresorja tumorja *TP53*, posledično pa proteina p53, ki je glavni mediator apoptoze

pri okvari DNA, in ključni dejavnik zagotavljanja genomske stabilnosti. Gen *ATM* na kromosomu 11 (11q22) nosi zapis za kinazo, ki fosforilira p53, njegova izguba (10 % bolnikov) pa tako vnovič zmanjša apoptozo. Pri trisomiji kromosoma 12 (10–20 % bolnikov) je ključna podvojitev gena *MDM2*, ki pospešuje razgradnjo p53 v proteasomih, s čimer negativno uravnava njegovo aktivnost (9).

Pri večini bolnikov s KLL so dokazali spremenjeno aktivnost signalizacijskih proteinov. Medtem ko je zvečana aktivnost anti-apoptotične PI3K (fosfoinotid 3 kinaza), je domala nefunkcionalna pro-apoptotična protein kinaza R. Z receptorjem povezana tirozin kinaza ZAP-70, ki se praviloma izraža na limfocitih B le pri KLL, podaljša njihovo preživetje, tako da okrepi signalizacijo prek površinskih IgM (9, 11).

NAPOVEDNI DEJAVNIKI BOLEZNI

Določitev ustreznih napovednih dejavnikov ni pomembna le za oceno napredovanja bolezni, pač pa je ključna za izbiro ustreznega zdravljenja glede na tveganje posameznega bolnika in biološko ozadje njegove bolezni. Eden od glavnih izzivov pri KLL je določitev optimalnega časa in načina prvega zdravljenja. Zato je opredelitev nekaterih napovednih dejavnikov pomembna ob postavitvi diagnoze, drugih pa predvsem pred začetkom zdravljenja.

Potek bolezni se pri bolnikih znotraj posamezne skupine klinično razvojne stopnje Binetove razvrstitve ABC (Tabela 1), temelječe na zvečanih obodnih bezgavkah, vranici in jetrih ter anemiji ali trombocitopeniji, lahko znatno razlikuje (12, 13). Ob prvi ugotovitvi KLL je 55 % bolnikov na klinični razvojni stopnji A, 32 % na B in 13 % na C (3). Ob prvem zdravljenju je pri vsakodnevni klinični praksi 20 % bolnikov klinično razvojne stopnje A, 36 % stopnje B in 44 % stopnje C. Klinična razvrstitev po Binetu ob prvem pregledu bolnika le orientacijsko napoveduje potek bolezni, za natančnejšo oceno, predvsem pa izbiro zdravljenja, so se v zadnjem desetletju uveljavili številni napovedni dejavniki, temelječi na genetskih, fenotipskih in molekularnih značilnostih levkemičnega klona (14).

Podvojitveni čas limfocitov v enem letu je preprost parameter, ki dobro odseva kinetiko napredovanja bolezni. Krajši od enega leta označuje hitrejši potek bolezni in slabše preživetje (14). Serumska timidin kinaza, beta 2-mikroglobulin in topni CD23 so prav tako povezani s tumorskim bremenom in preživetjem. Med celičnimi označevalci sta napovedno pomembna CD38 in ZAP-70. Napovedni dejavnik, v katerega je bilo usmerjeno zelo veliko raziskav, je mutacijski status gena za težko verigo imunoglobulinov IgV_H. Izražanje ZAP-70 je povezano z nemutiranim statusom IgV_H pa tudi s preureditvami

gena *TP53*. Vsak od teh kazalcev napoveduje neugoden potek bolezni, njihova uporaba pa je še vedno bolj raziskovalna kot rutinska (12).

Tabela 1. Klinične razvojne stopnje kronične limfocitne levkemije po Binetu (1)

Stopnja	Klinični znaki	Medina preživetja [leta]
A	zvečane bezgavke in/ali drugi organi v manj kot treh področjih,* brez anemije in trombocitopenije v krvi	12
B	zvečane bezgavke in/ali drugi organi v treh ali več področjih, brez anemije ali trombocitopenije v krvi	7
C	zvečane bezgavke in ali drugi organi v treh ali več področjih, z anemijo ali trombocitopenijo v krvi	2–4

* Razlikujemo pet enakovrednih območij zvečanih bezgavk in organov: bezgavke v vratu, pazduhah in dimljah, vranica in jetra.

Zanesljivo največjo težo in najširšo uporabo imajo citogenetske preureditve. Napovedno najugodnejša je najdba samo del(13), pri kateri je celokupno preživetje 133 mesecev, medtem ko je pri bolnikih z normalnim kariotipom 111 mesecev. Napovedno vmesna je tako kot normalni kariotip trisomija kromosoma 12 (114 mesecev), medtem ko sta drugi dve preureditvi, ki ju rutinsko tudi v Sloveniji določamo pri vseh bolnikih s KLL, napovedno neugodni. Pri izgubi gena *ATM* (del(11q)) je srednje preživetje 79 mesecev, pri izgubi gena *TP53* (del(17p)) pa le 32 mesecev (2). Delecija gena *ATM* je značilna za t. i. neznatno KLL in za bolnike z izrazito limfadenopatijo. Navadno se odzivajo na zdravljenje, vendar se bolezen praviloma hitro ponovi. Bolniki z del(17p) imajo vedno hiter potek bolezni, ki je neodzivna na fludarabin. Določitev del(17p) pred zdravljenjem je zato ključna zaradi specifičnega zdravljenja z nekaterimi monoklonskimi protitelesi (13).

V zadnjem obdobju so raziskave z uporabo sekveniranja naslednje generacije prinesle novo znanje o genetski kompleksnosti in heterogenosti KLL. Izpostaviti gre napovedno zelo neugodne mutacije gena *TP53* brez istočasne izgube homolognega alela (okrog 5 % bolnikov) (15). Kot ponavljajoče se so se pokazale mutacije, ki vplivajo na aktivacijo signalizacije prek NOTCH in napake izrezovalno-povezovalnega kompleksa (*spliceosom*) (16). Pri bolnikih s KLL je spremenjen tudi vzorec metilacije DNA, ki je praviloma hipometilirana. Gre torej za možne nove napovedne dejavnike oz. potencialne tarče zdravljenja, katerih napovedni pomen bo treba še potrditi.

UGOTAVLJANJE BOLEZNI

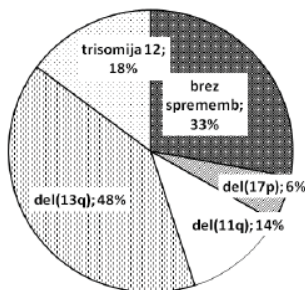
Prvi pogoj za postavitev diagnoze KLL je število limfocitov B v venski krvi, ki mora biti večje od $5 \times 10^9/L$. Prav zato je KLL podvrsta ne-Hodgkinovega limfoma, pri kateri je venska kri ustrezen vzorec za vse preiskave, ki jih opravimo ob postavitvi diagnoze, in histopatološki pregled ni nujen (17). Zdravnik se odloči za punkcijo kostnega mozga za citološki ali histološki pregled, ko spremljajo KLL zapleti s citopenijo, ali pa če želi oceniti stopnjo infiltracije z limfomskimi celicami.

Bolnika navadno pripelje k hematologu krvna slika. Ob postavitvi diagnoze je število limfocitov večje od $10 \times 10^9/L$, pogosto presega tudi $100 \times 10^9/L$. V diferencialni krvni sliki najdemo morfološko »normalne« zrele limfocite, ki pa so mehansko občutljivi, zato pri pripravi krvnega razmaza razpadejo v t. i. Gumprechtove sence. Zaradi infiltracije kostnega mozga z limfociti B imajo bolniki ob odkritju bolezni lahko anemijo, ob napredovanju bolezni pa tudi trombocitopenijo in nevtropenijo. Imunska anemija, trombocitopenija ali nevtropenija se lahko razvijejo kadar koli med potekom bolezni.

Ker je število limfocitov B ključno za postavitev diagnoze, je pretočna citometrija izhodiščna diagnostična preiskava. Pri KLL imajo limfociti B značilen imunofenotip, po katerem se razlikujejo od drugih limfomov B in ki se zapiše takole: CD5+/CD19+/CD20^{šibko}/CD23+/FMC7- (3). Diferencialno diagnostično imunofenotipizacija loči KLL od limfoma plaščnih celic ali spleničnega marginalno-celičnega limfoma. Če pri preiskovancu najdemo klon limfocitov B z značilnim imunofenotipom za KLL, njihova koncentracija pa je manjša od $5 \times 10^9/L$, govorimo o klonski limfocitozi celic B. S pretočno citometrijo določamo tudi izražanje proteina ZAP-70, ki je tehnično zahtevno in zato zaenkrat tudi še ni standardizirano (8).

Dokazane citogenetske preureditve so ena od značilnosti KLL, vrsta in število teh preureditev pa je neodvisni napovedni dejavnik poteka bolezni (1). Čeprav so apoptotične poti pri KLL nenormalne, pa niso okvarjene, zato limfociti B pri KLL zelo hitro odmrejo, če jih gojimo *in vitro* (9). Ta njihova lastnost, po kateri se znatno razlikujejo od večine malignih celic, otežuje standardno citogenetsko preiskavo, ki temelji na analizi metafaznih kromosomov deleče se celice. Odkritje, da dodatek CpG-oligodeoksinukleotida in citokina IL-2 stimulira limfocite B k delitvi *in vitro*, je prispeval k temu, da se je delež bolnikov, kjer najdemo kromosomske preureditve s proganjem kromosomov, približal tistemu, kjer jih odkrijemo z molekularno citogenetsko preiskavo fluorescenčno hibridizacijo *in situ* FISH (18). Z uporabo panelov ustreznih DNA-sond, s katerimi določamo morebitne delecije na dolgem kraku kromosomov 11 ter 13 ter na kratkem kraku kromosoma 17, ter trisomije 12 (del(11q), del(13q), del(17p), +12), odkrijemo kromosomske spremembe pri več kot 80 % bolnikov (19). Slika 1 prikazuje pogostost teh

preureditev pri slovenskih bolnikih s KLL, ki je zelo primerljiva tistim, objavljenim v literaturi.



Slika 1. Pogostost napovedno pomembnih kromosomskih preureditev pri slovenskih bolnikih s kronično limfocitno levkemijo (n = 444).

ZDRAVLJENJE

Zelo veliko bolnikov ima ob ugotovitvi KLL malo razširjeno bolezen in nima težav. Teh bolnikov ne zdravimo, ampak jih skrbno spremljamo v hematološki ambulanti in pri izbranem družinskem zdravniku. Če bolezen napreduje in nastanejo težave, napravimo dodatne citogenetske preiskave za izbiro najustrežnejšega zdravljenja in oceno napovedi poteka bolezni. Izbira zdravljenja je odvisna od citogenetskih nepravilnosti, starosti bolnika in njegove fizične zmogljivosti, stopnje razširjenosti bolezni in pridruženih kroničnih bolezni.

Bolnikom, mlajšim od 60 let, brez pridruženih bolezni in z neugodnimi citogenetskimi nepravilnostmi (del(17p), del(11q)), ki napovedujejo hiter potek bolezni, predlagamo program za možnost ozdravitve s kombinacijo intenzivnega zdravljenja z monoklonskim protitelesom alemtuzumabom ali ofatumumabom ter alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic (APKMC), ki je edini možni način ozdravitve bolezni (20, 21).

Citogenetsko ugodne mlajše bolnike intenzivno zdravimo s kombinacijo zdravil R-FC (rituksimab, fludarabin, ciklofosfamid). Doseči želimo popolno remisijo bolezni pred APKMC. Pri primerjavi učinkovitosti R-FC in rituksimab-bendamustin (R-B) pri skupno 564 bolnikih s KLL brez delecije 17p so dosegli popolno remisijo bolezni pri 47,4 % bolnikov, ki so jih zdravili z R-FC, in 38,1 % tistih, ki so jih zdravili z R-B; po dveh letih opazovanja ni bilo znakov bolezni pri 85 % bolnikov prve skupine (R-FC) in pri 78,2 % bolnikov druge skupine (R-B). Razliki nista bili statistično pomembni (22).

Starejše bolnike, ki iz več razlogov niso kandidati za intenzivno zdravljenje, zdravimo s kombinacijami rituksimab-klorambucil (R-C), rituksimab-bendamustin (R-B) ali rituksimab-fludarabin (R-F). Cilj zdravljenja je zmanjšati tumorsko maso, odpraviti težave in izboljšati kakovost življenja.

Delež posameznih načinov zdravljenja KLL v petih najbolj razvitih evropskih državah je bil v letu 2012/13 naslednji: 59,7 % bolnikov je prejelo rituksimab v kombinacijah z drugimi citostatiki: 23,1 % R-FC, 17,4 % R-B, 16,2 % K, 7,2 % F, 5,8 % R, 5,6 % R-K, 4,0 % K+prednizon, 3,7 % B (23).

NOVA ZDRAVILA ZA ZDRAVLJENJE BOLNIKOV S KRONIČNO LIMFOCITNO LEVKEMIJO

Za zdravljenje bolnikov s KLL potekajo številne klinične raziskave novih, predvsem tarčnih zdravil, ki delujejo po načelu intenzivnega zdravljenja in stremijo k doseganju popolne remisije bolezni ali pa zmanjšanja proliferacije klona limfomskih celic B in bolezni usmeriti v kronični potek, ki potrebuje neprekinjeno zdravljenje. Za prvi način zdravljenja je humano monoklonsko protitelo obinutuzumab (GA101), ki se kombinira z bendamustinom ali fludarabinom ter ciklofosfamidom. Zdravilo preskušamo že pri bolnikih s KLL na Kliničnem oddelku za hematologijo. Ameriške smernice NCCN za zdravljenje bolnikov s KLL (izdaja 3.3014) so letos vključile obinutuzumab in klorambucil za prvo zdravljenje KLL pri starejših od 70 let, pa tudi pri tistih, kjer zdravljenje s purinskimi analogi ni primerno, ter za mlajše bolnike od 70 let s pridruženimi drugimi boleznimi, kjer drugi intenzivnejši načini zdravljenja niso primerni. Tudi pri bolnikih z del(17p) je ob standarnih načinih zdravljenja možno zdraviti s kombinacijo obinutuzumaba in klorambucila (24).

Selektivna zaviralca kinaz, idelalisib (GS-1101) in ibrutinib, preskušajo kot samostojni zdravili ter v različnih kombinacijah s poznanimi zdravili za KLL. Rezultati so zelo spodbudni, vendar zdravila še niso na voljo za preskušanje pri nas, dogovarjamo pa se, da bi jih pridobili še v tem letu. *Ameriška agencija za zdravila* (FDA) je je 23. julija letos odobrila idelalisib skupaj z rituksimabom za zdravljenje bolnikov s ponovljeno KLL, saj je bila v kombinaciji z rituksimabom 81-odstotna odzivnost na zdravljenje statistično znatno učinkovitejša od rituksimaba z le 13-odstotno odzivnostjo na zdravljenje (25). Ibrutinib kot samostojno zdravilo so *Ameriške smernice NCCN* (izdaja 3.3014) vključile za zdravljenje bolnikov s KLL in del(17p), ko bolezen ni bila odzivna na običajne prve načine zdravljenja ali pa se je ponovila (24). Primerjali so odzivnost na zdravljenje z ibrutinibom in ofatumomabom pri ponovitvi KLL po zdravljenju. Odzivnost na zdravljenje po enoletnem opazovanju je bila statistično pomembno različna: pri ibrutinibu je bila pri 65 % bolnikov, pri ofatumumabu pa le pri 5 % bolnikov (26).

ZAKLJUČKI

Prepoznavna KLL je v osnovnem zdravstvu zelo preprosta, potrditev bolezni v specializiranem hematološkem laboratoriju pa obvezna. Specialne preiskave odložimo, dokler bolezen ne napreduje in bolnik potrebuje zdravljenje. Z njimi določimo način zdravljenja in predvidimo potek bolezni. Slednje je posebej pomembno za mlajše bolnike s KLL z neugodnimi citogenetskimi kazalci, ki so kandidati za ozdravitev z alogensko presaditvijo KMC.

LITERATURA

1. Černelč P. Kronična limfocitna levkemija. In: Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Koželj M, Černelč P. Interna medicina. Ljubljana: Littera Picta d.o.o., Slovensko medicinsko društvo 2011: 1312–1321.
2. Watson L, Wyld P, Catovsky D. Disease burden of chronic lymphocytic leukaemia within the European Union. *Eur J Haematol* 2008; 81 (4): 253–8.
3. Dighiero G, Hamblin TJ. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* 2008; 371 (9617): 1017–29.
4. Rak v Sloveniji 2010. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana, Epidemiologija in register raka, Register raka Republike Slovenije, 2013: 78.
5. Brandt L. Environmental factors and leukaemia. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 1985; 2 (1): 7–10.
6. Rozman C, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1995; 333 (16): 1052–7.
7. Signer RA, Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. Aging, B lymphopoiesis, and patterns of leukemogenesis. *Exp Gerontol* 2007; 42 (5): 391–5.
8. Rodríguez-Vicente AE, Díaz MG, Hernández-Rivas JM. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogeneous disease. *Cancer Genet* 2013; 206 (3): 49–62.
9. Chen J, McMillan NA. Molecular basis of pathogenesis, prognosis and therapy in chronic lymphocytic leukaemia. *Cancer Biol Ther* 2008; 7 (2): 174–9.
10. Calin GA, Croce CM. Genomics of chronic lymphocytic leukemia microRNAs as new players with clinical significance. *Semin Oncol* 2006; 33 (2): 167–73.
11. Chen L, Apgar J, Huynh L, Dicker F, Giago-McGahan T, Rassenti L, et al. ZAP-70 directly enhances IgM signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005; 105 (5): 2036–41.
12. Letestu R, Levy V, Eclache V, Baran-Marszak F, Vaur D, Naguib D, et al. Prognosis of Binet stage A chronic lymphocytic leukemia patients: the strength of routine parameters. *Blood* 2010; 116 (22): 4588–90.
13. Sellner L, Dietrich S, Dreger P, Glimm H, Zenz T. Can prognostic factors be used to direct therapy in chronic lymphocytic leukemia? *Curr Hematol Malig Rep* 2012; 7 (1): 3–12.
14. Chiorazzi N. Implications of new prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 76–87.
15. Zenz T, Eichhorst B, Busch R, Denzel T, Habe S, Winkler D, et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28 (29): 4473–9.
16. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, Conde L, Ordonez GR, Villamor N, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2011; 475 (7354): 101–5.
17. NCCN Guidelines Version 2.2013

18. Dicker F, Schnittger S, Haferlach T, Kern W, Schoch C. Immunostimulatory oligonucleotide-induced metaphase cytogenetics detect chromosomal aberrations in 80 % of CLL patients: A study of 132 CLL cases with correlation to FISH, IgVH status, and CD38 expression. *Blood* 2006; 108 (9): 3152–60.
19. Döhner H; German CLL study group (GCLLSG). Chronic lymphocytic leukemia. Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V(H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. *Leukemia* 2002; 16 (6): 993–1007.
20. Abbot BL Chronic Lymphocytic Leukemia: Recent Advances in Diagnoses and Treatment. *The Oncologist* 2006; 11: 21–30.
21. Uptodate. <http://www.uptodate.com/contents/search>. Doseženo: september 2013
22. Eichhorst B, Fink AM, Busch R, et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) versus bendamustine and rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (cll): results of a planned interim analysis of the CLL10 trial, an international, randomized study of the German CLL study group (GCLLSG). In: *Proceeding of 55th Annual Meeting*, 7.–10.12.2013 New Orleans, Abstracts book 2013; abstract 526.
23. Ysebaert L, Yong A, Stilgenbauer S. Treatment patterns of patients with CLL including patterns of rituximab use by clinicians across five European countries: Real world evaluation utilizing ipsos healthcare survey. *Hematology education*. 19th Congress of the European hematology association (EHA); 12–15.6.2014. Milano 2014; P 1275.
24. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site
25. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370: 997–1007.
26. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Kay NE, Reddy NM, et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 17; 371: 213–23.

NOVOTVORBE PLAZMATK

Saša Anžej-Doma, Irena Preložnik-Zupan

Povzetek. Novotvorbe plazmatk so klinično raznolika skupina bolezni, za katere je značilen pojav monoklonskega imunoglobulina v krvi. Mednje uvrščamo diseminirani plazmacitom, solitarni plazmacitom, AL-amiloidozo, bolezní odlaganja lahkih in težkih verig imunoglobulinov ter sindrom POEMS. Monoklonski imunoglobulin neopredeljenega pomena (MINP) je eno najpogostejših premalignih stanj, ki ga ugotavljamo pri 3,5 % populacije, starejše od 50 let. Letno tveganje za napredovanje MINP v eno od limfoproliferativnih bolezni je 1 %. Pri vseh novotvorbah plazmatk se poslužujemo podobnih diagnostičnih postopkov (elektroforeza proteinov seruma in/ali urina, imunoelektroforeza (imunofiksacija), punkcija in biopsija kostnega mozga, slikovne preiskave), podobne so tudi sheme zdravljenja.

UVOD

Novotvorbe plazmatk so skupina bolezni, ki nastanejo zaradi nenadzorovane razrasti klonalnih plazmatk, ki proizvajajo monoklonski imunoglobulin. Po klasifikaciji SZO med novotvorbe plazmatk v ožjem smislu uvrščamo diseminirani plazmacitom, plazmacelično levkemijo, solitarni plazmacitom in bolezní, ki nastanejo zaradi odlaganja imunoglobulinov (Tabela 1). Med slednje spadajo AL-amiloidoza (amiloidoza lahkih verig imunoglobulinov) ter bolezní odlaganja lahkih in težkih verig. Med novotvorbe plazmatk sodi še osteosklerotični plazmacitom (sindrom POEMS, kratica za polinevropatijo, organomegalijo, endokrinopatijo, monoklonski protein, kožne spremembe). Z boleznijo plazmatk povezujemo tudi monoklonski imunoglobulin v krvi brez znakov bolezni (monoklonski imunoglobulin neopredeljenega pomena, MINP), ki je premaligna sprememba. Prispevek ne obravnava ostalih novotvorb, ki so posledica tako razrasti plazmatk kot limfocitov in tudi izločajo imunoglobuline (limfoplazmocitni limfom, Waldenströмова makroglobulinemija in bolezní težkih verig).

DISEMINIRANI PLAZMACITOM

Diseminirani plazmacitom (DP) je neoplastična proliferacija klonalnih plazmatk, ki proizvajajo monoklonski imunoglobulin. Ugotovimo ga z elektroforezo proteinov seruma in/ali urina. Razred imunoglobulina določimo z imunoelektroforezo (imunofiksacijo). Tako razlikujemo plazmacitom IgG (52 %), IgA (21 %), IgD (2 %) ali IgM (0,5 %). Včasih (v 16 %) pa klon plazmacitomskih celic izloča le lahke verige, ki se zaradi majhne molekulske mase izločajo skozi ledvice. V tem primeru govorimo o Bence-Jonesovem plazmacitomu. Pogostejše pride do izločanja kapa (κ) kot lambda (λ) verig, nikoli pa obeh hkrati (zato je tudi porušeno normalno razmerje $\kappa : \lambda$ v kostnem mozgu,

2 : 1). Redko (v 2 %) plazmacitomske celice izločajo 2 vrsti imunoglobulinov oz. lahko gre za dva klon plazmatk. Pri približno 3 % bolnikov z imunofiksacijo seruma ali urina ne ugotovimo monoklonskega proteina niti ne lahkih verig; v teh primerih govorimo o nesekrecijskem plazmacitomu.

Tabela 1. Klasifikacija plazmacitnih novotvorb.

MINP – monoklonski imunoglobulin neopredeljenega pomena
SOLITARNI PLAZMACITOM
Solitarni plazmacitom kosti
Solitarni plazmacitom mehkih tkiv
DISEMINIRANI PLAZMACITOM
Asimptomatski/tleči plazmacitom
Sekrecijski plazmacitom
Nesekrecijski plazmacitom
PLAZMACELIČNA LEVKEMIJA
BOLEZNI Z ODLAGANJEM MONOKLONSKEGA IMUNOGLOBULINA
Primarna amiloidoza
Bolezen odlaganja lahkih in težkih verig imunoglobulinov
OSTEOSKLEROTIČNI PLAZMACITOM (POEMS)

Zbolevajo ljudje med 60. in 70. letom starosti, vzrok za nastanek bolezni ni poznan. Večina bolnikov z DP kaže bodisi znake in simptome s strani organov, infiltriranih s plazmatkami, bodisi znake okvare ledvic zaradi presežka lahkih verig. Ker plazmacitomske celice izločajo citokin, ki spodbuja osteoklaste, prihaja do osteoporoze ali osteolize kosti z bolezenskimi prelomi. Pogosto je prvi znak bolezni bolečina v predelu ledvene hrbtenice. Kompresijski zlomi so pogosti; zmanjšujejo pljučno kapaciteto in zaradi motene mehanike hrbtenice vodijo v nadaljnje zlome. V krvi lahko ugotovimo hiperkalcemijo. Hiperkalcemični bolniki so lahko asimptomatski ali pa navajajo slabost, bruhanje, nimajo apetita, kažejo poliurijo, polidipsijo, zaprtje, šibkost, zmedenost ali komo. Pri napredovali bolezni plazmacitomske celice izpodrivajo normalne krvotvorne celice v kostnem mozgu; razvijeta se anemija in nevtropenija s posledičnimi okužbami, redkejšje so krvavitve zaradi trombocitopenije. Zaradi izločanja lahkih verig pride do okvare ledvic. Dodatno ledvice poškodujeta tudi hiperkalcemija in povišana koncentracija sečne kisline. Po drugi strani pa ledvično odpovedovanje pomeni tudi slabšo tvorbo eritropoetina in posledično anemijo. Pri veliki koncentraciji monoklonskega imunoglobulina (posebej > 30 g/L) se zveča viskoznost krvi. Zaradi motenega delovanja trombocitov, ki so obloženi z imunoglobulini, in

vpliva monoklonskih imunoglobulinov na koagulacijske faktorje, ob možni sočasni trombocitopeniji, pride do motenj v hemostazi in krvnem obtoku. Posledica so lahko krvavitve v kožo in sluznice, motnje vida, vrtoglavica, šumenje v ušesih in motnje zavesti. Ob čezmerni produkciji enega razreda imunoglobulinov pride do zmanjšane produkcije ostalih imunoglobulinov (npr. pri IgG DP je zmanjšana produkcija imunoglobulinov IgM in IgA), zaradi česar ob zmanjšani limfocitni funkciji in zmanjšani sintezi normalnih plazmatk grozijo okužbe. Ostali znaki in simptomi so še: utrujenost, splošna šibkost, izguba teže, nevrološki izpadi (najpogostejše radikulopatija v torakolumbalnem predelu, lahko pa tudi kompresija hrbtenjače, periferna nevropatija, leptomeningealna mielomatoza pri prizadetosti osrednjega živčevja, encefalopatija zaradi hiperviskoznosti krvi ali visokih ravni amoniaka, ki ga tvorijo plazmacitomske celice).

Za diagnozo DP je treba dokazati, da je v serumu ali urinu monoklonski imunoglobulin, v kostnem mozgu pa več kot 10 % klonskih plazmatk ter prizadetost organov (anemijo, hiperkalcemijo, ledvično popuščanje, osteolitične lezije). Spremembe skeleta ocenjujemo na rentgenogramih glave, celotne hrbtenice, medenice, stegenic in nadlaktic (plazmacitomska serija). Za natančnejšo oceno uporabljamo tudi sodobnejše slikovne preiskave (MRI, CT, PET CT z F18 deoksiglukoza). Določimo lahko kromosomske nepravilnosti, kar nam napoveduje potek bolezni.

Posebna, asimptomatska, oblika DP je tleči plazmacitom. Bolniki imajo višjo koncentracijo monoklonskega imunoglobulina in večji delež plazmacitomskih celic v kostnem mozgu in tudi izpolnjujejo minimalna merila za diagnozo plazmacitoma, vendar nimajo težav, anemije, ledvične odpovedi in hiperkalcemije. Nekateri razlikujejo tleči plazmacitom, pri katerem ni sprememb na skeletu, od indolentnega plazmacitoma, pri katerem pa lahko najdemo največ 3 osteolitične spremembe.

Sheme zdravljenja DP so različne, odvisne od starosti bolnika in citogenetskih izsledkov. V zadnjem času najpogostejše uporabljamo bortezomib, lenalidomid, melfalan, ciklofosamid, kortikosteroide, talidomid. Pri mlajših bolnikih (< 65–70 let) obstaja tudi možnost avtologne presaditve krvotvornih matičnih celic. Vsa zdravila imajo neželene učinke: zavora kostnega mozga (melfalan, bortezomib, ciklofosamid, lenalidomid, talidomid), zvečana nevarnost okužb (bortezomib, kortikosteroidi), nevropatije (bortezomib, talidomid), cistitis (ciklofosamid), mišična šibkost, gastrointestinalne težave, hiperglikemija in spremembe razporeditve pri kortikosteroidih, zvečana grožnja tromboze (lenalidomid, talidomid), teratogenost (talidomid, lenalidomid), hipersenzitivnostne reakcije (melfalan, bortezomib, lenalidomid) in izpuščaji (talidomid), hipotenzija (bortezomib). Zdravljenje z obsevanjem uporabljamo za lajšanje bolečine pri osteolitičnih lezijah, ki se ne odzovejo na sistemsko kemoterapijo, in za zdravljenje kompresij hrbtenjače zaradi DP. Pri grozečih

ali ugotovljenih zlomih skeleta je včasih potrebna kirurška stabilizacija. Kompresija hrbtenjače zaradi ekstramedularnega plazmacitoma ali zaradi pomika kosti je urgentno stanje, ki zahteva takojšnje ukrepanje. Nanjo pomislimo pri hudi bolečini v hrbtu, zmanjšani moči in mravljinčih v nogah, motnjah mokrenja in odvajanja blata oziroma inkontinenci. Potrebna je takojšnja MRI- ali CT-mielografija. Navadno se odločimo za obsevanje in glukokortikoide (deksametazon), pri nekaterih bolnikih tudi za drugo sistemsko zdravljenje, včasih je potrebna kirurška dekompresija. Z bisfosfonati zdravimo osteolitične lezije, sekundarno osteopenijo in hiperkalcemijo. Najpomembnejši stranski učinki tega zdravljenja na daljši rok so akutna ledvična odpoved (pogostejša pri zoledronatu), albuminurija (pri pamidronatu) in osteonekroza čeljusti. Pri hiperkalcemiji ukrepamo še s hidracijo, kortikosteroidi, kalcitoninom in po potrebi s hemodializo. Pri sindromu zvečane viskoznosti, ki se kaže s krvavitvami iz ust in nosu, zamegljenim vidom, nevrološkiimi simptomi, zmedenostjo in srčnim popuščanjem, se odločamo za plazmaferezo; ker meritve serumske viskoznosti ne korelirajo dobro s simptomi, je vodilo pri odločanju klinična slika in ne meritev viskoznosti.

Večina bolnikov z DP je slabokrvnih. Najprej je potrebno izključiti pogostejše vzroke za anemijo (pomanjkanje železa, folatov, vitamina B12). Za zdravljenje se uporabljajo sintetični eritropoetini, pri hudi simptomatski anemiji pa transfuzija eritrocitov. Pri bolnikih z ledvičnim odpovedovanjem se izogibamo nefrotoksičnim snovem (npr. aminoglikozidom, nesteroidnim antirevmatikom), skrbimo za zadostno hidracijo in ustrezno prilagajamo odmerke zdravil. Ker so bolniki z DP bolj dovzetni za okužbe zaradi okvarjene funkcije limfocitov, zavore normalnih plazmatk, hipogamaglobulinemije in kemoterapije, svetujemo letna cepljenja proti gripi, pnevmoku in antibiotično zaščito v prvih mesecih kemoterapije. Pri vseh bolnikih, ki se zdravijo z bortezomibom, se svetuje tudi protivirusna profilaksa zaradi preprečevanja reaktivacije virusa varicelle/zoster. Intravenski imunoglobulini pridejo v poštev pri bolnikih, ki imajo ponavljajoče se okužbe kljub uporabi profilaktičnih antibiotikov. V primeru okužbe ukrepamo hitro; opravimo preiskave za ugotovitev povzročitelja (kužnine, rtg p.c.) in empirično uvedemo antibiotik, usmerjen proti enkapsuliranim in gramnegativnim bakterijam. Bolniki z DP imajo več tromboz, posebej venskih, kar je posledica same bolezni, včasih pa tudi zdravljenja (sheme s talidomidom ali lenalidomidom).

PLAZMACELIČNA LEVKEMIJA

Če imajo bolniki zvečana jetra in vranico, v krvi pa je več kot 20 % plazmatskih celic (oz. več od 2000/ μ L), gre za plazmacelično levkemijo (PL). To je zelo redka oblika bolezni (v Evropi 4 primeri na 10,000.000 oseb na leto), ki lahko nastane kot napredovanje že prej odkritega DP (sekundarna

PL) ali pa kot primarna manifestacija bolezni. Klinična slika je lahko podobna kot pri DP (ledvično popuščanje, hiperkalcemija, litične kostne lezije, kostne bolečine, anemija) ali kot pri drugih levkemijah (levkocitoza, anemija, trombocitopenija, okužbe, hepatomegalija, splenomegalija). Včasih imajo bolniki limfadenopatijo, plevralni izliv ali nevrološke znake zaradi prizadetosti osrednjega živčevja. V laboratorijskih izvidih pogosto ugotavljamo zvečano LDH in beta-2-mikroglobulin.

Diagnostični postopek pri sumu na plazmacelično levkemijo je podoben kot pri DP: celotna krvna slika z diferencialno belo krvno sliko, punkcija in biopsija kostnega mozga z imunofenotipizacijo, citogenetiko in FISH, elektroforeza in imunofiksacija proteinov seruma in urina ter pretočna citometrija iz periferne krvi. Potrebna je tudi opredelitev kostnih sprememb. Prognoza PL je slaba; povprečno preživetje je 6–11 mesecev. Bolnike zdravimo z intenzivno kemoterapijo in presaditvijo krvotvornih matičnih celic.

SOLITARNI PLAZMACITOM

Je redkejša novotvorba plazmatk, ki lahko nastane bodisi v kosti bodisi v mehkih tkivih in nima značilnosti DP. **Solitarni plazmacitom kosti** najpogosteje nastane v vretencih, posebej torakalnih, v medenici in rebrih. Kaže se s skeletno bolečino ali patološkim zlomom. Pri prizadetosti hrbtenice se lahko pojavijo nevrološki znaki. **Ekstramedularni solitarni plazmacitomi** so najpogostejši v področju vratu in glave, kjer se kažejo s simptomi epistakse, rinoreje, zamašenega nosu. Redkeje jih najdemo v prebavilih, jetrih, bezgavkah, testisih, koži in osrednjem živčevju. Diagnostična merila obeh bolezni obsegajo dokaz solitarne neoplazme plazmatk v kosteh oz. mehkih tkivih, po definiciji pa ti bolniki nimajo anemije, hiperkalcemije, ledvične odpovedi in multiplih kostnih lezij. Monoklonski imunoglobulin se pojavi le pri deležu teh bolnikov in lahko izgine z zdravljenjem.

Bolnike zdravimo z obsevanjem. Prognoza solitarnega plazmacitoma je ugodnejša kot pri DP; povprečno preživetje je 10 let. Po obsevanju 50–60 % solitarnih kostnih plazmacitomov in le majhen delež ekstramedularnih solitarnih plazmacitomov sčasoma preide v DP. Zato je pomembno, da že ob diagnozi opravimo MRI celotne hrbtenice ali PET/CT, s čimer odkrijemo več lezij oz. zgodnji DP.

BOLEZNI Z ODLAGANJEM MONOKLONSKEGA IMUNOGLOBULINA: AMILOIDOZA LAHKIH VERIG IMUNOGLOBULINOV (AL-amiloidoza), BOLEZEN LAHKIH VERIG in BOLEZEN TEŽKIH VERIG

To so bolezni klonske razrasti plazmatk, ki so jim skupni depoziti iz lahkih ali težkih verig, ki povzročijo disfunkcijo organov. Pri **amiloidozi AL** populacija plazmatk tvori monoklonske lahke verige (v 75 % λ , v 25 % κ), iz katerih nastajajo fibrile, ki se oblikujejo v strukture beta-nagubanega lista in se nato odlagajo v različnih organih. Je redka bolezen starejših ljudi. Poleg splošnih simptomov utrujenosti in hujšanja pri teh bolnikih ugotavljamo prizadetost ledvic (nefrotska proteinurija), srca (restriktivna kardiomiopatija), živčevja (mešana senzorična in motorična periferna nevropatija in/ali avtonomna nevropatija), kože (purpura, 'rakunje' oči, voščena zadebelitev kože, ekhimoze, podkožni noduli in plaki), hepatomegalijo z večjimi vrednostmi jetrnih encimov, gastroparezo, zaprtje, makroglosijo in psevdohipertrofijo, nagnjenost h krvavitvam. Do slednje pride zaradi pomanjkanja faktorja X, ki se veže na amiloidne fibrile v vranici in jetrih, pri napredovali jetrni okvari pa je zmanjšana sinteza vseh koagulacijskih faktorjev, možna je tudi pridobljena von Willebrandova bolezen.

Diagnozo postavimo s prikazom amiloida v katerem koli tkivu (značilen videz amiloidnih fibril pod elektronskim mikroskopom in barvanje s kongo rdečim barvilom). Z biopsijo ledvice ali jeter lahko dokažemo amiloid v 90 %, vendar v praksi navadno delamo manj invazivne aspiracije maščevja, biopsije rektuma ali kože. Ob tem je za diagnozo AL-amiloidoze treba dokazati, da je amiloid v zvezi z lahkimi verigami in da gre za klonsko proliferacijo plazmatk (dokaz monoklonskega imunoglobulina, nenormalno razmerje lahkih verig, klonske plazmatke v kostnem mozgu), prizadetost organov pa mora biti posledica kopičenja amiloida. Približno 10 % bolnikov ima sočasen DP, ki se kaže z več kot 30-odstotno infiltracijo kostnega mozga s plazmatkami in/ali kostnimi lezijami. AL amiloidoza je lahko redek zaplet monoklonske gamopatije IgM, npr. WM, še redkeje pa je v povezavi z IgD. Obstaja tudi redka AH-amiloidoza, pri kateri amiloid sestavljajo težke verige imunoglobulinov; klinični potek pa je podoben AL-amiloidozi.

Pri **bolezni odlaganja lahkih verig** populacija plazmatk proizvaja delce monoklonskih lahkih verig, ki ne tvorijo amiloidnih fibril, ampak se odlagajo v tkivih kot granule. Večinoma depoziti nastanejo iz verig κ in se ne barvajo z barvilom kongo rdeče. Bolezen lahko prizadene ledvice; pri prizadetosti glomerulov pride do nefrotske proteinurije, pri prevladujoči prizadetosti tubulov pa je proteinurija blažja oz. pride do ledvične insuficience. Prizadeti so lahko tudi drugi organi: najpogostejše srce, črevo in jetra, lahko pa tudi možgani in pljuča. Tako kot AL-amiloidoza je bolezen lahkih verig lahko v povezavi z DP ali drugimi limfoproliferativnimi boleznimi, npr. limfomom ali Waldenströmovo makroglobulinemijo.

Pri **bolezni težkih verig**, ki je še redkejša, nastajajo neamiloidni depoziti iz težkih in lahkih verig imunoglobulinov ali samo kratkih (razvejanih) težkih verig. Tudi ti so granularni in se ne barvajo z kongo rdečim barvilom.

Bolnike, ki imajo bolezen odlaganja monoklonskih imunoglobulinov, zdravimo po podobnih shemah kot pri DP; pri boleznih odlaganja lahkih in težkih verig je izkušenj malo.

SINDROM POEMS

Med novotvorbe plazmatk uvrščamo še **sindrom POEMS** (polinevropatija, organomegalija, endokrinopatija, monoklonski protein, kožne /*skin*/ spremembe). Gre za osteosklerotične lezije, ki jih spremljajo simptomi in znaki periferne nevropatije, Castelmanove bolezni, organomegalija, endokrine motnje (vendar ne hipotiroidizem ali sladkorna bolezen), edemi, značilne kožne spremembe in/ali papiloedem. Bolniki imajo značilno zvišano vrednost VEGF (žilni endotelijski rastni faktor).

MINP

Z boleznijo plazmatk povezujemo tudi MINP, ki pomeni navzočnost monoklonskega imunoglobulina v krvi brez znakov bolezni. Je pogosta laboratorijska najdba. Nastane zaradi klonske razrasti plazmatk, ki izločajo monoklonsko beljakovino v krvi in se izrazijo z monoklonskim zobcem v proteino-gramu. Pomeni premaligno stanje, saj so ugotovili, da DP praktično vedno nastane iz MINP. Bolniki nimajo nikakršnih znakov ali simptomov, značilnih za novotvorbo plazmatk. Prevalenca MINP s starostjo narašča. Sam po sebi MINP ne potrebuje zdravljenja, zahteva pa redno spremljanje. IgG- in IgA-MINP sta premaligni stanji za DP, MINP lahkih verig za Bence Jonesov plazmacitom, IgM-MINP za Waldenströmovo makroglobulinemijo in druge limfoproliferativne bolezni. Verjetnost prehoda v eno od navedenih bolezni je približno 1 % letno. Poleg tega se je izkazalo, da spremembe v mikro-okolju kostnega mozga bolnikov z MINP zvečajo grožnjo venskih in arterijskih tromboz, okužb, osteoporoze in zlomov kosti.

LITERATURA

1. van de Donk, Palumbo A, Johnsen HE, Engelhardt M, Gay F, Gregersen Het al. The clinical relevance and management of monoclonal gammopathy of undetermined significance and related disorders: recommendations from the European myeloma network, *Haematologica* 2014; 99 (6): 984–96.
2. McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Grogan TM, Harris NL, Coupland RW. Plasma cell neoplasms. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris et al. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues, Lyon 2008.

3. Černelč P. Novotvorbe zrelih celic B, T in NK. In: Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Černelč P, Koželj M, editors. *Interna medicina*. Ljubljana: Littera picta, 2011: 1326–35.
4. Manasanch EE, Tagueja N, Landgren CO. Multiple myeloma. In: Rodgers GP, Young NS: *The Bethesda handbook of clinical hematology* 2011: 234–48.
5. Rajkumar SV. Clinical features, laboratory manifestations, and diagnosis of multiple myeloma. Doseženo aprila 2014 s spletne strani www.uptodate.com.
6. Rajkumar SV. Plasma cell leukemia. Doseženo maja 2014 s spletne strani www.uptodate.com.
7. Rajkumar SV. Diagnosis and management of solitary plasmacytoma of bone. Doseženo februarja 2014 s spletne strani www.uptodate.com.
8. Brenner T, Duggal S, Natale J, Wirth SM. Treatment protocols for multiple myeloma. Doseženo oktobra 2013 s spletne strani www.uptodate.com.
9. Rajkumar SV. Clinical presentation, laboratory manifestations, and diagnosis of immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis (primary amyloidosis) Doseženo oktobra 2013 s spletne strani www.uptodate.com.
10. Rajkumar SV. Prognosis and treatment of immunoglobulin light chain (AL) amyloidosis and light and heavy chain deposition disease. Doseženo maja 2014 s spletne strani www.uptodate.com.
11. Rajkumar SV. Treatment of the complications of multiple myeloma. Doseženo julija 2014 s spletne strani www.uptodate.com.

HODGKINOVIM LIMFOMAM

Tanja Južnič-Šetina

Povzetek. Hodgkinov limfom (HL) ali včasih imenovan Hodgkinova bolezen je rak limfatičnega tkiva, ki spada med dobro ozdravljive maligne bolezni. Za njim najpogosteje zbolijo mladostniki in mlajši odrasli do 35. leta starosti, sledijo jim starejši, po 55. letu starosti. V Sloveniji zbolijo 40–65 bolnikov letno.

Za bolezen so značilne Hodgkinove in Reed-Sternbergove (HRS) celice, ki so v bogatem vnetnem celičnem okolju. Tumorske celice izhajajo iz zrelih B-celic, ki so večinoma izgubile tipičen B-celični fenotip in postale odporne na celično smrt. Po klasifikaciji *Svetovne zdravstvene organizacije* (SZO) razlikujemo dva tipa HL, klasični HL, ki se pojavlja v 95 % primerov in tip nodularne limfocitne predominance – v 5 % primerov. Bolezen se ponavadi začne v bezgavkah in se sčasoma razširi na druge bezgavčne skupine, zunajbezgavčne organe in vranico. HL zdravimo s kemoterapijo, obsevanjem, ob ponovitvi bolezni pa z avtologno, izjemoma z alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic, če je bolnik v primerni kondiciji za tovrstno zdravljenje in doseže ustrezno remisijo bolezni s konvencionalnim zdravljenjem. Za zdravljenje ponovitev bolezni in primarno neodzivne bolezni je že uveljavljeno novo biološko zdravilo brentuksimab vedotin.

Prognoza HL je odlična, več kot 80 % bolnikov pozdravimo. V zadnjih desetletjih je bil narejen velik napredek na področju diagnostike in zdravljenja bolnikov s HL, tako na področju učinkovite polikemoterapije, novih tehnik obsevanja in kombiniranega zdravljenja kot tudi imunoterapije in podpornega zdravljenja. Danes je glavni izziv dodatno zmanjšanje toksičnih učinkov zdravljenja ob ohranjanju odličnega izida bolezni in izboljšanje preživetja bolnikov s slabimi napovednimi dejavniki, z neodzivno boleznijo in ponovitvami. Cilj zdravljenja HL je ozdravitev, ki pa jo moramo doseči s čim manj poznimi posledicami zdravljenja.

UVOD

Hodgkinov limfom (HL) ali včasih imenovan Hodgkinova bolezen je rak limfatičnega tkiva. Bolezen se imenuje po Thomasu Hodgkinu, angleškem patologu, ki je leta 1832 prvič opisal to nenavadno bolezen s zvečanimi bezgavkami in vranico. Vznikne iz zrelih B-celic v germinalnih centrih limfatičnega tkiva. Za bolezen so značilne maloštevilne Hodgkinove in večjedrne Reed-Sternbergove (HRS) celice, ki obsegajo 0,1–10 % celic prizadetega tkiva. So v bogatem vnetnem okolju, sestavljenem iz limfocitov, histiocitov, eozinofilcev, nevtrofilcev, plazmatk, fibroblastov in kolagenskih vlaken. HRS-celice izvirajo iz limfocitov B, ki so v procesu razvoja izgubili nekatere fenotipske značilnosti B-celic in postale odporne na celično smrt (1, 2).

Za HRS-celice je značilna nenadzorovana aktivacija številnih signalnih poti in transkripcijskih faktorjev, ki poteka deloma prek interakcij HRS-celic z različnimi celicami mikrookolja, deloma pa prek genetskih mutacij. Znano je, da je v patogenezo HL vpletena signalna pot prek jedrnega faktorja kapa B (NFkB). Le-ta sproži vnetni odziv in spodbudi prepis specifičnih genov, odgovornih za antiapoptozo, ter tako vodi v nenadzorovano proliferacijo

malignih limfocitov. Prek omenjenega faktorja deluje tudi virus Epstein-Barr (EBV), ki velja za enega od dejavnikov pri razvoju HL pri EBV-pozitivnih bolnikih (3).

Primeri HL obsegajo 10 % vseh limfomov in okrog 0,6 % vseh rakov. Incidenca HL v Evropi in ZDA je zadnja desetletja stabilna, 2–3/100.000 prebivalcev; med črnci in Azijci je nižja. Starostna porazdelitev je bimodalna, najpogostejše zbolijo mladi med 15 in 34 letom, sledijo jim starejši po 55 letu starosti. Moški zbolijo nekoliko pogostejše kot ženske (4, 5). V Sloveniji zbolijo okrog 40 do 65 bolnikov letno. V letu 2010 je po podatkih Registra raka RS zbolelo 62 bolnikov (6).

Za bolezen je značilna infiltracija bezgavke z malignimi limfociti, od koder se postopoma širi v sosednje bezgavke in sčasoma preide na druge organe. Ob razširjeni bolezni se pojavijo sistemski znaki bolezni.

Hodgkinove limfome razdelimo glede na morfologijo in imunofenotipske značilnosti celic po Klasifikaciji SZO v dve skupini: klasični HL, ki zajema 95 % primerov, in nodularno limfocitno predominanco (NLPHL), ki zajema okrog 5 % primerov (7).

KLASIČNI HODGKINOV LIMFOM

Tumorske celice izvirajo iz zrelih B-celic, ki so izgubile glavne imunofenotipske značilnosti B-celic in kažejo koekspresijo markerjev različnih hematopoetskih celic (1). HRS-celice na površini izražajo CD30 in CD15, CD20 pa v manj kot 40 %. Ponavadi so CD45-negativne. Glede na morfološki videz tumorskih celic in sestavo reaktivnega ozadja poznamo 4 podvrste klasičnega HL:

- nodularna skleroza (70 %)
- mešanocelični tip (20–25 %)
- z limfociti bogati klasični HL (5 %)
- limfocitna deplecija (< 1 %).

Nodularna limfocitna predominanca (NLPHL) je redkejši tip HL (8), ki bo opisan posebej.

Etiologija

Natančni vzrok HL ni povsem pojasnjen, je pa z razvojem bolezni povezanih več dejavnikov:

- okužba z virusom Epstein-Barr (EBV) in prebolela infekcijska mononukleoza sta povezana z večjim tveganjem HL. EBV je eden najpogostejših virusov v naravi, s katerim je prekužene 90 % populacije. Pri približno

40 % bolnikov s klasičnim HL najdemo EBV v tumorskih celicah. Virusni onkogeni potencial povezujejo z zmožnostjo okužbe in transformacije B-limfocitov, ki izgubijo sposobnost apoptoze. Kljub temu pa natančen mehanizem razvoja HL po okužbi z EBV ni znan (9).

- zmanjšana imunska odpornost. Bolniki z zmanjšano imunsko odpornostjo, povezano z jemanjem imunosupresivnih zdravil, okužbo s HIV, presaditvijo organov in bolniki z avtoimunskimi boleznimi (revmatoidni artritis, SLE, sarkoidoza), so bolj ogroženi s HL (10, 11).
- pozitivna družinska anamneza. Ožji družinski član bolnika s HL ima 3–5-krat več možnosti, da bo zbolel za HL kot član splošne populacije; mlajši bratje in sestre zbolelega so kar 7-krat bolj ogroženi s HL, identični dvojčki pa še veliko bolj. Važni sta torej genetska predispozicija in izpostavljenost dejavnikom skupnega okolja (12).
- višji socialnoekonomski položaj povezujejo z večjo zbolevnostjo otrok za podtipom HL nodularna skleroza, medtem ko ravno obratno velja za mešanocelični podtip HL. Razlog za prvi podtip je menda poznejša izpostavljenost otrok raznim infekcijskim agensom in faktorjem okolja (13).

Klinična slika

Bolezen se pri 60–80 % bolnikov začne z zvečanimi, nebolečimi bezgavkami, najpogostejše na vratu in v nadključničnih kotanjah. Redkeje (v 10–20 %) so zvečane bezgavke v pazduhah in še redkeje (v 6–10 %) v dimeljskih bezgavkah. Bolniki imajo v 70 % zvečane mediastinalne bezgavke, ki se lahko združujejo v pakete in povzročajo simptome, kot so suh dražeč kašelj, težko dihanje in bolečina za prsnico. Lahko imajo perikardialni izliv in manjši ali večji plevralni izliv. Zvečane retroperitonealne bezgavke ima okrog 25 % bolnikov, bolezen izključno pod prepono pa manj kot 10 % bolnikov.

B-simptomi so večinoma odsev napredovale bolezni: hujšanje oz. izguba telesne teže za več kot 10 %, izrazito nočno potenje in nad 38 °C povišana temperatura brez jasnih znakov okužbe. Srbenje kože je lahko zgodnji znak HL, ki ga ima do 15 % bolnikov. Bolniki imajo lahko zvečano vranico. Možni so tudi paraneoplastični pojavi, kot so kožne lezije, alkoholna bolečina, hiperkalcemija, nevrološka simptomatika in drugo (14).

Diagnoza

Za diagnozo je ključna histopatološka preiskava odvzete bezgavke ali tkiva prizadetega organa. Natančni anamnezi in kliničnemu pregledu bolnika sledijo laboratorijske in slikovne preiskave. Laboratorijske preiskave poleg celotne krvne slike, sedimentacije in biokemije vključujejo serologijo za hepatitis B, C in HIV. V krvnih izvidih so pogoste povišana sedimentacija, reaktivna levkocitoza in limfopenija. Slikovne preiskave obsegajo CT vratu,

prsnega koša in trebuha. Pozitronska emisijska tomografija (PET) je glede na evropska klinična priporočila potrebna pri vseh bolnikih z novoodkritim HL pred uvedbo zdravljenja, in sicer za opredelitev pravilnega stadija bolezni in oceno učinka zdravljenja (15). Glede na visoko specifičnost PET/CT preiskave, biopsija kostnega mozga ni več obvezna preiskava za zamejitev bolezni. Kostni mozeg je prizadet pri približno 5–8 % bolnikov z napredovalim HL, kar pa ne vpliva na shemo zdravljenja, in pri manj kot 1 % bolnikov z zgodnjim stadijem bolezni, kar pa je premajhen delež, da bi upravičil agresivnost preiskave (16). Bolnikom, predvidenim za zdravljenje z antraciklini ali z bleomicinom, naredimo ultrasonografijo srca in oceno pljučne funkcije.

Zdravljenje HL lahko povzroči sterilnost, na kar vpliva več dejavnikov, kot so bolnikova starost, reprodukativni status pred zdravljenjem in obseg bolezni, predvsem pa vrsta kemoterapije, doza alkilirajočih citostatikov in obsevanje male medenice. Sterilnost po shemi BEACOPP v eskaliranih odmerkih nastane pri več kot 50 % pri ženskah in okrog 80 % pri moških (17). Vse mlajše bolnike napotimo na kriokonzervacijo sperme, bolnice pa na ohranitvene postopke zamrzovanja jajčnih celic, če je to časovno izvedljivo.

Zdravljenje

Na izbiro zdravljenja pri HL v prvi vrsti vplivata stadij bolezni in prognostični dejavniki. Seveda je pomembno tudi bolnikovo splošno stanje in spremljajoče bolezni. Pomembno je vedeti, da večino bolnikov s HL pozdravimo, vendar pa umrljivost ozdravljenih bolnikov leta pozneje naraste zaradi poznih zapletov zdravljenja, od katerih so na prvem mestu drugi raki in kardiovaskularne bolezni.

Glede na stadij bolezni in prognostične dejavnike razdelimo bolnike v tri skupine:

- z omejeno boleznijo brez neugodnih napovednih dejavnikov (stadij I in II);
- z omejeno boleznijo z neugodnimi napovednimi dejavniki;
- z razširjeno boleznijo (stadij III in IV, v nemški skupini za HL* tudi stadij IIB z določenimi neugodnimi napovednimi dejavniki, kot sta velik mediastinum in ekstrapnodalna bolezen).

*Najpogosteje se uporabljata opredelitvi neugodnih napovednih dejavnikov *Nemške skupine za HL* (German Hodgkin Study Group, GHSG) in *Evropske skupine za raziskave in zdravljenje raka* (European Organisation for Research and Treatment of Cancer, EORTC):

GHSG: velik mediastinum ($> 1/3$ največjega premera prsnega koša), ekstrapnodalna bolezen, povišana sedimentacija (ESR > 50 mm/h) brez

B-simptomov ali > 30 mm/h z njimi, prizadetost bezgavk v treh ali več regijah (18).

EORTC: velik mediastinum, starost ≥ 50 let, povišana sedimentacija eritrocitov >50 mm/h brez B-simptomov ali > 30 mm/h z B-simptomi, ≥ 4 prizadete regije bezgavk (19).

Glavni kemoterapevtski shemi, ki ju uporabljamo v zdravljenju HL, sta ABVD (doksorubicin, bleomicina, vinblastin in dakarbazinom) in BEACOPP (bleomicin, etopozid, doksorubicin, ciklofosamid, vinkristin, prokarbazin, prednizon).

Zdravljenje pri omejeni bolezni brez neugodnih napovednih dejavnikov

Zdravljenje je kombinirano, s kratkotrajno kemoterapijo po shemi ABVD, ki ji sledi obsevanje prizadetih lokacij. Na podlagi rezultatov velike multicentrične raziskave, v katero je bilo vključenih 1.370 bolnikov z zgodnjim stadijem HL brez neugodnih prognostičnih dejavnikov, se je izkazalo, da za te bolnike zadoščata dva ciklusa kemoterapije po shemi ABVD, ki ji sledi obsevanje prizadetih lokacij z dozo 20 Gy. Glede preživetja in časa do napredovanja bolezni je ta kratkotrajna shema primerljiva prej standardnemu zdravljenju s 4 cikli ABVD in obsevanju z dozo 30 Gy (18).

Zdravljenje pri omejeni bolezni z neugodnimi napovednimi dejavniki

Shema ABVD ostaja zlati standard za te bolnike. Bolnike s stadijem I in II z enim ali več neugodnimi napovednimi dejavniki po doktrini zdravimo s 4 cikli ABVD in obsevanjem prizadetih lokalizacij z dozo 30 Gy (15, 20).

Zdravljenje pri razširjeni bolezni; zajema stadije III in IV in v nekaterih državah tudi stadij IIB

Bolnike s stadijem III in IV ponavadi zdravimo samo s kemoterapijo bodisi po shemi ABVD ali BEACOPP, obsevamo pa le vitalni ostanek bolezni. Bolnike, mlajše od 60 let, zdravimo s šestimi cikli kemoterapije po shemi BEACOPP v eskaliranih odmerkih in obsevanjem PET/CT-pozitivnega ostanka bolezni, večjega kot 2,5 cm, ali 8 cikli ABVD, v ZDA uveljavljeno shemo in obsevanjem ostanka bolezni, večjega kot 1,5 cm (21, 22). Zadnje analize kažejo, da pri bolnikih, ki imajo po končanem zdravljenju negativen izvid PET/CT, obsevanje lahko opustimo (23). Več prospektivnih randomiziranih raziskav, ki so primerjale shemi ABVD in BEACOPP, je pokazalo, da slednja zagotavlja boljši nadzor nad boleznijo. Nedavno objavljena meta-analiza je pokazala, da je preživetje v 5 letih pri BEACOPP z eskaliranimi odmerki za 10 % boljše kot pri ABVD (24). Problem sheme BEACOPP so

hujši toksični sopojavi – večja akutna toksičnost z zapleti zaradi hude supresije kostnega mozga, neplodnost in večja pozna umrljivost zaradi drugih rakov.

Standardno zdravljenje bolnikov, starejših od 60 let, je 6–8 ciklusov ABVD; če po 4. ciklusu ni remisije, se doda obsevanje. Shema BEACOPP za to skupino bolnikov ni primerna, ker ima prehude stranske učinke (25).

Raziskave skušajo zmanjšati intenziteto zdravljenja ob enaki ali celo večji učinkovitosti. Izvid PET/CT po dveh ciklikih kemoterapije je dober pokazatelj uspešnosti zdravljenja pri bolnikih z napredovalim HL (26), vendar ta preiskava zaenkrat še ni standardna; delamo jo le pri bolnikih, vključenih v klinične raziskave.

Zdravljenje pri ponovitvi bolezni in pri primarno neodzivni bolezni

Približno 10 % bolnikov z omejeno boleznijo in 20–30 % bolnikov z napredovalim HL ima primarno neodzivno bolezen oziroma se jim bolezen ponovi. Pri ponovitvah je zdravljenje izbire avtologna presaditev krvotvornih matičnih celic, včasih pa konvencionalna kemoterapija. Tudi po dveh ali več ponovitvah bolezni je mogoče doseči dolgotrajno remisijo bolezni.

Avtologna presaditev krvotvornih matičnih celic pride v poštev pri bolnikih, ki se jim bolezen ponovi zgodaj, v manj kot enem letu, v primerih primarno neodzivne bolezni, pri obsežnih sistemskih ponovitvah ter pri ponovitvi po konvencionalnem zdravljenju prve ponovitve bolezni. Za presaditev so primerni samo bolniki s kemosenzibilno boleznijo. Le pri takih bolnikih se lahko nadejamo uspeha visokodoznega zdravljenja. Ozdravitev po visokodoznem zdravljenju dosežemo pri okrog polovici bolnikov s kemosenzibilno ponovitvijo bolezni (27). Bolnike, pri katerih ponovitev ni obsežna, lahko zdravimo s konvencionalno kemoterapijo drugega reda, npr. po shemi BEACOPP, če je niso bili deležni že pri prvem zdravljenju (28). Bolnike z lokalizirano pozno ponovitvijo lahko samo obsevamo (29).

Alogenska transplantacija je možna za zdravljenje mladih kemosenzitivnih bolnikov v dobrem splošnem stanju, s ponovitvijo bolezni po avtologni transplantaciji. Pri alogenski transplantaciji skušamo izkoristiti reakcijo presadka proti HL. Smrtnost zdravljenja je zaradi zapletov visoka, okrog 20-odstotna, zato alogenska transplantacija ne spada med standardna zdravljenja in se priporoča bolnikom v okviru kliničnih raziskav (30, 31).

Danes je za zdravljenje odraslih bolnikov z neodzivnim ali ponovljenim CD30-pozitivnim HL na voljo novo tarčno zdravilo brentuksimab vedotin. Gre za kombinacijo protitelesa proti CD30 in mikrotubulnega toksina, ki se veže na celice, ki na svoji površini izražajo antigen CD30. Je zelo učinkovito zdravilo, saj je v klinični raziskavi faze II doseglo kar 75 % odzivov pri

bolnikih s ponovitvijo bolezni po avtologni transplantaciji (32). Zaenkrat se uporablja kot monoterapija in je registrirano za bolnike s ponovljenim HL po avtologni transplantaciji oz. po dveh linijah konvencionalnega zdravljenja.

Če bolnikov ne moremo pozdraviti in je standardno zdravljenje izčrpano, se odločimo za blažilno (paliativno) zdravljenje, ki je lahko monoterapija z gemcitabinom ali lokalno obsevanje. Možno je tudi zdravljenje z bretuksimab vedotinom. Na ta način bolnikom lahko zagotovimo zadovoljivo kvaliteto življenja, lahko pa tudi dolgotrajno stagnacijo ali celo remisijo bolezni (33).

HODGKINOV LIMFOM TIPA NODULARNA LIMFOCITNA PREDOMINANCA

HL nodularna limfocitna predominanca (NLPHL) je redkejši tip HL, za katerega so značilne tumorske celice limfocitne predominance (LP), ki so v glavnem zadržale imunofenotipske značilnosti B-celic in so običajno CD20-pozitivne ter CD15- in CD30-negativne (8).

Od vseh ostalih oblik HL se razlikuje po histopatološki sliki, imunofenotipu in kliničnem poteku. Bolezen se pojavi kasneje, med 30. in 40. letom starosti, pogostejše pri moških. Večino bolnikov, 70–80 %, odkrijemo v zgodnjem stadiju, mediastinum je redko prizadet, tudi neugodni prognostični dejavniki so redki. Prognoza bolezni je dobra, pogoste pa so pozne ponovitve (5).

Ker gre za redko obliko HL, je prospektivnih podatkov malo in optimalno zdravljenje ni znano. Bolnike s stadijem IA uspešno zdravimo z obsevanjem prizadetega mesta z dozo 30 Gy. Višje stadije bolezni zdravimo enako kot ostale podtipke klasičnega HL (15, 34, 35). Ker so tumorske celice CD20-pozitivne, pride v poštev zdravljenje z anti-CD20 monoklonskim protitelesom rituksimabom, kar pa žal ni podprto z izsledki prospektivnih raziskav.

Ob ponovitvi bolezni je potrebna ponovna biopsija, saj je možnost transformacije v difuzni velikocelični B-limfom po podatkih iz literature kar 8–14-odstotna v 4–8 letih od postavitve diagnoze (36). Lokalizirane ponovitve lahko uspešno zdravimo z rituksimabom v monoterapiji (37). Bolniki z obsežno ponovitvijo bolezni potrebujejo agresivnejše zdravljenje, po možnosti v kombinaciji z anti-CD20-monoklonskim protitelesom, čeprav za uspešnost še ni dokazov iz prospektivnih raziskav.

SLEDENJE STANJA BOLNIKOV

Po končanem zdravljenju stanje bolnikov spremljamo z rednimi pregledi ter laboratorijskimi in slikovnimi preiskavami: po evropskih priporočilih prvo leto na tri do štiri mesece, nato do četrtega leta dvakrat letno, kasneje enkrat

letno. CT naredimo enkrat po končanem zdravljenju za potrditev remisije bolezni, nato pa glede na klinične simptome (15). Preiskave s PET/CT zaenkrat ne priporočajo rutinsko, ker ima relativno veliko lažno pozitivnih izvidov. Pozitivna napovedna vrednost je okrog 65-odstotna. Razlogi za lažno pozitivni izvid PET/CT po zdravljenju so lahko vnetne spremembe po kemoterapiji in obsevanju, hiperplazija priželjca in okužbe. Zato je morebitno ponovitev nujno potrebno dokazati histološko (38, 39). Pri bolnikih redno opravljamo presejalne teste za odkrivanje drugih rakov, ki so glavni razlog smrti dolgoletno preživelih. Tveganje za nastanek drugih rakov se precej zveča 10 let po zaključenem zdravljenju. Med njimi sta najpogostejša rak dojke in rak pljuč, med hematološkimi raki pa akutne levkemije in ne-Hodgkinovi limfomi. Pri bolnicah po obsevanju pazduh in mediastinuma se priporoča mamografija enkrat na leto, in sicer prva 10 let po zdravljenju oz. po 40. letu starosti. Potrebno je tudi iskanje drugih poznih posledic zdravljenja, med katerimi so najpomembnejše srčnožilne bolezni, hipotiroidizem po obsevanju vratu in motnje plodnosti (40). Incidenca poznih zapletov narašča s časom sledenja.

PROGNOZA

Prognoza bolnikov s HL je odlična, pozdravimo več kot 80 % bolnikov. Zelo pomemben razlog obolevnosti in smrtnosti ozdravljenih bolnikov s HL so pozne posledice zdravljenja. Priporoča se skrbno spremljanje bolnikov, da se pozne posledice čim prej odkrijejo, saj le to zagotavlja boljšo obravnavo in daljše preživetje.

LITERATURA

1. Küppers R. Molecular biology of Hodgkin lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 491–6.
2. Thomas RK, Re D, Wolf J, Diehl V. Part I: Hodgkin's lymphoma – molecular biology of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. *Lancet Oncol* 2004; 5: 11–8.
3. Küppers R, Engert A, Hansmann ML. Hodgkin lymphoma. *J Clin Invest* 2012; 122: 3439–47.
4. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, et al. HAEMACARE Working Group, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010; 116: 3724–34.
5. Townsend W, Linch D. Hodgkin's lymphoma in adults. *Lancet* 2012; 380 (9844): 836–47.
6. Rak v Sloveniji 2010. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana, Epidemiologija in register raka, Register raka Republike Slovenije, 2013.
7. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
8. Lee AI, LaCasce AS. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma. *Oncologist* 2009; 14: 739–751.

9. Hjalgrim H, Askling J, Rostgaard K, Hamilton-Dutoit S, Frisch M, Zhang JS, et al. Characteristics of Hodgkin's lymphoma after infectious mononucleosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 1324–32.
10. Cartwright RA, Watkins G. Epidemiology of Hodgkin's disease: a review. *Hematol Oncol* 2004; 22: 11–26.
11. Landgren O, Pfeiffer RM, Kristinsson SY, Björkholm M. Survival patterns in patients with Hodgkin's lymphoma with a pre-existing hospital discharge diagnosis of autoimmune disease. *J Clin Oncol* 2010; 28: 5081–7.
12. Goldin LR, Björkholm M, Kristinsson SY, Turesson I, Landgren O. Highly increased familial risks for specific lymphoma subtypes. *Br J Haematol* 2009; 146: 91–4.
13. Glaser SL. Regional variation in Hodgkin's disease incidence by histologic subtype in the US. *Cancer* 1987; 60: 2841–7.
14. Mauch PM, Kalish LA, Kadin M, Coleman CN, Osteen R, Hellman S. Patterns of presentation of Hodgkin disease. Implications for etiology and pathogenesis. *Cancer* 1993; 71: 2062–71.
15. Eichenauer DA, Engert A, André M, Federico M, Illidge T, Hutchings M, et al. ESMO guidelines working group. Hodgkin's lymphoma: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncology* 2014; 25 (Suppl 3): iii70–5.
16. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25: 579–86.
17. Behringer K, Breuer K, Reineke T, May M, Nogova L, Klimm B, et al. Secondary amenorrhea after Hodgkin's lymphoma is influenced by age at treatment, stage of disease, chemotherapy regimen, and the use of oral contraceptives during therapy: a report from the German Hodgkin's Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7555–64.
18. Engert A, Plütschow A, Eich HT, Lohri A, Dorken B, Borchmann P, et al. Reduced treatment intensity in patients with early-stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2010; 363: 640–52.
19. Cosset JM, Henry-Amar M, Meerwaldt JH, Carde P, Noordijk EM, Thomas J, et al. The EORTC trials for limited stage Hodgkin's disease. The EORTC lymphoma cooperative group. *Eur J Cancer* 1992; 28A (11): 1847–50.
20. Eich HT, Diehl V, Görgen H, Pabst T, Markova J, Debus J, et al. Intensified chemotherapy and dose-reduced involved-field radiotherapy in patients with early unfavorable Hodgkin's lymphoma: final analysis of the German Hodgkin study group HD11 trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4199–206.
21. Engert A, Haverkamp H, Kobe C, Markova J, Renner C, Ho A, et al. Reduced-intensity chemotherapy and PET-guided radiotherapy in patients with advanced stage Hodgkin's lymphoma (HD15 trial): a randomised, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2012; 379: 1791–9.
22. Canellos GP, Niedzwiecki D, Johnson JL. Long-term follow-up of survival in Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2009; 361: 2390–1.
23. Kobe C, Kuhnert G, Kahraman D, Haverkamp H, Eich HT, Franke M, et al. Assessment of tumor size reduction improves outcome prediction of positron emission tomography/computed tomography after chemotherapy in advanced-stage Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2014; 32: 1776–81.
24. Skoetz N, Trelle S, Rancea M, Haverkamp H, Diehl V, Engert A, et al. Effect of initial treatment strategy on survival of patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet Oncol* 2013; 14: 943–52.
25. Ballova V, Rüffer JU, Haverkamp H, Pfistner B, Muller-Hermelink HK, Duhmke E, et al. A prospectively randomized trial carried out by the German Hodgkin study group (GHSG) for elderly patients with advanced Hodgkin's disease comparing BEACOPP baseline and COPP-ABVD (study HD9elderly). *Ann Oncol* 2005; 16: 124–31.

26. Hutchings M, Loft A, Hansen M, Pedersen LM, Buhl T, Jurlander J, et al. FDG-PET after two cycles of chemotherapy predicts treatment failure and progression-free survival in Hodgkin lymphoma. *Blood* 2006; 107: 52–9.
27. Schmitz N, Pfistner B, Sextro M, Sieber M, Carella AM, Haenel M, et al. Aggressive conventional chemotherapy compared with high-dose chemotherapy with autologous haemopoietic stem-cell transplantation for relapsed chemosensitive Hodgkin's disease: a randomised trial. *Lancet* 2002; 359: 2065–71.
28. Sieniawski M, Franklin J, Nogova L, Glossmann JP, Schober T, Nisters-Backes H, et al. Outcome of patients experiencing progression or relapse after primary treatment with two cycles of chemotherapy and radiotherapy for early-stage favorable Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2000–5.
29. Josting A, Nogova L, Franklin J, Glossmann JP, Eich HT, Sieber M, et al. Salvage radiotherapy in patients with relapsed and refractory Hodgkin's lymphoma: a retrospective analysis from the German Hodgkin lymphoma study group. *J Clin Oncol* 2005; 23: 1522–9.
30. Sureda A, Robinson S, Canals C, Carella AM, Boogaerts MA, Caballero D, et al. Reduced-intensity conditioning compared with conventional allogeneic stem-cell transplantation in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma: an analysis from the Lymphoma working party of the European group for blood and marrow transplantation. *J Clin Oncol* 2008; 26: 455–62.
31. Peggs KS, Hunter A, Chopra R, Parker A, Mahendra P, Milligan D, et al. Clinical evidence of a graft-versus-Hodgkin's-lymphoma effect after reduced-intensity allogeneic transplantation. *Lancet* 2005; 365: 1934–41.
32. Younes A, Gopal AK, Smith SE, Ansell SM, Rosenblatt JD, Savage KJ, et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2183–9.
33. Santoro A, Bredenfeld H, Devizzi L, Tesch H, Bonfante V, Viviani S, et al. Gemcitabine in the treatment of refractory Hodgkin's disease: results of a multicenter phase II study. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2615–9.
34. Nogová L, Reineke T, Eich HT, Josting A, Müller-Hermelink, Wingbermühle K, et al. Extended field radiotherapy, combined modality treatment or involved field radiotherapy for patients with stage IA lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma: a retrospective analysis from the German Hodgkin study group (GHSG). *Ann Oncol* 2005; 16: 1683–87.
35. Nogová L, Reineke T, Brillant C, Sieniawski M, Rudiger T, Josting A, et al. Lymphocyte-predominant and classical Hodgkin's lymphoma: a comprehensive analysis from the German Hodgkin study group. *J Clin Oncol* 2008; 26: 434–9.
36. Al-Mansour M, Connors JM, Gascoyne RD, Skinnider B, Savage KJ. Transformation to aggressive lymphoma in nodular lymphocyte-predominant Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28: 793–9.
37. Schulz H, Rehwald U, Morschhauser F, Elter T, Driessen C, Rudiger T, et al. Rituximab in relapsed lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma: long-term results of a phase 2 trial by the German Hodgkin Lymphoma study group (GHSG). *Blood* 2008; 111: 109–11.
38. Cheson BD. Hodgkin lymphoma: protecting the victims of our success. *J Clin Oncol* 2012; 30: 4456–7.
39. Petrausch U, Samaras P, Veit-Haibach P, Tschopp A, Soyka JD, Knuth A, et al. Hodgkin's lymphoma in remission after first-line therapy: which patients need FDG-PET/CT for follow-up? *Ann Oncol* 2010; 21: 1053–7.
40. Mauch P, Ng A, Aleman B, Carde P, Constine L, Diehl V, et al. Report from the Rockefeller foundation sponsored international workshop on reducing mortality and improving quality of life in long-term survivors of Hodgkin's disease. *Eur J Haematol Suppl* 2005: 68–76.

LIMFOIDNE IN MIELOIDNE NEOPLAZME V OTROŠKEM OBDOBJU

Janez Jazbec, Lidija Kitanovski

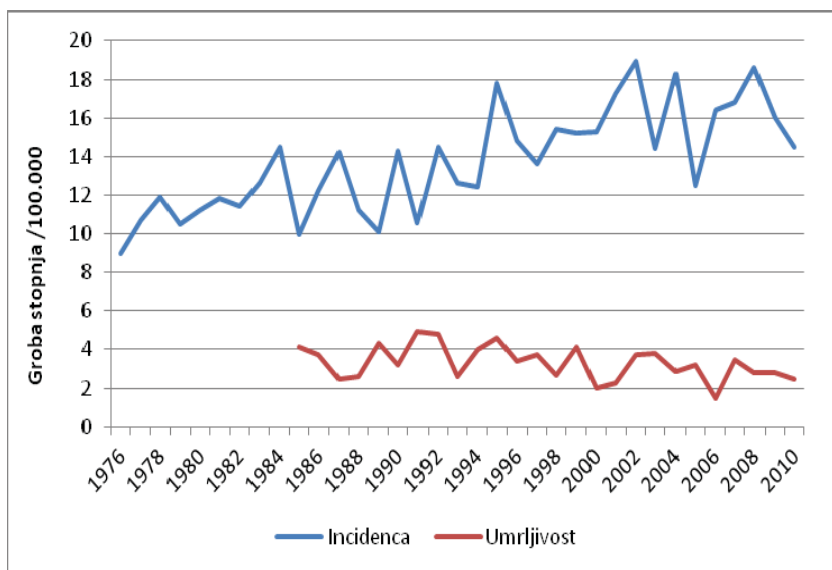
Povzetek. Rak pri otrocih je redka bolezen. Najpogostejše maligne neoplazme pri otrocih so akutne levkemije, ki obsegajo četrtno vseh novih primerov raka. V zdravljenju otroških levkemij je bil dosežen velik napredek, ki je predvsem posledica sistematičnega sodelovanja vrste centrov pri optimizaciji diagnostičnih in terapevtskih pristopov. V prispevku predstavljamo rezultate zdravljenja otroških akutnih levkemij v Sloveniji.

UVOD

Rak je v otroškem obdobju redka bolezen, saj je letno le manj kot 1 % vseh novih bolnikov z rakom mlajših od 15 let. Kljub redkosti in napredku v zdravljenju pa je rak še vedno eden najpogostejših vzrokov smrti pri otrocih po neonatalnem obdobju. V razvitem svetu letno umre več otrok zaradi raka kot zaradi cistične fibroze, sladkorne bolezni, astme in prirojenih nepravilnosti skupaj. Ocenjujejo, da je incidenca raka pri osebah, mlajših od 19 let, v razvitem svetu okrog 165/1,000.000. V Sloveniji je bilo v letih 2006–2010 odkritih med 60 in 70 novih primerov letno. V zadnjih 30 letih je bilo v svetu zaznati zmerno zvečanje incidenčne stopnje – v ZDA z 129/1,000.000 v letu 1975 na 175/1,000.000 v letu 2009, hkrati pa se je umrljivost zmanjšala z 51 na 27/1.000.000 (1). Tudi v Sloveniji se je incidenčna stopnja v obdobju 1975–2010 zvečala s 97 na 145/1,000.000, umrljivostna pa padla z 41 leta 1985 na 25/1.000.000 leta 2010 (Slika 1) (2).

Ker je bolezen redka, diagnostični in terapevtski postopki pa zahtevni in – ne nazadnje – zaradi specifične obravnave po zaključenem zdravljenju, poteka v Sloveniji obravnava otrok z rakom že več desetletij v enem samem otroškem onkološkem centru, v katerem pa sodelujejo strokovnjaki iz različnih ustanov (Pediatrična klinika v Ljubljani, UKC Ljubljana, Onkološki inštitut Ljubljana, inštituti Medicinske fakultete v Ljubljani, Univerzitetni inštitut RS za rehabilitacijo idr.).

Pomembno mesto v otroški onkologiji imajo prav hematološke oziroma limfoidne neoplazme. Akutna levkemija je najpogostejši malignom otroške dobe, sledijo ji možganski tumorji, tem pa po pogostosti sledijo limfomi z 10–13 % novo odkritih rakavih bolezni v tem starostnem obdobju.



Slika 1. Incidenca raka in umrljivost zaradi raka pri otrocih in mladostnikih do 20. leta starosti; Slovenija, 1976–2010 (2).

AKUTNA LIMFOBLASTNA LEVKEMIJA

Akutna limfoblastna levkemija (ALL) ima svoj vrh med drugim in šestim letom starosti, v najstniškem obdobju pa se večja delež bolnikov z akutno mielo-blastno levkemijo. V Sloveniji je v zadnjih 20 letih za akutno limfoblastno obliko levkemije zbolelo povprečno 13 otrok letno.

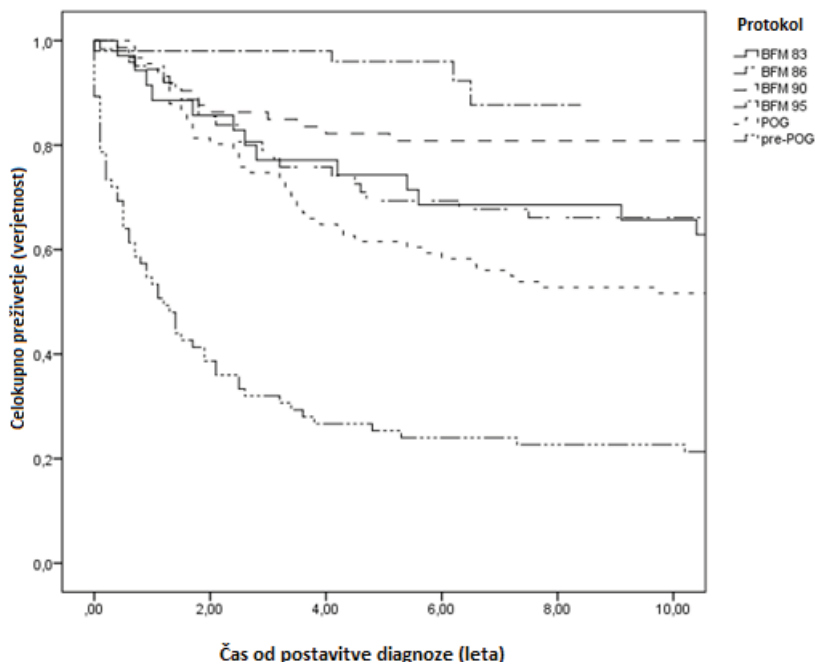
Zdravljenje otrok z ALL po mednarodnih terapevtskih shemah se je v Slo-veniji začelo v letu 1973, ko je bila privzeta ameriška shema POG (*Pediatric Oncology Group*). Od leta 1983, ko smo prešli na sheme, ki jih je oblikovala skupina BFM (Berlin, Frankfurt, Münster), v Sloveniji sledimo smernicam, ki jih je za zdravljenje otroške ALL prevzel večji del srednjeevropskih držav. Od leta 2002 Slovenija tudi aktivno sodeluje v razvoju protokolov zdravlje-nja otroške ALL. V tabeli 1 in na sliki 2 prikazujemo analizo uspešnosti zdravljenja ALL pri otrocih v Sloveniji po posameznih časovnih obdobjih.

Celokupno preživetje otrok, zdravljenih zaradi ALL, se je pomembno izboljšalo. Rezultati zdravljenja v Sloveniji so primerljivi z rezultati v podobnih centrih v Evropi, pri čemer je zanimivo dejstvo, da bazira praktično celotno zdravljenje ALL na starih citostatikih, med katerimi je bil kot zadnji za uporabo v humani medicini odobren adriamicin leta 1964 (2). Bistvo napredka v

primeru otroške ALL torej ni v uporabi novejših zdravil, ampak v optimizaciji uporabe že znanih citostatikov, boljšemu obvladovanju stranskih učinkov in zapletov zdravljenja ter boljšem poznavanju biologije bolezni, ki je podlaga za razvrščanje bolnikov v skupine tveganja, katerim je prilagojena intenzivnost zdravljenja.

Tabela 1. Analiza uspešnosti zdravljenja akutne limfoblastne levkemije pri otrocih v Sloveniji po obdobjih posameznih protokolov zdravljenja (POG – protokol Pediatric Oncology Group, BFM – protokol Berlin, Frankfurt, Münster)

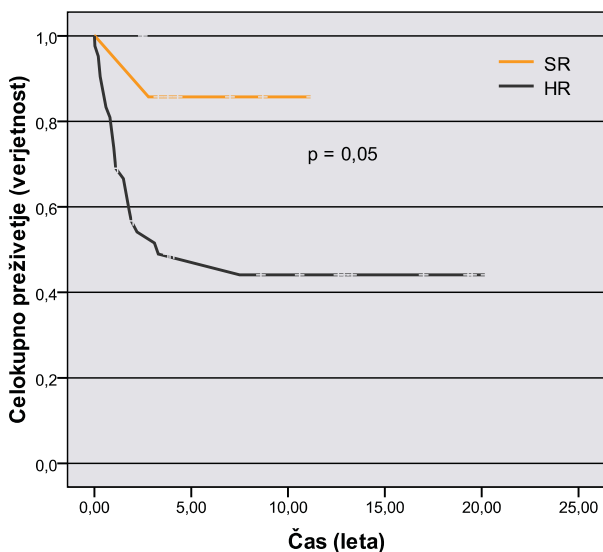
Protokol zdravljenja	Pred POG	POG	BFM 83	BFM 86	BFM 90	BFM 95
Število bolnikov [n]	75	91	35	62	73	50
Živi [n]	15	47	21	40	59	46
Preživetje [%]	20	52	60	65	81	92
Tveganje	Število					
majhno	/	1	16	30	25	18
srednje	/	7	/	/	42	26
veliko	/	7	15	32	6	6
Tveganje	Preživetje [število in odstotni delež]					
majhno	/	1 (100)	9 (56)	19 (63)	24 (96)	17 (94)
srednje	/	4 (57)	/	/	33 (79)	25 (96)
veliko	/	3 (42)	8 (53)	21 (66)	2 (33)	4 (67)
Starost [let] ob diagnozi	Število					
< 1	7	4	2	1	3	0
1–9	56	79	24	50	47	39
> 10	12	8	9	11	23	10
	Preživetje [število in (odstotni delež)]					
< 1	1 (14)	2 (50)	2 (100)	0 (0)	2 (67)	0 (0)
1–9	11 (20)	42 (53)	15 (63)	32 (64)	42 (89)	38 (97)
> 10	3 (25)	3 (38)	4 (44)	8 (73)	15 (65)	8 (80)
	Relapsi [število in (odstotni delež)]					
	/	58 (64)	13 (37)	20 (32)	11 (15)	8 (16)
	Sekundarni tumor [število]					
	/	6	3	2	1	1



Slika 2. Celokupno preživetje otrok, zdravljenih zaradi akutne limfoblastne levkemije v Sloveniji od leta 1967 do 2004, glede na uporabljeni protokol zdravljenja.

AKUTNA MIELOBLASTNA LEVKEMIJA

Akutna mieloblastna levkemija (AML) je druga najpogostejša oblika levkemij pri otrocih, ki se pojavlja predvsem pri starejših otrocih, pri nas v 14 % primerov levkemij (oziroma v nekaj več kot dveh primerih letno). Čeprav je AML predvsem bolezen odraslih z mediano starosti 65 let, je v otroški populaciji druga najpogostejša oblika levkemije (15–20 % vseh levkemij). Seveda gre za heterogeno skupino akutnih mieloidnih neoplazem, katerih klasifikacija je temeljila na morfoloških značilnostih, v zadnjih letih pa tako v klasifikaciji kot tudi po napovedni vrednosti vse večjo vrednost dobivajo citogenetski označevalci. Relativna pogostost AML je v starostni skupini do 10 let 13–14 %, v obdobju od 15–19 let pa 36 %. Izid zdravljenja otrok z AML se je znatno izboljšal v zadnjih treh desetletjih. Izboljšanje smo dosegli z vključevanjem pediatričnih bolnikov v klinične raziskave, z intenzivnejšim zdravljenjem (vključno s presaditvijo krvotvornih matičnih celic) ter z izboljšanjem podpornega zdravljenja. Stopnja ozdravitve otrok z AML še vedno zaostaja za stopnjo ozdravitve otrok z ALL.



Slika 3. Ocena celokupnega preživetja otrok z akutno mieloblastno levkemijo glede na skupino tveganja (Kaplan Meierjeva analiza; $p = 0,05$).

SR – skupina z majhnim tveganjem; HR – skupina z velikim tveganjem

V Sloveniji smo v obdobju 1991–2010 na Oddelku za otroško hematologijo in onkologijo Pediatrične klinike v Ljubljani zdravili 50 otrok in mladostnikov z AML, 18 dečkov (36 %) in 32 deklic (64 %). V njihovi starostni razporeditvi sta dva vrhova, prvi v starosti 2,5 let, drugi pa v starosti 15 let. AML se je pojavila kot sekundarna neoplazma pri 4 bolnikih (8 %). Bolnike smo zdravili po protokolih BFM 83 (6 bolnikov), BFM 93 (11 bolnikov), BFM 98 (26 bolnikov) in BFM 04 (5 bolnikov). Dva smo zdravili po prilagojenem protokolu BFM, prvega zaradi osnovne bolezni (Fanconijev sindrom), drugega zaradi poprejšnjega zdravljenja zaradi germinoma centralnega živčnega sistema. V skupini z majhnim tveganjem je bilo 8 bolnikov (16 %), 42 bolnikov (84 %) je bilo v skupini z velikim tveganjem. S presaditvijo krvotvornih matičnih celic smo zdravili skupaj 17 bolnikov (34 %), 9 od njih v 1. remisiji, 8 pa v 2. remisiji. Pojav sekundarne neoplazme smo ugotovili pri enem bolniku, ki je 1,7 let po postavljeni diagnozi zbolel za Hodgkinovim limfomom. V času sledenja je umrlo 23 bolnikov (64 %), 14 (61 %) od njih zaradi napredovanja bolezni, 4 zaradi okužbe med zdravljenjem (17,4 %), 3 zaradi okužbe med PKMC (13 %); 1 bolnik je umrl kmalu po začetem zdravljenju zaradi intrakranialne krvavitve, 1 bolnica pa zaradi bolezni presadka proti gostitelju. Rezultati zdravljenja otrok z AML našega centra so primerljivi z rezultati drugih evropskih centrov, ki uporabljajo iste protokole (3).

ZAKLJUČEK

Načeloma je v otroški onkologiji uveljavljeno dejstvo, da so najboljši rezultati zdravljenja otrok z rakom pri tistih, ki so zdravljeni v okviru mednarodnih kliničnih raziskav. V ta namen poteka na ravni Evropske unije usklajena akcija, katere cilj je harmonizacija obravnave otroških rakov (4). Glavno gibalno akcije je mednarodno združenje otroških onkologov SIOPE. V letu 2014 je bila ustanovljena *Sekcija za otroško onkologijo pri Slovenskem zdravniškem društvu*, ki je istega leta postala polnopravna članica *Evropskega združenja za otroško onkologijo* SIOPE, s čimer so bili doseženi tudi formalni pogoji za aktivno sodelovanje v mednarodnih kliničnih raziskavah za optimizacijo otrok z rakom.

LITERATURA

1. http://www.epa.gov/envirohealth/children/health/childhood_cancer.html
2. www.slora.si
3. Avčin S, Prelog T, Kavčič M, Kitanovski L, Anžič J, Benedik-Dolničar M, et al. History of treatment and long-term outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia in Slovenia. MEMO 2011; 4 (3); 178–83.
4. Velikonja O, Stefanović M, Rajić V, Jazbec J. Zdravljenje in preživetje otrok z AML v Sloveniji v obdobju od leta 1991 do 2010. Zdrav Vestn 2012; 81 (Supl 2): 224–23.
5. Pritchard-Jones K, Lewison G, Camporesi S, Vassal G, Ladenstein R, Benoit Y, et al. The state of research into children with cancer across Europe: new policies for a new decade. Ecancer 2011; 5: 210.

BANKE POPKOVNIČNE KRVİ – MEDICINA IN POSEL

Primož Rožman, Metka Krašna, Marko Cukjati

Povzetek. V popkovnični krvi (PK) so krvotvorne matične celice (KMC), ki so uporabne za terapijo. Poleg KMC vsebuje PK še vrsto drugih matičnih celic, ki postajajo zanimive za uporabo v regenerativni medicini. Javne neprofitne banke popkovnične krvi shranjujejo leta 2014 že več kot 609.000 enot popkovnične krvi, namenjenih solidarni mednarodni izmenjavi prek svetovnih registrov. Poleg tega je verjetno še enkrat več enot PK shranjenih v komercialnih zasebnih bankah, ki jo shranjujejo za avtologno uporabo. Aktivnost registrov PK je komplementarna delovanju registrov odraslih darovalcev krvotvornih matičnih celic, ki shranjujejo podatke o več kot 23 milijonih darovalcev. Ključni podatki za mednarodno izmenjavo enot PK so podatki o tipizaciji HLA ter podatki o številu KMC v shranjeni enoti PK. V komercialnih bankah tipizacija ni potrebna, ker je PK namenjena avtologni uporabi. Večina strokovnih združenj do pred kratkim ni podpirala shranjevanja avtologne PK v zasebnih bankah, ker za trenutne terapije avtologna PK ni široko uporabna. To mnenje pa se z razvojem tehnik in regenerativne medicine spreminja, zato se obetajo spremembe strokovnih stališč tudi na področju klinične uporabe avtologne PK. V Sloveniji deluje javna banka popkovnične krvi v okviru Zavoda RS za transfuzijsko medicino, poleg tega pa deluje tudi več ponudnikov zasebnega shranjevanja.

BANKE POPKOVNIČNE KRVİ IN GLAVNI MOTIVI ZA NJIHOVO USTANAVLJANJE

Matične celice v popkovnični krvi

Krvotvorne matične celice (KMC) odraslega lahko izoliramo iz kostnega mozga ali periferne krvi. Poleg tega pa se matične celice (MC) nahajajo tudi v popkovnični krvi (PK), to je krvi ploda oziroma novorojenčka, ki je v posteljici in popkovnici. Te celice se lahko kasneje uporabijo za avtologno ali alogensko zdravljenje s transplantacijo (1, 2). Čeprav so o poskusu presaditve PK poročali že leta 1972, je prvo uspešno presaditev PK opravila šele Gluckmanova s sodelavci v Parizu leta 1988, ki je otroku s Fanconijevo anemijo presadila KMC njegove HLA identične sestre, in ta bolnik je še vedno živ in zdrav (3). Zdravljenje s presaditvijo alogenskih KMC iz PK je danes postalo alternativa bolj uveljavljeni presaditvi KMC iz kostnega mozga ali iz periferne krvi tudi za odrasle bolnike (4–6).

Prednosti in pomanjkljivosti popkovnične krvi v primerjavi z drugimi viri matičnih celic

PK ima v primerjavi s kostnim mozgom ali periferno krvjo več prednosti; predvsem je preprosto zbiranje, ki ne pomeni tveganja za mater ali novorojenca. Poleg tega je tveganje za prenos bolezni pri presaditvi celic iz PK majhno, enote PK, ki so zamrznjene, pa so na razpolago takoj, ko je potrebna presaditev KMC. Matične celice iz PK imajo za razliko od MC odrasle osebe

precej boljši delitveni potencial, manjše število mutacij in daljše telomere, kar jim daje kakovostno prednost. Ker je glavni biološki faktor za uspeh alogenske presaditve tkivna skladnost, šele določitev skladnosti dajalca in prejemnika na podlagi tipizacije HLA z visoko ločljivostjo omogoči dobre klinične rezultate. Najpomembnejši antigeni so produkti šestih klasičnih polimorfnih lokusov HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 in -DPB1, ki jih ima vsak človek dvanajst. V primeru presajanja KMC priporočajo ujemanje vsaj v šestih od osmih alelnih lokusov (A, B, C, DRB1), medtem ko je pri PK dovolj že ujemanje v vsaj štirih od šestih alelov (A, B, DRB1).

KMC iz PK pa imajo tudi pomembno slabost – povprečna enota PK ima volumen okrog 100 mL in vsebuje v povprečju skoraj desetkrat manj KMC kot enota KMC iz kostnega mozga ali periferne krvi odraslega darovalca. Posledica tega je kasnejše vgnezdjenje po presaditvi, počasnejša regeneracija oz. daljši čas aplazije, pogostejši so tudi odpovedi presadka in zapleti v obdobju aplazije. Zaradi tega so KMC iz PK na začetku presajali samo otrokom.

Za zvečanje uspeha presaditve KMC so razvili več strategij. Uspeh presaditev PK pri odraslih se je res bistveno zvečal (7). Te strategije so namenjene po eni strani zvečanju števila KMC v presadku, po drugi strani pa spodbujanju prijetja presadka (Tabela 1). Prvo dosežemo bodisi z boljšimi načini zbiranja PK, hkratno presaditvijo dveh ali več enot PK (8, 9), skupno presaditvijo s PK haploidničnega darovalca ali z drugimi pomožnimi celicami (10, 11) in z namnoženjem celic *in vitro* (t. i. ekspanzija *ex-vivo*) (12). Drugo pa lahko dosežemo z zmanjšano intenzivnostjo kondicioniranja s kemoterapijo (13), z izboljšanjem vgnezdenja presajenih celic v kostni mozeg (*homings*), ali pa s presaditvijo neposredno v kostni mozeg bolnika (8, 14).

Javne banke popkovnične krvi in svetovni registri

PK po odvzemu v porodnišnici shranjujejo v bankah PK. Banka PK je ustanova za celice in tkiva, ki zbira, obdeluje, shranjuje, dodeljuje in razdeljuje PK, namenjeno zdravljenju bolezni s presajanjem (7). Shranjena PK se lahko uporabi kot vir KMC za sorodno (usmerjeno) ali nesorodno alogensko presaditev, manj pogosto tudi za avtologno presaditev. PK za alogenske namene shranjujejo v javnih bankah, za avtologne namene pa v zasebnih bankah PK. Zanimivo je, da je bila prva ustanovljena banka PK pravzaprav zasebna banka PK *Cryo-Cell International*, ki so jo ustanovili v ZDA že leta 1992 (15). Da bi dostopnost do nesorodne alogenske PK omogočili vsem bolnikom na solidarnostni način, so že leta 1993 v transfuzijski ustanovi *New York Blood Center* ustanovili prvo javno banko za shranjevanje PK (16). Na podlagi javnih programov shranjevanja PK, ki so jih kasneje začele še banke PK v Milanu, Düsseldorfu, Barceloni, Parizu, Londonu, Saint

Louisu, Leidenu, Denverju in Tokiu število enot shranjene krvi v bankah PK hitro narašča. Omrežje registrov shranjenih enot PK je sedaj razprostranjeno na vseh kontinentih in omogoča hiter dostop do primerne presadke (17). Shranjevanje PK poteka vzporedno z vzdrževanjem nacionalnih registrov odraslih tipiziranih darovalcev KMC. Ti nacionalni registri vodijo zbirke podatkov o prostovoljnih HLA-tipiziranih darovalcih, ki jih po potrebi pokličejo, če se za njihove celice pokaže potreba v članicah svetovnega registra *Bone Marrow Donors Worldwide* (BMDW). Pri nas je tak nacionalni register *Slovenija Donor*, ki ima sedež na Zavodu RS za transfuzijsko medicino in je do 31. 8. 2014 vpisal 16.266 prostovoljnih darovalcev KMC (18).

Tabela 1. Glavni problemi pri presaditvah popkovnične krvi in strategije za njihovo reševanje.

Problem	Strategija za reševanje
Zapozneno prijetje presadka	• hkratna presaditev več kot ene enote PK • pomnoževanje progenitorskih celic CD34+ • nemieloablativno kondicioniranje pacienta • sočasna infuzija PK in haploidentičnih KMC iz periferne krvi • hkratna presaditev PK in MMC • znotrajkostna presaditev PK
Okužbe	• agresivno zgodnje in predhodno zdravljenje • potencialna raba T-celic, specifičnih za patogene
Ponovitev bolezni	• presaditev 2 enot PK pri bolnikih z akutno levkemijo • adoptivna imunoterapija: - uporaba T-celic iz PK, ki izražajo himerne antigenske receptorje za tarčne malignosti B-celic - uporaba celic NK iz PK, namnoženih <i>ex vivo</i> - NK-celična imunoterapija kot del nove trojne presaditve PK - infuzija limfocitov haploidentičnih darovalcev (DLI – <i>donor lymphocyte infusion</i>) pri presaditvah PK s haploidentičnimi KMC

KMC – krvotvorne matične celice

MMC – mezenhimske matične celice

NK – naravne celice ubijalke

PK – popkovnična kri

Potreba po mednarodnem sodelovanju in izboljšanju vseh tehnik v zvezi z zbiranjem, obdelavo, testiranjem ter uporabo PK je leta 1998 vodila k ustanovitvi združenja *Netcord* (<http://www.netcord.org/>) v sodelovanju z organizacijama JACIE (*Joint Accreditation Committee ISCT&EBMT*, <http://www.celltherapysociety.org/>; <http://www.ebmt.org>) in FACT (*Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy*, <http://www.factwebsite.org/>), ki so oblikovali mednarodne standarde kakovosti za delovanje bank PK (19–21). Na področju PK so poleg omenjenih aktivna še druga združenja, npr. *Evrop-*

sko združenje registrov PK EUROCORD (<http://www.eurocord-ed.org>), World Marrow Donor Association (WMDA, <http://www.worldmarrow.org/>) in Bone Marrow Donors Worldwide (BMDW, <http://www.bmdw.org/>).

Javne banke shranjujejo PK novorojencev za javno uporabo, kar je podobno altruističnemu sistemu transfuzije in temelji na etičnih načelih krvodajalstva, kot so prostovoljnost, neplačanost, anonimnost in solidarnost. Starši se v imenu otroka odrečejo PK in jo podarijo v skupni register. Enote PK nato HLA-tipizirajo in zamrznejo ter so na voljo vsem bolnikom v državah članicah registra BMDW. Javne banke ponavadi vodijo vladne zdravstvene ustanove, plačujejo pa jih sistemi javnega zdravstva ali dobrodelne fundacije. Po podatkih BMDW je leta 2014 v javnih bankah shranjeno že več kot 609.000 enot PK, kar pa je še vedno izredno malo in obsega le 2,6 % od skupno 23.250.000 tipiziranih darovalcev KMC, vpisanih v svetovni register BMDW (http://www.bmdw.org/index.php?id=statistics_stemcell).

V številnih državah se pojavlja vprašanje, kako velika naj bo "zaloga" alogenske PK v banki PK. V ZDA so se namenili do leta 2010 zbrati 150.000 enot PK, s čimer bi pokrili 90 % vseh potreb bolnikov (22); v Veliki Britaniji je načrt zbrati 20.000 enot, čeprav bi bila optimalno število verjetno 50.000. To število bi omogočilo, da bi bila verjetnost, da bi za vsakega bolnika našli vsaj enega 4/6 skladnega dajalca, okrog 98-odstotna (23). V Franciji nameravajo zbrati 30.000 enot PK do leta 2015 in 50.000 enot PK do leta 2020 (22). Velikost registra je seveda najbolj odvisna od lokalne etnične raznolikosti; v etnično močno raznolikem Singapurju tako pričakujejo, da je za 4,9-milijonsko državo potrebnih 10.000 enot PK, če želijo najti dajalca z 80-odstotno verjetnostjo (23, 24).

Zasebne banke popkovnične krvi

Vzporedno z javnimi bankami PK so nastale tudi številne zasebne banke PK, v katerih shranjujejo novorojenčkovo PK za potencialno avtologno uporabo v njegovem življenju ali za njegove ožje sorodnike, zaradi česar jih imenujejo tudi "družinske banke" PK. Novi sorojenec ima namreč 25 % možnosti, da bo imel enako sestavo antigenov HLA kot starejši bratec ali sestra. Tak način imenujejo "usmerjeno" ali "družinsko" shranjevanje PK in ga nekatere ustanove podpirajo.

Posebna privlačnost shranjevanja PK za avtologno uporabo v primerjavi z alogensko je, da pri avtologni uporabi ne more priti do zavrnitve celic. Dejanska koristnost takega shranjevanja še ni znanstveno podkrepljena, saj je verjetnost, da bo otrok, čigar PK se shranjuje, v otroštvu zbolel za maligno boleznijo in potreboval presaditev lastnih KMC, izjemno majhna (manj kot 0,04 %), če vzamemo v obzir le tiste bolezni, ki jih zdravimo danes (7, 25, 26). Ob sedanjih načelih presajanja je verjetnost, da bomo zboleli in potrebovali

presadek lastnih KMC do starosti 20 let okrog 0,02 %, do starosti 40 let okrog 0,05 % in do starosti 70 let okrog 0,23 % (27). Avtologne celice so trenutno za zdravljenje nekaterih rakavih in prirojenih genskih bolezni neuporabne, ker lahko PK že sama vsebuje začetne mutacije DNA, značilne za rakave celice.

Zaradi majhnega števila kliničnih primerov in ker je od začetkov shranjevanja PK preteklo premalo časa, še ni objavljenih veliko statističnih rezultatov dosedanje uporabe PK za avtologne namene. Vendar kljub vsem mešanim strokovnim mnenjem velikost zbirk v zasebnih bankah presega tisto v javnih in še narašča.

Organizacija *Parent's Guide to Cord Blood Foundation* (<http://www.parentsguidecordblood.org/>) objavlja spisek, na katerem je 154 zasebnih in družinskih bank PK, ustanovljenih večinoma po letu 2000. Čeprav točni podatki niso dostopni, predvidevajo, da te banke shranjujejo že vsaj okrog dva do trikrat več enot PK kot javne banke (15). Kljub temu da so zasebne banke v zadnjih 20 letih zbrale več kot 1 milijon enot PK, ni objavljenih zanesljivih znanstvenih poročil o uporabi teh enot in izidih transplantacij (22). Dve zasebni banki, obe ustanovljeni leta 1995 – *Cordon Vital* (CBR) v Mehiki in *Cord Blood Registry* v ZDA – v neznanstvenih virih navajata, da sta izvedli do januarja 2009 vsaka okrog 90 presaditev avtologne PK, ali v povprečju 7,6 presaditev na leto obstoja (15). Nasprotno Sullivan navaja, da so bile do leta 2007 izvedene samo tri presaditve avtologne PK (7). Seveda pa se raziskave nadaljujejo in pričakovati je, da bo v bližnji prihodnosti na voljo več rezultatov kliničnih raziskav, ki trenutno potekajo (glej <http://clinicaltrials.gov/>).

Hibridne in mešane banke popkovnične krvi

Tretja vrsta bank PK so t. i. hibridne banke, ki jih je več modelov. Večinoma so kombinirane javno-zasebne ustanove. V nekaterih hibridnih bankah shranjujejo PK za dajalca, vendar jo hkrati tudi HLA-tipizirajo, vpišejo v svetovni register in po potrebi namenijo tistemu bolniku, ki jo potrebuje. Nekateri zelo spodbujajo take banke PK, čeprav se soočajo s številnimi etičnimi in finančnimi problemi (15). Pričakujejo še drugo vrsto hibridnih bank – v njih bodo starši shranili del vsake enote PK za avtologne namene, drugi del pa bodo darovali v javno banko PK, kjer jo bodo HLA-tipizirali in vpisali v obstoječi svetovni register BMDW, kjer bo na voljo vsem bolnikom. Take banke so ustanovili že leta 2006 v Španiji, a zaenkrat še niso zaživele. Enako se dogaja v Veliki Britaniji s podobnim modelom privatne banke *Virgin Health Bank*, ki ji uspeva zbrati 10-krat manj enot, kot je predvidevala (22).

Etični zadržki pri shranjevanju popkovnične krvi za avtologne namene

Poleg neenotnih strokovnih stališč glede utemeljenosti shranjevanja PK za avtologne namene zasebnim bankam očitajo nekritično komercializacijo in obljubo negotovih terapij v prihodnosti. Vendar avtolognega shranjevanja evropska zakonodaja ne prepoveduje, saj bi bilo to v nasprotju z načelom o svobodni izbiri posameznika. Izjeme so Francija, Luksemburg in Italija, kjer zasebne banke PK niso dovoljene. *Skupina za etiko v znanosti Evropske unije (The European Union Group on Ethics – EGE)* je leta 2005 izdala mnenje o etičnih vidikih shranjevanja PK, po katerem da za shranjevanje in uporabo avtologne PK trenutno ni dovolj indikacij; po drugi strani pa da bodo v prihodnosti za različne presaditve lahko uporabljali tudi alogensko PK ali matične celice odraslih dajalcev (28).

Državam članicam svetujejo strog nadzor nad temi bankami, kar potrjuje tudi direktiva 2004/23/ES *Evropskega parlamenta in Sveta o določitvi standardov kakovosti in varnosti, darovanja, pridobivanja, testiranja, predelave, konzerviranja, shranjevanja in razdeljevanja človeških tkiv in celic*. *Skupina za etiko v znanosti Evropske unije* poziva, naj komercialne banke svoje stranke ustrezno informirajo in ne navajajo znanstveno nepreverjenih ali celo lažnih indikacij. Komercialne banke namreč zavajajo starše z navajanjem uporabnosti avtologne PK za indikacije, ki se v resnici nanašajo na alogensko zdravljenje s PK ali pa celo z drugimi tipi matičnih celic. Podobno stališče je leta 2008 zavzelo ameriško združenje *American Society for Blood and Marrow Transplantation* (29). Tudi stališče slovenske *Komisije za medicinsko etiko* iz leta 2008 je podobno.

Po drugi strani pa smo v zadnjih letih priča naglemu razvoju regenerativne medicine, ki obljublja uporabo avtolognih MC za zdravljenje degenerativnih bolezni, ishemičnih poškodb in tkivno inženirstvo. Privatne banke zato upravičeno argumentirajo, da je uničevati tako dragoceno tkivo kot so PK, posteljica in njene sestavine, neprimerno. Prav zaradi širokih možnosti uporabe matičnih celic v novih postopkih zdravljenja so v zadnjem času nekateri strokovni avtorji in združenja zasebnemu bančništvu bolj naklonjeni (30).

KLINIČNA UPORABA POPKOVNIČNE KRVİ

Presaditve alogenske popkovnične krvi za zdravljenje malignih bolezni

Presaditve PK v večjem obsegu so začeli izvajati šele po letu 2000 in so se izkazale kot zelo uspešne. Od leta 1999 do 2009 je prejelo KMC iz PK že več kot 21.387 otrok in odraslih (31). Danes lahko za kar 95 % bolnikov, ki potrebujejo alogensko presaditev, najdemo skladno enoto PK v registrih

PK. Za razliko od tega najdemo HLA-skladnega darovalca KMC samo za nekaj več od polovice bolnikov, ki jo potrebujejo, čeprav je v svetovnih registrih darovalcev že več kot 23 milijonov darovalcev (32).

Uspešnost presaditev KMC iz PK je praviloma odvisna od celičnega odmerka in tkivne skladnosti. V primerih relativno velikega neskladja v antigenih HLA med PK in prejemniki so pri uporabi PK opazili presenetljivo malo primerov bolezni presadka zoper gostitelja (*Graft-versus-host disease*, GvHD;). Akutna GvHD je nastopila pri 11–39 %, kronična pa pri 9–31 % bolnikov po presaditvi PK, kar je precej manj kot pri presaditvi KMC iz kostnega mozga ali periferne krvi. Smrtnost zaradi samega postopka presaditve je bila relativno visoka (okrog 50-odstotna), kar je bilo vsaj delno povezano z dejstvom, da je šlo za ogrožene bolnike z napredovalo boleznijo. Preživetje bolnikov, ki so prejeli skladen kostni mozeg, in bolnikov, ki so prejeli nesorodno in neskladno PK, je podobno. Primerjalne raziskave so jasno pokazale, da je presaditev nesorodne PK veljavna alternativa presaditvi KMC iz kostnega mozga ali periferne krvi ne samo za pediatrične, ampak tudi za odrasle bolnike.

Najpomembnejši dejavnik, ki vpliva na prijetje presadka in posledično na preživetje bolnikov, je zato še vedno število oziroma odmerkek presajenih matičnih celic (33). Skupina *EuroCord* priporoča, da je v shranjeni enoti PK število celic z jedrom (*nucleated cells*, NC) vsaj 3×10^7 /kg telesne mase prejemnika, po odmrznjenju in pri presaditvi pa naj bi enota PK za presaditev vsebovala vsaj še 2×10^7 NC/kg telesne mase (34). Skladnost v antigenih HLA med dajalcem in prejemnikom je dodatni dejavnik, ki vpliva na izid presaditev PK (35). Gluckmanova s sodelavci meni, da naj bi ujemanje v antigenih HLA razreda II (t.j. HLA-DR) dalo najboljše rezultate. Navaja tudi, da zvečanje celičnega odmerka vsaj ublaži negativni vpliv neskladnosti v HLA na uspeh presaditve (36).

Presaditve popkovnične krvi pri nemalighnih boleznih

Nemalighne bolezni so najprej zdravili pri otrocih, ker so zanje dovolj majhni odmerki presajenih celic z jedrom iz PK, imajo manj primerov GvHD, učinek presadka zoper levkemijo pri teh boleznih ni potreben (GvL). V nasprotju z opisanim zdravljenjem malignih bolezni je pri nemalighnih boleznih ključnega pomena za prijetje presadka in preživetje visoka skladnost v antigenih HLA, ki prepreči nastanek GvHD, manj pomembno pa je število oz. odmerkek presajenih celic. Zato priporočajo izbrati enote, ki so najbolj skladne, šele nato pa upoštevati tudi število celic, ki naj bi bilo vsaj vsaj $3,5 \times 10^7$ /kg celic z jedrom (34).

Podedovane hemolitične anemije

Učinkovitost presaditve KMC pri talasemiji še ni popolnoma raziskana, vendar se vedno bolj uveljavlja. Locatelli s sodelavci poroča o 44 otrokih s talasemijo in anemijo srpastih celic, pri katerih je bil delež prijetja presadka velik (89 % na 60. dan), preživetje brez ponovitve bolezni pa dobro (79 % za talasemijo in kar 90 % za anemijo srpastih celic) (37, 38). Menijo, da je presaditev alogenskih KMC iz PK sorojenca terapija prihodnosti za hemoglobi-nopatije, in razmišljajo o uvedbi obveznega zbiranja in hranjenja PK pri vseh porodih v družinah s primeri teh bolezni (39).

Sindromi odpovedi kostnega mozga

Različne oblike odpovedi kostnega mozga, kot so mielodisplastični sindrom (MDS), aplastična in Fanconijeva anemija, že dolgo zdravijo s presaditvijo alogenskih KMC, vendar pri zdravljenju teh bolezni relativno pogosto prihaja do zavrnitve presadka. Ker sama presaditev PK zaradi majhnega odmerka KMC povzroči kasnejše prijetje presadka, je bilo celokupno preživetje teh bolnikov po presaditvi nesorodne PK v letih 1994–2005 majhno, še posebej pri MDS (okrog 35-odstotno) (34). Rezultati so pri sodobnejših načinih zdravljenja vse boljši. Zdravljenje Fanconijeve anemije s presaditvijo KMC iz PK je uspešnejše, saj je preživetje brez ponovitve bolezni relativno dobro, še posebej pri otrocih, ki prejmejo skladen presadek PK od sorodnika (40, 41).

Uporaba popkovnične krvi za regenerativne namene

V PK so poleg krvotvornih tudi mezenhimske matične celice (MMC) in še nekatere druge matične celice. Diferenciacijski potencial in proliferativni odziv MMC iz placente je drugačen kot MMC iz kostnega mozga ali maščobnega tkiva (42). MMC iz placente očitno delujejo bolj zaviralno na imunski odziv, kar je verjetno posledica njihovega učinka na celice T (43, 44).

Matične celice iz PK so uporabili že za regeneracijo miokarda in živčnih tkiv in dobili spodbudne rezultate tako *in vitro* kot *in vivo* (45–48). Menijo, da bodo omogočile bistveno izboljšanje krčljivosti in prekrvitve srca pa tudi napredek v tkivnem inženirstvu srčnih zaklopk (49–51). Iz PK lahko osamimo tudi veliko funkcionalnih dendritskih celic, ki so uporabne za adoptivno celično zdravljenje (52), lahko pa jo predelamo tudi v trombocitni gel, ki vsebuje visoko koncentracijo rastnih dejavnikov, uporabnih v regenerativni medicini (53). Obetavne so tudi inducirane pluripotentne celice (*induced pluripotent stem cells*, iPSc) iz PK, ki se lahko uporabijo kot univerzalne celice v regenerativni medicini (8, 38). Pri tem je treba poudariti, da se tehnike uporabe MC iz PK za regenerativne namene večinoma šele razvijajo in zato pričakujejo njihovo širšo uporabo šele po letu 2020.

Ekspanzija krvotvornih matičnih celic iz popkovnične krvi *ex vivo*

Številne raziskave so pokazale, da je mogoče število KMC – zunaj telesa, v laboratorijskem okolju (*ex-vivo*) – pomnožiti 10 do 100-krat z dodajanjem različnih rastnih dejavnikov. Pri tem je značilno, da KMC iz PK bolje proliferirajo kot KMC iz kostnega mozga; verjetno zato ker so mlajše (8, 14). KMC lahko z gojenjem diferenciramo v različne vrste zrelih krvnih celic, na primer v megakariocite in trombocite (54), v granulocite in celo v naravne celice ubijalke (NK) in v celice LAK (*lymphokine-activated killer cytotoxic cells*), s katerimi si obetajo zdraviti rakave bolezni (55).

Raziskovalci v zadnjem času načrtujejo pridobivanje velikih količin eritrocitov, trombocitov in levkocitov *in vitro*, s čimer bi lahko nadomestili običajno transfuzijo in prostovoljno krvodajalstvo. Glavni cilj je pridobivanje velikih količin zrelih enukleiranih eritrocitov z odraslim hemoglobinom, ki imajo »univerzalno«, to je RhD-negativno krvno skupino 0. Tako proizvodnjo imenujejo *blood pharming*. Trenutno že imajo ustrezno metodo, vendar zaradi visokih cen rastnih dejavnikov še ne omogoča ustvarjanja velikih količin eritrocitov, primerljivih z učinkom krvodajalstva. Zanimivo je, da večina vseh protokolov kot začetno osnovo uporablja ravno matične celice iz PK (56). Doslej največja namnožitev eritroidne linije je uspela skupini Fujimija in kolegov leta 2008, ki je iz 5×10^6 CD34-pozitivnih celic iz ene enote popkovnične krvi pridobila $1,76 \times 10^{13}$ eritrocitov, kar ustreza 8,8 enotam koncentriranih eritrocitov (57).

ZBIRANJE, SHRANJEVANJE IN UPORABA MATIČNIH CELIC IZ POPKOVNIČNE KRV V SLOVENIJI

V Sloveniji so prvo zbiranje PK za sorodniško alogensko presaditev na pobudo Hematološko-onkološkega oddelka Pediatrične klinike leta 1999 izvedli strokovnjaki ljubljanske porodnišnice in Zavoda RS za transfuzijo, vendar do klinične presaditve kasneje ni prišlo. Leta 2008 je začela delovati javna banka PK (*Enota za shranjevanje popkovnične krvi*, ESPOK) na Zavodu RS za transfuzijsko medicino v Ljubljani. V Sloveniji je bilo na dan 1. 5. 2014 v javni banki ESPOK shranjenih 1.034 enot PK. Načrt banke ESPOK je zbrati in vpisati v register največ 2.000 enot PK, kar bi pomenilo 10 shranjenih enot PK na 10.000 prebivalcev, kar je dovolj glede na relativno majhno etnično raznolikost slovenske populacije (Tabela 2). Darovanje oz. odvzem PK izvajajo v Sloveniji v porodnišnicah na podlagi dogovora z Zavodom RS za transfuzijsko medicino. V letu 2014 je darovalo PK povprečno 43 porodnic na mesec.

Tabela 2. Število shranjenih enot popkovnične krvi (PK) leta 2013 v nekaterih javnih bankah.

Država	Prebivalci leta 2013 (v milijonih)	Število shranjenih enot PK	Število enot PK na 10.000 prebivalcev
Singapur	4,9	11.050	22,55
Tajvan	23,37	49.118	21,02
Belgija	10,8	20.650	19,12
Španija	47,0	52.377	11,14
Izrael/	7,6	7.984	10,51
Avstralija	23,5	24.558	10,45
Finska	5,4	3.365	6,23
ZDA	310,0	177.758	5,73
Italija	60,3	28.822	4,78
J. Koreja	49,7	21.242	4,27
Švica	7,8	3.599	4,61
Češka	10,5	3.985	3,80
Nemčija	81,7	30.994	3,79
Velika Britanija	62,0	16.848	2,72
Francija	65,4	16.162	2,47
Nizozemska	16,6	3.098	1,87
Argentina	40,5	1.692	0,42
Poljska	38,1	820	0,22
Kitajska	1.365,0	38.966	0,29
Slovenija	2,0	1.034 (245 HLA tip)	5,17 (1,2)

PK odvzamemo v sterilno vrečko z antikoagulansom takoj po rojstvu otroka, ko je posteljica še *in utero*, s punkcijo popkovnične vene. Povprečni volumen odvzete PK skupaj z antikoagulansom je 68 ml. V javno banko shranimo samo tiste enote PK, ki imajo skupno število celic z jedrom (TNC) večje kot $0,9 \times 10^9$ in volumen, večji od 61 mL. Zamrznemo jo ob dodatku 10 % krio-protektorja DMSO v roku največ 46 ur po odvzemu in shranimo v tekočem dušiku pri -196°C . Ko dobimo končne izsledke testiranja kakovosti PK (krvna slika, število CD34-pozitivnih matičnih celic, število eritrocitov z jedrom, živost celic, krvna skupina, število klonogenih krvotvornih celic CFU, tipizacija HLA-A, -B, -DRB1, potrditev, da ne vsebuje bakterij in gliv, ter virusni markerji materine krvi), sprostimo enoto PK iz karantene v trajno hranjenje.

Od vseh 4.370 doslej odvzetih enot PK smo jih v hranjenje uvrstili le okrog 23 % (1.034 enot), preostale pa smo zaradi nedoseganja prej omenjenih zahtev uničili. Po enem letu shranjevanja dopolnimo anamnezo o otrokovem zdravstvenem stanju in PK vpišemo med razpoložljive enote, primerne za izdajo. Antigene HLA smo doslej določili 245 enotam in jih tudi vpisali v mednarodni register. V treh letih, odkar je banka vpisana v register, nismo izdali še nobene enote. Odvzem PK v porodnišnicah in delovanje javne banke PK v Sloveniji še nista finančno urejena, saj dogovor o tem še ni bil sprejet na Ministrstvu za zdravje.

Poleg javne banke ESPOK na Zavodu RS za transfuzijsko medicino je v Sloveniji še nekaj ponudnikov zasebnega shranjevanja v komercialnih bankah PK. Vsi ponudniki so sicer registrirani kot *Ustanova za tkiva in celice* (<http://www.slovenija-transplant.si/index.php?id=ustanove>), vendar je le ena od njih dejanska slovenska banka PK, ki shranjuje celice v Sloveniji (*Biobanka d.o.o.*), medtem ko drugi dve (*Neocelica d.o.o.*, *Izborna celica d.o.o.*) pošiljata PK v tuje banke PK.

Delovanje bank PK nadzira *Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke* (JAZMP) v skladu z Zakonom o kakovosti in varnosti človeških tkiv in celic, namenjenih za zdravljenje (ZKVČTC) (58).

Klinična uporaba popkovnične krvi v Sloveniji

Prvo presaditev alogenske nesorodne PK smo v Sloveniji opravili šele leta 2004. PK je prišla iz avstralske banke popkovnične krvi v Sydneyu. Leta 2008 je bila opravljena druga nesorodna presaditev alogenske PK. V obeh primerih sta bila bolnika majhna otroka z maligno krvno boleznijo. Presajeni enoti PK sta bili HLA-skladni na vseh šestih testiranih lokusih (skladnost 6/6). V obeh primerih je presaditev potekala brez večjih zapletov, le čas do vgnezditev je bil daljši kot bi bil pri presaditvi alogenskih KMC nesorodnih dajalcev, kar je pričakovan pojav. Pojava GvHD ni bilo pri nobenem od obeh malih bolnikov, žal pa se je pri obeh kasneje ponovila osnovna krvna bolezen (59). Leta 2013 je bila opravljena prva nesorodna dvojna presaditev alogenskih enot PK pri pediatričnem bolniku s paroksizmalno nočno hemoglobinurijo z aplastično anemijo. Ker se celice niso vgnezdile, je bila kasneje izvedena še presaditev KMC nesorodnega darovalca.

ZAKLJUČEK

Presaditev PK je danes uveljavljena terapija pri nekaterih boleznih otrok in odraslih. Izkušnje zadnjih 20 let kažejo, da je presaditev KMC iz PK postala ustrezna alternativa presaditvam KMC iz kostnega mozga ali periferne krvi.

Ta presaditev je torej postala standardna terapija, ki se čedalje bolj širi. Priporočajo jo tako za otroke kot tudi za odrasle bolnike. Njena največja omejitev v vseh kliničnih pogojih in pri vseh starostnih skupinah pa je relativno majhno število kliničnih raziskav, ki bi primerjale uspeh presaditve KMC iz kostnega mozga, periferne krvi in PK.

Glavna prednost presajanja PK je redkost bolezni presadka zoper gostitelja ob siceršnjem neskladju v sistemu HLA, medtem ko je zapozneno prijetje presadka zaradi omejenega števila matičnih celic, še vedno njena glavna slabost. Banke PK dopolnjujejo mednarodne registre tipiziranih dajalcev KMC, ker omogočajo širjenje možnosti alogenske transplantacije. Za razliko od tega imajo zasebne banke PK popolnoma drugačen namen in bodo pokazale svojo dejansko vlogo šele v prihodnosti, v odvisnosti od razvoja regenerativne medicine.

LITERATURA

1. McGuckin CP, Basford C, Hanger K, Habibollah S, Forraz N. Cord blood revelations: the importance of being a first born girl, big, on time and to a young mother! *Early Hum Dev* 2007; 83 (12): 733–41.
2. Gluckman E. Umbilical cord blood transplant in human. *Bone Marrow Transplant* 1996;18 (Suppl 2): 166–70.
3. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321 (17): 1174–8.
4. Laporte JP, Gorin NC, Rubinstein P, Lesage S, Portnoi MF, Barbu V, et al. Cord-blood transplantation from an unrelated donor in an adult with chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 1996; 335 (3): 167–70.
5. Wagner JE, Gluckman E. Umbilical cord blood transplantation: the first 20 years. *Semin Hematol* 2010; 47 (1): 3–12.
6. Cutler C, Ballen K. Reduced-intensity conditioning and umbilical cord blood transplantation in adults. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44 (10): 667–71.
7. Sullivan MJ. Banking on cord blood stem cells. *Nat Rev Cancer* 2008; 8 (7): 555–63.
8. Brunstein CG, Gutman JA, Weisdorf DJ, Woolfrey AE, DeFor TE, Gooley TA, Verneris MR, Appelbaum FR, Wagner JE, Delaney C. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy: relative risks and benefits of double umbilical cord blood. *Blood* 2010;116 (22): 4693–9.
9. Brunstein CG, Weisdorf DJ. Future of cord blood for oncology uses. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44 (10): 699–707.
10. Gonzalo-Daganzo R, Regidor C, Martin-Donaire T, Rico MA, Bautista G, Krsnik I, et al. Results of a pilot study on the use of third-party donor mesenchymal stromal cells in cord blood transplantation in adults. *Cytotherapy* 2009; 11 (3): 278–88.
11. Bernardo ME, Ball LM, Cometa AM, Roelofs H, Zecca M, Avanzini MA, et al. Co-infusion of ex vivo-expanded, parental MSCs prevents life-threatening acute GVHD, but does not reduce the risk of graft failure in pediatric patients undergoing allogeneic umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46 (2): 200–7.

12. Rocha V, Broxmeyer HE. New approaches for improving engraftment after cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16 (1 Suppl): S126–32.
13. Del Toro G., Satwani P, Harrison L, Cheung YK, Brigid BM, George D, et al. A pilot study of reduced intensity conditioning and allogeneic stem cell transplantation from unrelated cord blood and matched family donors in children and adolescent recipients. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33 (6): 613–22.
14. Frassoni F, Gualandi F, Podesta M, Raiola AM, Ibatci A, Piaggio G, et al. Direct intra-bone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I/II study. *Lancet Oncol* 2008; 9 (9): 831–9.
15. Anon. Stem cells – The hype & hope – World analysis 2009–2024. London: Visiongain, 2009: 155 pp.
16. Rubinstein P, Taylor PE, Scaradavou A, Adamson JW, Migliaccio G, Emanuel D, et al. Unrelated placental blood for bone marrow reconstitution: organization of the placental blood program. *Blood Cells* 1994; 20 (2–3): 587–96.
17. Garcia J. Allogeneic unrelated cord blood banking worldwide: an update. *Transfus Apher Sci* 2010; 42 (3): 257–63.
18. Vidan-Jeras B. Letno poročilo 2013 Slovenija-Donor. Slovenski register prostovoljnih, nesorodnih darovalcev kostnega mozga. Ljubljana, Zavod RS za transfuzijsko medicino, Center za tipizacijo tkiv, Odsek register Slovenija-Donor, 2006: 12 pp. Dosegljivo na <http://www.ztm.si/register-darovalcev/slovenija-donor>.
19. Gluckman E, Rocha V. Cord blood transplantation: state of the art. *Haematologica* 2009; 94 (4): 451–4.
20. Gluckman E. Ten years of cord blood transplantation: from bench to bedside. *Br J Haematol* 2009; 147 (2): 192–9.
21. Anon. International standards for cellular therapy product collection, processing, and administration. 4th ed. Foundation for the accreditation of cellular therapy (FACT) and Joint accreditation committee – ISCT and EBMT (JACIE), 2008.
22. Katz G, Mills A. Cord blood banking in France: reorganising the national network. *Transfus Apher Sci* 2010; 42 (3): 307–16.
23. Querol S, Mufti GJ, Marsh SG, Pagliuca A, Little AM, Shaw BE, et al. Cord blood stem cells for hematopoietic stem cell transplantation in the UK: how big should the bank be? *Haematologica* 2009; 94 (4): 536–41.
24. Koh M, Goh Y, Tan P, Koh L, Hwang W, Loh Y, et al. Stem cell transplantation programme at Singapore general hospital. *Bone Marrow Transplant* 2008; 42 (Suppl 1): S121–4.
25. Anon. WMDA Policy statement on the utility of autologous or family cord blood unit storage. The WMDA board, 2006.
26. Ballen KK, Barker JN, Stewart SK, Greene MF, Lane TA. Collection and preservation of cord blood for personal use. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14 (3): 356–63.
27. Nietfeld JJ, Pasquini MC, Logan BR, Verter F, Horowitz MM. Lifetime probabilities of hematopoietic stem cell transplantation in the U.S. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; 14 (3): 316–22.
28. The European group on ethics in science and new technologies to the European commission. Opinion no. 19 – 16/03/2004 – Ethical aspects of umbilical cord blood banking. European Commission, 2005.
29. Anon. ASBMT position statement. Collection and preservation of cord blood for personal use. *Biol Blood Marrow Transplant* 2008; (14): 364.
30. Hollands P, McCauley C. Private cord blood banking: current use and clinical future. *Stem Cell Rev* 2009; 5 (3): 195–203.

31. Anon. Stem cell donor registries annual report 2009. World Marrow Donor Association, 2010: 37 pp.
32. Stanevsky A, Shimoni A, Yerushalmi R, Nagler A. Double umbilical cord blood transplant: more than a cell dose? *Leuk Lymphoma* 2010; 51 (6): 975–82.
33. Wall DA, Carter SL, Kernan NA, Kapoor N, Kamani NR, Brochstein JA, et al. Busulfan/melphalan/antithymocyte globulin followed by unrelated donor cord blood transplantation for treatment of infant leukemia and leukemia in young children: the Cord blood transplantation study (COBLT) experience. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11 (8): 637–46.
34. Gluckman E, Rocha V. Donor selection for unrelated cord blood transplants. *Curr Opin Immunol* 2006; 18 (5): 565–70.
35. Gluckman E, Koepler G, Rocha V. Human leukocyte antigen matching in cord blood transplantation. *Semin Hematol* 2005; 42 (2): 85–90.
36. Gluckman E. Cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12 (8): 808–12.
37. Locatelli F, Rocha V, Reed W, Bernaudin F, Ertem M, Grafakos S, et al. Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. *Blood* 2003; 15; 101 (6): 2137–43.
38. Bernaudin F, Socie G, Kuentz M, Chevret S, Duval M, Bertrand Y, et al. Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood* 2007; 110 (7): 2749–56.
39. Boncimino A, Bertaina A, Locatelli F. Cord blood transplantation in patients with hemoglobinopathies. *Transfus Apher Sci* 2010; 42 (3): 277–81.
40. Bielecki B, Hughes MR, Auerbach AD, Nagler A, Loewenthal R, Rechavi G, et al. Successful umbilical cord blood transplantation for Fanconi anemia using preimplantation genetic diagnosis for HLA-matched donor. *Am J Hematol* 2004; 77 (4): 397–9.
41. Gluckman E, Rocha V, Ionescu I, Bierings M, Harris RE, Wagner J, et al. Results of unrelated cord blood transplant in Fanconi anemia patients: risk factor analysis for engraftment and survival. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007; 13 (9): 1073–82.
42. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006; 24 (5): 1294–301.
43. Li CD, Zhang WY, Li HL, Jiang XX, Zhang Y, Tang PH, et al. Mesenchymal stem cells derived from human placenta suppress allogeneic umbilical cord blood lymphocyte proliferation. *Cell Res* 2005; 15 (7): 539–47.
44. Le Blanc K, Samuelsson H, Gustafsson B, Remberger M, Sundberg B, Arvidson J, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells. *Leukemia* 2007; 21 (8): 1733–8.
45. Ma N, Ladilov Y, Kaminski A, Piechaczek C, Choi YH, et al. Umbilical cord blood cell transplantation for myocardial regeneration. *Transplant Proc* 2006; 38 (3): 771–3.
46. Arien-Zakay H, Nagler A, Galski H, Lazarovici P. Neuronal conditioning medium and nerve growth factor induce neuronal differentiation of collagen-adherent progenitors derived from human umbilical cord blood. *J Mol Neurosci* 2007; 32 (3): 179–91.
47. Ruvinov E, Sharabani-Yosef O, Nagler A, Einbinder T, Feinberg MS, Holbova R, et al. Transplantation of genetically engineered cardiac fibroblasts producing recombinant human erythropoietin to repair the infarcted myocardium. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2008; 1 (1): 7.
48. Arien-Zakay H, Lecht S, Bercu MM, Amariglio N, Rechavi G, Galski H, et al. Interferon-gamma-induced neuronal differentiation of human umbilical cord blood-derived progenitors. *Leukemia* 2009; 23 (10): 1790–800.

49. Greco N, Laughlin MJ. Umbilical cord blood stem cells for myocardial repair and regeneration. *Methods Mol Biol* 2010; 660: 29–52.
50. Ichim TE, Solano F, Lara F, Rodriguez JP, Cristea O, Minev B, et al. Combination stem cell therapy for heart failure. *Int Arch Med* 2010; 3 (1): 5.
51. Sodian R, Schaefermeier P, Abegg-Zips S, Kuebler WM, Shakibaei M, Daebritz S, et al. Use of human umbilical cord blood-derived progenitor cells for tissue-engineered heart valves. *Ann Thorac Surg* 2010; 89 (3): 819–28.
52. Balan S, Kale VP, Limaye LS. A large number of mature and functional dendritic cells can be efficiently generated from umbilical cord blood-derived mononuclear cells by a simple two-step culture method. *Transfusion* 2010; 50 (11): 2413–23.
53. Parazzi V, Lazzari L, Rebullia P. Platelet gel from cord blood: a novel tool for tissue engineering. *Platelets* 2010; 21 (7): 549–54.
54. De Bruyn C, Delforge A, Martiat P, Bron D. Ex vivo expansion of megakaryocyte progenitor cells: cord blood versus mobilized peripheral blood. *Stem Cells Dev* 2005; 14 (4): 415–24.
55. Ayello J, van d, V, Cairo E, Hochberg J, Baxi L, Satwani P, Cairo MS. Characterization of natural killer and natural killer-like T cells derived from ex vivo expanded and activated cord blood mononuclear cells: implications for adoptive cellular immunotherapy. *Exp Hematol* 2009; 37. (10): 1216–29.
56. Požnenel P, Rožman P. Kri iz epruvete – gojenje eritrocitov *in vitro*. *Zdrav Vestn* 2014, sprejeto v objavo.
57. Fujimi A, Matsunaga T, Kobune M, Kawano Y, Nagaya T, Tanaka I, et al. Ex vivo large-scale generation of human red blood cells from cord blood CD34+ cells by co-culturing with macrophages. *Int J Hematol* 2008; 87 (4): 339–50.
58. Zakon o kakovosti in varnosti človeških tkiv in celic, namenjenih za zdravljenje. UL RS 2007; 61 (07).
59. Rožman P, Jazbec J, Domanović D. Presaditve matičnih celic iz popkovnične krvi – dve desetletji kliničnih izkušenj. *Zdrav Vestn* 2012; 81: 413–21.

SEZNAM AVTORJEV (abecedno)

Dr. Saša Anžej-Doma, dr. med.	Klinični oddelek za hematologijo, Interna klinika Univerzitetni klinični center Ljubljana Zaloška 7, 1525 Ljubljana
Marko Cukjati, dr. med.	Zavod RS za transfuzijsko medicino Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
Prof. dr. Peter Černelč, dr. med.	Klinični oddelek za hematologijo Interna klinika Univerzitetni klinični center Ljubljana Zaloška 7, 1525 Ljubljana
Neda Gržinič, mag. farm.	Lekarna Univerzitetni klinični center Ljubljana Zaloška 7, 1525 Ljubljana
Prof. dr. Janez Jazbec, dr. med.	Klinični oddelek za hematologijo in onkologijo Pediatrična klinika Univerzitetni klinični center Ljubljana Bohoričeva 20, 1525 Ljubljana
Izr. prof. dr. Barbara Jezeršek-Novaković, dr. med.	Sektor za internistično onkologijo Onkološki inštitut Ljubljana Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
Mag. Tanja Južnič-Šetina, dr. med.	Sektor za internistično onkologijo Onkološki inštitut Ljubljana Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
Dr. Lidija Kitanovski, dr. med.	Klinični oddelek za hematologijo in onkologijo Pediatrična klinika Univerzitetni klinični center Ljubljana Bohoričeva 20, 1525 Ljubljana
Doc. dr. Veronika Kloboves-Prevodnik, dr. med.	Oddelek za citopatologijo Onkološki inštitut Ljubljana Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
Dr. Metka Krašna, univ. dipl. mikr.	Zavod RS za transfuzijsko medicino Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
Doc. dr. Uroš Mlakar, dr. med.	Klinični oddelek za hematologijo Interna klinika Univerzitetni klinični center Ljubljana Zaloška 7, 1525 Ljubljana

- Doc. dr. Helena Podgornik, univ. dipl. inž. kem.
Klinični oddelek za hematologijo, Interna
klinika
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Zaloška 7, 1525 Ljubljana
- Doc. dr. Irena Preložnik-Zupan dr. med.
Klinični oddelek za hematologijo
Interna klinika
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Zaloška 7, 1525 Ljubljana
- Prim. Jožef Pretnar, dr. med.
Klinični oddelek za hematologijo
Interna klinika
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Zaloška 7, 1525 Ljubljana
- Izr. prof. dr. Maja Primic-Žakelj, dr. med.
Epidemiologija in register raka
Onkološki inštitut Ljubljana
Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
- Izr. prof. dr. Primož Rožman, dr. med.
Zavod RS za transfuzijsko medicino
Šlajmerjeva 6, 1000 Ljubljana
- Doc. dr. Matjaž Sever, dr. med.
Klinični oddelek za hematologijo
Interna klinika
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Zaloška 7, 1525 Ljubljana
- Matevž Škerget, dr. med.
Klinični oddelek za hematologijo
Interna klinika
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Zaloška 7, 1525 Ljubljana
- Doc. dr. Vesna Zadnik, dr. med.
Epidemiologija in register raka
Onkološki inštitut Ljubljana
Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
- Prof. dr. Samo Zver, dr. med.
Klinični oddelek za hematologijo
Interna klinika
Univerzitetni klinični center Ljubljana
Zaloška 7, 1525 Ljubljana
- Dr. Tina Žagar, univ. dipl. fiz.
Epidemiologija in register raka
Onkološki inštitut Ljubljana
Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

[illegible]

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

[illegible]

This image shows a single sheet of white paper with horizontal ruling lines. The lines are evenly spaced and run across the width of the page. There are no margins, text, or other markings on the paper.

[illegible]

[illegible]



V družbi Amgen
smo z vso skrbjo
predani
kakovosti
in zanesljivosti
bioloških zdravil.

Kontrola kakovosti in zanesljiva oskrba sta vsaj toliko pomembni kot dosežki znanstvenih inovacij.

Družba Amgen se že več kot 30 let z vso zavzetostjo, predanostjo in željo po popolnosti trudi za vsako svojih zdravil.

Za dodatne informacije obiščite
biotechnologybyamgen.com, kjer najdete več
podatkov o kakovosti in zanesljivosti oskrbe, ki sta
tako pomembni za uspešno zdravljenje vaših bolnikov.



BIOTECHNOLOGY
BY AMGEN®



IRESSA®
gefitinib

Prvi na poti individualnega zdravljenja bolnikov z napredovalim nedrobnoceličnim pljučnim rakom.

Iressa je prva tarčna monoterapija, ki dokazano podaljša preživetje brez napredovanja bolezni v primerjavi z dvojno kemoterapijo kot zdravljenje prvega reda pri bolnikih z napredovalim nedrobnoceličnim pljučnim rakom z mutacijo EGFR.¹

IRESSA® (GEFITINIB)

SKRAJŠAN POVZETEK GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA

Sestava: Filmsko obložene tablete vsebujejo 250 mg gefitiniba.

Indikacije: Zdravljenje odraslih bolnikov z lokalno napredovalim ali metastatskim nedrobnoceličnim pljučnim rakom z aktivacijskimi mutacijami EGFR-TK.

Odmerjanje in način uporabe: Zdravljenje z gefitinibom mora uvesti in nadzorovati zdravnik, ki ima izkušnje z uporabo zdravil proti raku. Priporočeno odmerjanje zdravila IRESSA je ena 250-mg tableta enkrat na dan. Bolnike z zmerno do hudo okvaro jeter je treba natančno kontrolirati glede neželenih učinkov. Za bolnike z očistkom kreatinina ≤ 20 ml/min je malo podatkov, zato je potrebna previdnost. Tableto je mogoče vzeti s hrano ali brez nje, vsak dan ob približno istem času.

Kontraindikacije: Preobčutljivost za zdravilno učinkovino ali katerokoli pomožno snov, dojenje.

Opozorila in previdnostni ukrepi: Pri 1,3 % bolnikov, ki so dobivali gefitinib, so opazili intersticijsko bolezen pljuč (IBP). Ta se lahko pojavi akutno in je bila v nekaterih primerih smrtna. Če se bolniku poslabšajo dihalni simptomi, npr. dispneja, kašelj in zvišana telesna temperatura, morate zdravljenje z zdravilom IRESSA prekiniti in bolnika takoj preiskati. Če je potrjena IBP, morate terapijo z zdravilom IRESSA končati in bolnika ustrezno zdraviti. Opažene so bile nepravilnosti testov jernih funkcij, občasno zabeležene kot hepatitis. Opisani so bili posamezni primeri odpovedi jeter. Zato so priporočljive redne kontrole delovanja jeter. V primeru blagih do zmernih sprememb v delovanju jeter je treba zdravilo IRESSA uporabljati previdno. Če so spremembe hude, pride v poštev prekinitev zdravljenja. Zdravilo IRESSA vsebuje laktozo. Bolniki z redko dedno intoleranco za galaktozo, lapon-sko obliko zmanjšane aktivnosti laktaze ali malabsorpcijo glukoze/galaktoze ne smejo jemati tega zdravila. Bolnikom naročite, da morajo takoj poiskati zdravniško pomoč, če se jim pojavijo kakršnikoli očesni simptomi, huda ali dolgotrajna driska, navzea, bruhanje ali anoreksija, ker lahko vse te posledice povzročijo dehidracijo.

Medsebojno delovanje z drugimi zdravili: Sočasna uporaba močnih zaviralcev CYP3A4 lahko poveča koncentracijo gefitiniba v plazmi. Močni zaviralci CYP2D6 lahko pri izrazitih metabolizatorjih CYP2D6 povečajo koncentracijo gefitiniba v plazmi za približno 2-krat. Induktorji CYP3A4 (fenitoin, karbamazepin, rifampicin, barbiturati ali zeliščni pripravki, ki vsebujejo šentjanževko) lahko povečajo presnovo in zmanjšajo koncentracijo gefitiniba v plazmi ter tako zmanjšajo učinkovitost gefitiniba. Sočasni uporabi induktorjev CYP3A4 se je treba izogibati. Snovi, ki občutno in dolgotrajno zvišajo pH v želodcu, lahko zmanjšajo koncentracijo gefitiniba v plazmi in tako zmanjšajo njegovo učinkovitost. Veliki odmerki kratkodelujočih antacidov, uporabljenih blizu časa jemanja gefitiniba, imajo lahko podoben učinek. Pri nekaterih bolnikih, ki so sočasno jemali varfarin, so se pojavili zvišanje INR in/ali krvavitve.

Neželeni učinki: V kumulativnem naboru podatkov kliničnih preskušanj III. faze so bili najpogostejše opisani neželeni učinki, ki so se pojavili pri več kot 20 % bolnikov, driska in kožne reakcije (vključno z izpuščajem, aknami, suho kožo in srbenjem). Neželeni učinki se ponavadi pojavijo prvi mesec zdravljenja in so praviloma reverzibilni. Ostali pogostejši ter občasni neželeni učinki so: anoreksija, konjunktivitis, blefaritis in suho oko, erozija roženice (reverzibilna in včasih povezana z aberantno rastjo trepalnic), keratitis, krvavitve, npr. epistaksa in hematurija, intersticijska bolezen pljuč (1,3 %), navzea, bruhanje, stomatitis, dehidracija, suha usta, pankreatitis, gastrointestinalna perforacija, nepravilnosti testov jernih funkcij, hepatitis, boleznijo nohtov, alopecija, alergijske reakcije, asimptomatično laboratorijsko zvišanje kreatinina v krvi, proteinurija, cistitis, astenija, piroksija.

Vrsta in vsebina ovojnine: škatla s 30 tabletami po 250 mg gefitiniba

Način izdajanja zdravila: samo na recept

Datum priprave besedila: april 2014

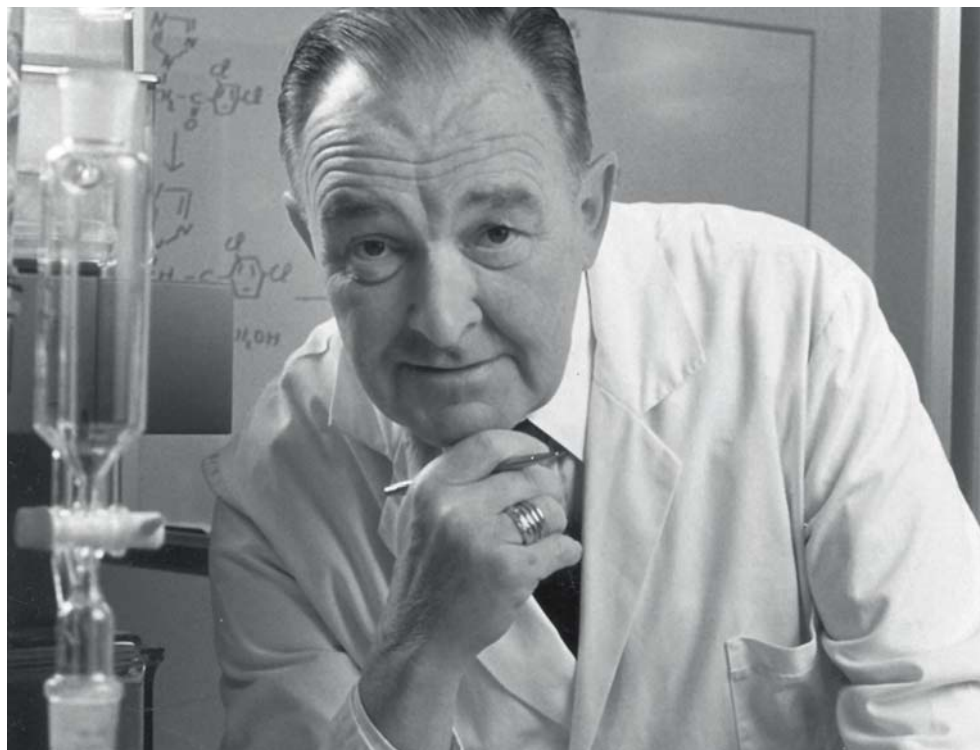
Imetnik dovoljenja za promet: AstraZeneca AB, S-151 85, Sodertalje, Švedska

Pred predpisovanjem, prosimo, preberite celoten povzetek glavnih značilnosti zdravila.

Dodatne informacije so na voljo pri: AstraZeneca UK Limited, Podružnica v Sloveniji, Verovškova 55, 1000 Ljubljana, telefon: 01/51 35 600.

Informacija pripravljena: avgust 2014.

Samo za strokovno javnost.



Ponosni smo na preteklost. Ustvarjamo boljšo **prihodnost.**

Nadaljujemo z znanstvenim delom dr. Paul Janssen-a, ustanovitelja farmacevtskega podjetja Janssen in enega najbolj inovativnih znanstvenikov na področju farmacije.

Samo za strokovno javnost

Janssen, farmacevtski del Johnson & Johnson d.o.o.,
Šmartinska 53, 1000 Ljubljana, tel: 01 401 18 00

janssen 
PHARMACEUTICAL COMPANIES
OF **Johnson & Johnson**

*Nov dan,
novo upanje*



Krka, d. d., Novo mesto, Šmarješka cesta 6, 8501 Novo mesto, www.krka.si



*Naša inovativnost in znanje
za učinkovite in varne
izdelke vrhunske kakovosti.*

Biotest AG

reliable • trustworthy • competent

Your partner in

- Immunology
- Intensive Care
- Hemophilia



Rp/
Supportan 200 ml 4x
Da scat. orig. No. XV
(quindecim)
D.s. 2x/dan 200 ml
Repetatur 2x (duos)

supportan 200

Da scat. orig.:

1991-1992

D.S. $2x/dan 20$

Repetatur 2x 1985



Supportan[®]



5 | E-pošta: info@medias-int.si

4titude,
Bimos – Interstuhl
Büromöbel,
Bio-Rad Medical
Diagnostics,
Biolin Scientific,
Bioquell,
Biotage,
Biotest,
Delta T,
Ditabis,
EKF Diagnostic,
Eppendorf,
Eurofins GeneScan,
Eurofins Genomics,
Focus Diagnostics,
Hain Lifescience,
Heipha,
Hoefer,
IDEXX Laboratories,
Liofilchem,
Mart Microbiology,
Medical Wire
(MWE),
Molecular Devices
(Genetix),
Qiagen,
R-Biopharm,
Rosco Diagnostica,
SalvisLab,
Sarstedt,
Sifin,
Tecan,
Thermo Fisher
Scientific (Revco),
Ultra Violet
Products (UVP)



mediline



- **laboratorijska oprema**
- **potrošni materiali**
- **reagenti**

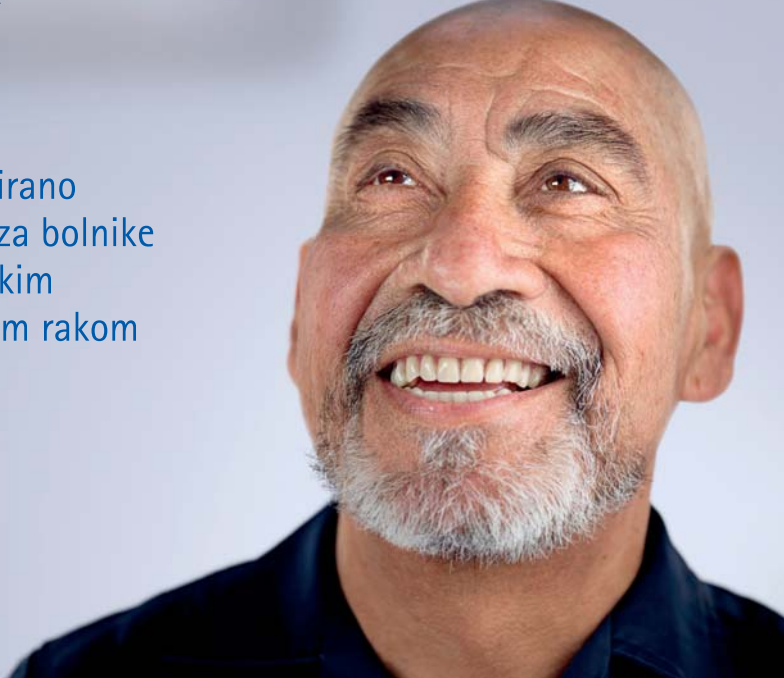
Mediline mešana trgovska družba, d.o.o.

Perovo 30 | p.p. 5 | SI-1241 Kamnik | Slovenija

T +386 (0)1 830 80 40 | F +386 (0)1 830 80 70 / 63

E info@mediline.si | I www.mediline.si

Individualizirano zdravljenje za bolnike z metastatskim kolorektalnim rakom



Merck Serono Onkologija | *Ključ je v kombinaciji*

Erbix 5 mg/ml raztopina za infundiranje
Skrajšan povzetek glavnih značilnosti zdravila

Sestava: En ml raztopine za infundiranje vsebuje 5 mg cetuksimaba in pomožne snovi. Cetuksimab je himerno monoklonsko IgG₁ protiteleso. **Terapevtske indikacije:** Zdravilo Erbix je indicirano za zdravljenje bolnikov z metastatskim kolorektalnim rakom z ekspresijo receptorjev EGFR in nemutiranim tipom RAS v kombinaciji s kemoterapijo na osnovi irinotekana, kot primarno zdravljenje v kombinaciji s FOLFOX in kot samostojno zdravlilo pri bolnikih, pri katerih zdravljenje z oksaliplatinom in zdravljenje na osnovi irinotekana ni bilo uspešno in pri bolnikih, ki ne prenašajo irinotekana. Zdravilo Erbix je indicirano za zdravljenje bolnikov z rakom skvamoznih celic glave in vratu v kombinaciji z radioterapijo za lokalno napredovalo bolezen in v kombinaciji s kemoterapijo na osnovi platine za ponavljajočo se in/ali metastatsko bolezen. **Odmerjanje in način uporabe:** Zdravilo Erbix pri vseh indikacijah infundirajte enkrat na teden. Pred prvo infuzijo mora bolnik prejeti premedikacijo z antihistaminikom in kortikosteroidom najmanj 1 uro pred uporabo cetuksimaba. Začetni odmek je 400 mg cetuksimaba na m² telesne površine. Vsi naslednji tedenski odmerki so vsak po 250 mg/m². **Kontraindikacije:** Zdravilo Erbix je kontraindicirano pri bolnikih z znano hudo preobčutljivostno reakcijo (3. ali 4. stopnje) na cetuksimab. Kombinacija zdravila Erbix s kemoterapijo, ki vsebuje oksaliplatin, je kontraindicirana pri bolnikih z metastatskim kolorektalnim rakom z mutiranim tipom RAS ali kadar status RAS ni znan. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** Pojav hude reakcije, povezane z infundiranjem, zahteva takojšno in stalno ukinitve terapije s cetuksimabom. Če pri bolniku nastopi blaga ali zmerne reakcija, povezane z infundiranjem, lahko zmanjšate hitrost infundiranja. Priporočljivo je, da ostane hitrost infundiranja na nižji vrednosti tudi pri vseh naslednjih infuzijah. Če se pri bolniku pojavi kožna reakcija, ki je ne more prenašati, ali huda kožna reakcija (z 3. stopnje po kriterijih CTCAE), morate prekiniti terapijo s cetuksimabom. Z zdravljenjem smete nadaljevati le, če se je reakcija izboljšala do 2. stopnje. Če ugotovite intersticijsko bolezen pljuč, morate zdravljenje s cetuksimabom prekiniti, in bolnika ustrezno zdraviti. Zaradi možnosti pojava znižanja nivoja elektrolitov v serumu se pred in periodično med zdravljenjem s cetuksimabom priporoča določanje koncentracije elektrolitov v serumu. Pri bolnikih, ki prejemanju cetuksimab v kombinaciji s kemoterapijo na osnovi platine, obstaja večje

tveganje za pojav hude nevropatije. Takšne bolnike je potrebno skrbno nadzorovati. Pri predpisovanju cetuksimaba je treba upoštevati kardiovaskularno stanje in indeks zmogljivosti bolnika in sočasno dajanje kardiotoksičnih učinkovin kot so fluoropirimidini. Če je diagnoza ulcerativnega keratitisa potrjena, je treba zdravljenje s cetuksimabom prekiniti ali ukiniti. Cetuksimab je treba uporabljati previdno pri bolnikih z anamnezo keratitisa, ulcerativnega keratitisa ali zelo suhih oči. Cetuksimaba ne uporabljajte za zdravljenje bolnikov s kolorektalnim rakom, če imajo tumorje z mutacijo RAS ali pri katerih je tumorski status RAS neznan. **Interakcije:** Pri kombinaciji s fluoropirimidini se je v primerjavi z uporabo fluoropirimidinov, kot monoterapije, povečala pogostnost srčne ishemije, vključno z miokardnim infarktom in kongestivno srčno odpovedjo ter pogostnost sindroma dlani in stopal. V kombinaciji s kemoterapijo na osnovi platine se lahko poveča pogostnost hude levkopenije ali hude nevropatije. V kombinaciji s kapektabinom in oksaliplatinom (XELOX) se lahko poveča pogostnost hude driske. **Neželeni učinki:** Zelo pogosti (≥ 1/10): hipomagnezija, povečanje ravni jetrnih encimov, kožne reakcije, blage ali zmerne reakcije povezane z infundiranjem, mukozitis, v nekaterih primerih resen. Pogosti (≥ 1/100 do < 1/10): dehidracija, hipokalcemija, anoreksija, glavobol, konjunktivitis, driska, navzea, bruhanje, hude reakcije povezane z infundiranjem, utrujenost. **Posebna navodila za shranjevanje:** Shranjujte v hladilniku (2 °C - 8 °C). **Pakiranje:** 1 viala z 20 ml ali 100 ml raztopine. **Način in režim izdaje:** Izdaja zdravila je le na recept-H. **Imetnik dovoljenja za promet:** Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Nemčija.

Datum zadnje revizije besedila: junij 2014.

Pred predpisovanjem zdravila natančno preberite celoten Povzetek glavnih značilnosti zdravila.

Samo za strokovno javnost.

Podrobnejše informacije so na voljo pri predstavniku imetnika dovoljenja za promet z zdravilom:

Merck d.o.o., Ameriška ulica 8, 1000 Ljubljana, tel.: 01 560 3810, faks: 01 560 3830, el. pošta: info@merck.si

www.merckserono.net

www.Erbix-international.com

Vsak dan šteje

za bolnike z napredujočim
karcinomom ledvičnih celic



28. september

Jesenski festival

15. december

Zimske počitnice

30. april

Družinsko srečanje

2. avgust

Začetek kuharskega tečaja

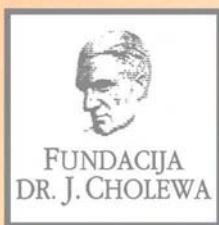
BISTVENI PODATKI IZ POVZETKA GLAVNIH ZNAČILNOSTI ZDRAVILA

SUTENT 12,5 mg, 25 mg, 37,5 mg, 50 mg trde kapsule

Sestava in oblika zdravila: Ena kapsula vsebuje 12,5 mg, 25 mg, 37,5 mg ali 50 mg sunitiniba (v obliki sunitinibjevega malata). **Indikacije:** Zdravljenje neizrežljivega in/ali metastatskega malignega gastrointestinalnega stromalnega tumorja (GIST) pri odraslih, če zdravljenje z imatinibom zaradi odpornosti ali neprenašanja ni bilo uspešno. Zdravljenje neizrežljivega ali metastatskega, dobro diferenciranega nevroendokrinih tumorjev trebušne slinavke (pNET), kadar gre za napredovanje bolezni pri odraslih (izkušnje z zdravilom Sutent kot zdravilom prve izbire so omejene). **Odmerjanje in način uporabe:** Terapijo mora uvesti zdravnik, ki ima izkušnje z uporabo zdravila za zdravljenje rakavih bolezni. **GIST in MRCC:** Priporočeni odmerek je 50 mg peroralno enkrat na dan, 4 tedne zapored; temu sledi 2-tedenski premor (Shema 4/2), tako da celotni cikel traja 6 tednov. **pNET:** Priporočeni odmerek je 37,5 mg peroralno enkrat na dan, brez načrtovanega premora. **Prilaganje odmerka:** Odmerek je mogoče prilagoditi v povečanjih po 12,5 mg, upoštevaje individualno varnost in prenašanje. Pri GIST in MRCC dnevni odmerek ne sme preseči 75 mg in ne sme biti manjši od 25 mg; pri pNET je največji odmerek 50 mg na dan, z možnimi prekinitvami zdravljenja. Pri sočasni uporabi z močnimi zaviralci ali induktori CYP3A4 je treba odmerek ustrezno prilagoditi. **Pediatrična populacija:** Uporaba sunitiniba ni priporočljiva. **Starejši bolniki (≥ 65 let):** Med starejšimi in mlajšimi bolniki niso opazili pomembnih razlik v varnosti in učinkovitosti. **Okvara jeter:** Pri bolnikih z jetrno okvaro razreda A in B po Child-Pughu prilagoditev odmerka ni potrebna; pri bolnikih z okvaro razreda C sunitinib ni bil preizkušen, zato njegova uporaba ni priporočljiva. **Okvara ledvic:** Prilaganje začetnega odmerka ni potrebno, nadaljnje prilaganje odmerka naj temelji na varnosti in prenašanju pri posameznem bolniku. **Način uporabe:** Zdravilo Sutent se uporablja peroralno, bolnik ga lahko vzame s hrano ali brez nje. Če pozabi vzeti odmerek, ne sme dobiti dodatnega, temveč naj vzame običajni predpisani odmerek naslednji dan. **Kontraindikacije:** Preobčutljivost na zdravilno učinkovino ali katerokoli pomožno snov. **Posebna opozorila in previdnostni ukrepi:** **Bolezi kože in tkiv:** obarvanje kože, gangrenozna pioderma (običajno izgine po prekinitvi zdravljenja), hude kožne reakcije (multiformni eritem (EM), Stevens-Johnsonov sindrom (SJS) in toksična epidermalna nekroliza (TEN)). Če so prisotni znaki EM, SJS ali TEN, je treba zdravljenje prekiniti. **Krvavitve v prebavilih, dihalih, sečilih, možganih;** najpogostejše epistaksa; krvavitve tumorja, včasih s smrtnim izidom. Pri bolnikih, ki se sočasno zdravijo z antioksidanti, se lahko redno spremlja celotna krvna slika (trombociti), koagulacijski faktorji (PT / INR) in opravi telesni pregled. **Bolniki preživeli:** poleg diareje, navzee/bruhanja, bolečine v trebuhu, dispesije, stomatitisa/bolečine v ustih in ezofagitisa tudi hudi zapleti (včasih s smrtnim izidom), vključno z gastrointestinalno perforacijo. **Hipertenzija:** pri bolnikih s hudo hipertenzijo, ki je ni mogoče urediti z zdravili, je priporočljivo začasno prenehanje zdravljenja. **Hematološke bolezni:** zmanjšanje števila nevtrofilcev, trombocitov, anemija. **Bolezni srca in ožilja:** srčno-žilni dogodki, vključno s srčnim popuščanjem, kardiomiopatijo in motnjami v delovanju miokarda, v nekaterih primerih s smrtnim izidom. Sunitinib povečuje tveganje za pojav kardiomiopatije. **Podaljšanje intervala QT:** previdna uporaba pri bolnikih z znano anamnezo podaljšanja intervala QT, tistih, ki jemljejo antiaritmike, in tistih z relevantno, če obstoječo srčno boleznijo, bradikardijo ali elektrolitskimi motnjami. **Venski in arterijski tromboembolični dogodki;** arterijski včasih s smrtnim izidom. **Dogodki na dihalih:** dispneja, plevralni izliv, pljučna embolija ali pljučni edem; redki primeri s smrtnim izidom. **Moteno**

delovanje ščitnice: bolnike je treba med zdravljenjem rutinsko spremljati glede delovanja ščitnice vsake 3 mesece. **Pankreatitis,** tudi resni primeri s smrtnim izidom. **Hepatotoksičnost,** nekateri primeri s smrtnim izidom. **Holecistitis,** vključno z alkalizirnim in emfizemskim holecistitisom. **Delovanje ledvic:** primeri zmanjšane delovanja ledvic, odpovedi ledvic in/ali akutne odpovedi ledvic, v nekaterih primerih s smrtnim izidom. **Fistula:** če nastane fistula, je treba zdravljenje s sunitinibom prekiniti. **Oteženo celjenje ran:** pri bolnikih, pri katerih naj bi bil opravljen večji kirurški poseg, je priporočljiva začasna prekinitev zdravljenja s sunitinibom. **Osteonekroza čeljustnic:** pri sočasnem ali zaporednem dajanju zdravila Sutent in intravenskih bisfosfonatov je potrebna previdnost; invazivni zobozdravstveni posegi predstavljajo dodatni dejavnik tveganja. **Preobčutljivost/angioedem.** **Matrjne okužanja.** **Konvulzije:** obstajajo poročila, nekatera s smrtnim izidom, o preiskovanih s konvulzijami in radiološkimi znaki sindroma reverzibilne posteriorne levkoencefalopatije. **Sindrom lize tumorja,** v nekaterih primerih s smrtnim izidom. **Okužbe:** hude okužbe z ali brez nevtropenije (okužbe dihal, sečil, kože in sepsa), vključno z nekaterimi s smrtnim izidom; redki primeri nekrotizirajočega fasciitisa, vključno z prizadetostjo presredka, ki so bili včasih smrtni. **Hipoglikemija:** če se pojavi simptomatska hipoglikemija, je treba zdravljenje s sunitinibom začasno prekiniti. Pri sladkornih bolnikih je treba redno preverjati raven glukoze v krvi in, če je treba, prilagoditi odmerek antidiabetika. **Medsebojno delovanje z drugimi zdravili:** (Študije so izvedli le pri odraslih). Zdravila, ki lahko zvečajo koncentracijo sunitiniba v plazmi (ketokonazol, ritonavir, itraconazol, eritromicin, klaritromicin ali sok grenivke). Zdravila, ki lahko zmanjšajo koncentracijo sunitiniba v plazmi (deksametazon, fenitoin, karbamazepin, rifampin, fenobarbital, *Hypericum perforatum* oz. šentjanževka). **Plodnost, nosečnost in dojenje:** Zdravilo Sutent ne smejo uporabljati med nosečnostjo in tudi ne pri ženskah, ki ne uporabljajo ustrezne kontracepcije, razen če možna korist odtehta možno tveganje za plod. Ženske v rodni dobi naj med zdravljenjem z zdravilom Sutent ne zasnojejo. Ženske, ki jemljejo zdravilo Sutent, ne smejo dojeti. Neključni izsledki kažejo, da lahko zdravljenje s sunitinibom poslabša plodnost samcev in samic. **Vpliv na sposobnost vožnje in upravljanja s stroji:** Sutent lahko povzroči omotico. **Neželeni učinki:** Najbolj resni neželeni učinki (nekateri s smrtnim izidom) so: odpoved ledvi, srčno popuščanje, pljučna embolija, gastrointestinalna perforacija in krvavitve (npr. v dihalih, prebavilih, tumorju, sečilih in možganih). Najpogostejši neželeni učinki (ki so se pojavili pri vsaj 20 % bolnikov v registracijskih preskušanjih) so: zmanjšan apetit, motnje okužanja, hipertenzija, utrujenost, prebavne motnje (npr. driska, slabost, stomatitis, dispesija in bruhanje), sprememba barve kože in sindrom palmarne/plantarne eritrodisezije. Med najbolj pogostimi neželenimi učinki so hematološke motnje (nevtropenija, trombocitopenija, anemija in levkopenija). Ostali zelo pogosti (≥ 1/10) neželeni učinki so: hipotiroizem, nespečnost, omotica, glavobol, dispneja, epistaksa, kašelj, bolečina v trebuhu, zaprtje, obarvanje kože, izpuščaji, spremembe barve las, suha koža, bolečine v udih, artralgija, bolečine v hrbtu, vnetje sluznice, edem, pike/siroma. **Način in režim izdaje:** Predpisovanje in zdajja zdravila je le na recept, zdravilo pa se uporablja samo v bolnišničnih. Izjemoma se lahko uporablja pri nadaljevanju zdravljenja na domu ob odpuštu iz bolnišnice in nadaljnjem zdravljenju. **Imetnik dovoljenja za promet:** Pfizer Limited, Ramsgate Road, Sandwich, Kent, CT13 9NJ, Velika Britanija. **Datum zadnje revizije besedila:** 24.07.2014

Pred predpisovanjem se seznajte s celotnim povzetkom glavnih značilnosti zdravila.



***Za raziskovanje rakastih bolezni
je treba veliko naporov, sposobnosti in sredstev***