

Лейкемії у дітей

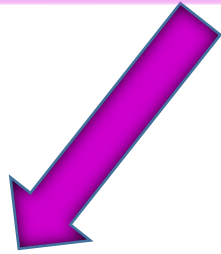


професор Макєєва Наталія Іванівна

Визначення лейкоемій

Лейкемія –

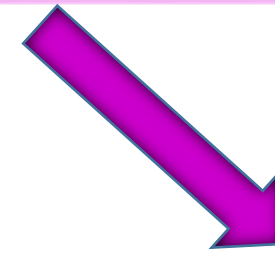
це пухлина, що виникла з клітин кровотворної системи з обов'язковим первинним ураженням кісткового мозку.



гострі лейкоемії (97%)

пухлини з повною зупинкою диференціювання кровотворних клітин на ранньому рівні дозрівання

субстрат пухлини представлений **бластними клітинами.**



хронічні лейкоемії (3%)

пухлини з частковою затримкою дозрівання клітин та накопиченням клітин певного ступеня зрілості

субстратом пухлини є **дозрілі та зрілі клітини**

Клітини, які морфологічно не диференціюються

Клітини, які морфологічно диференціюються

I. Стовбурова клітина

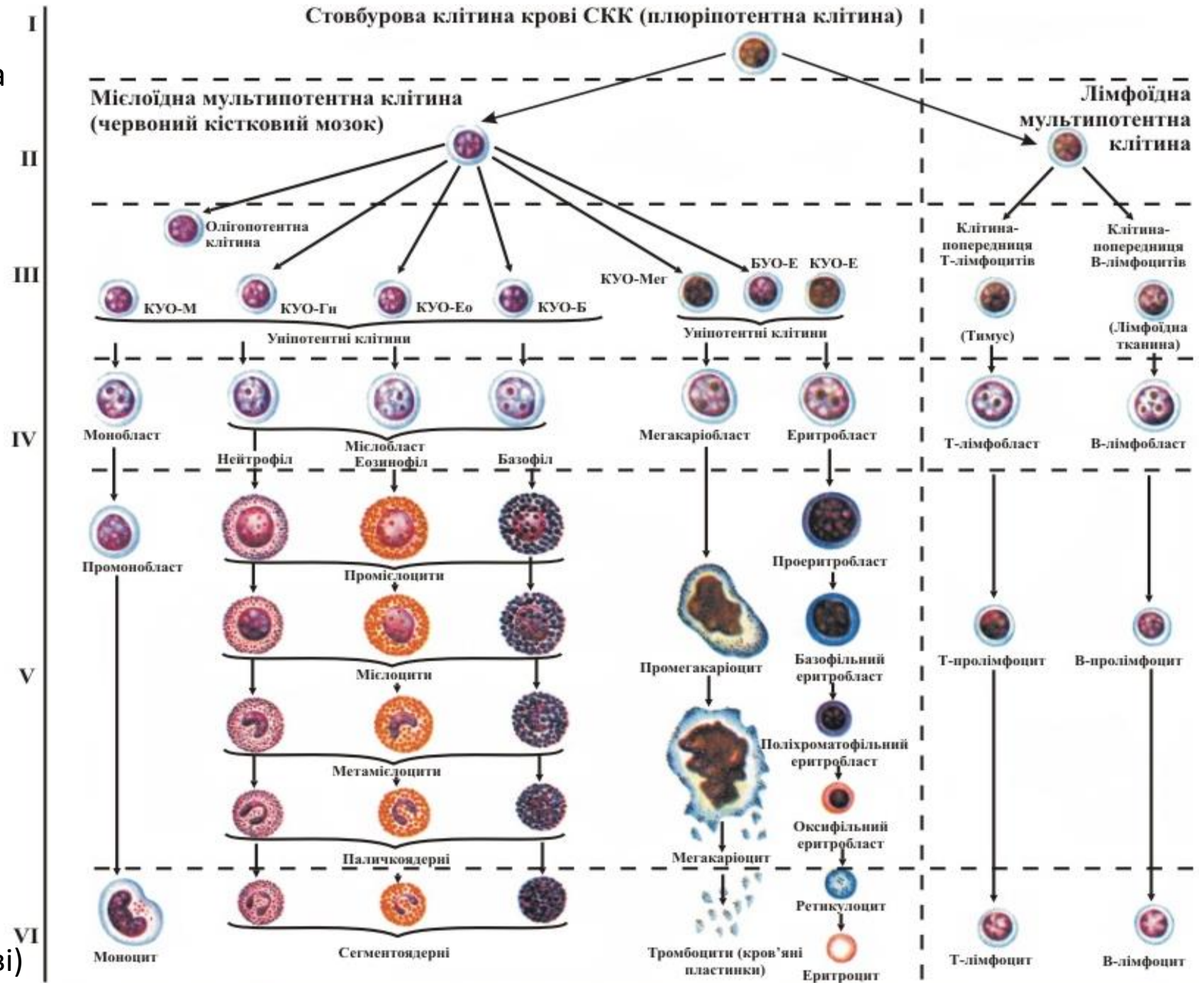
II. Частково детерміновані

III. Комітовані

IV. Бласти

V. Дозріваючі

VI. Зрілі (клітини периферичної крові)



Гостра лейкемія

- це системне злоякісне захворювання кровотворної тканини, морфологічним субстратом якого виступають незрілі бластні клітини, які вражають кістковий мозок, витісняючи нормальні клітинні елементи і поширюючись як по органам кровотворення, так і у інші органи та системи, зокрема ЦНС.**

Гостра лейкемія. Епідеміологія

- Ø Захворюваність у розвинених країнах становить 3-4 випадки на 100 тис. дитячого населення на рік. Нижча захворюваність на ГЛЛ відзначається в країнах Африки та Середньої Азії, частіше вона зустрічається в Китаї, Японії, США, Європі. Середньорічний показник захворюваності у Європі серед дітей коливається від 5 до 8 на 100 000 населення.**
- Ø Найчастіше хворіють діти дошкільного та молодшого шкільного віку. Пік захворюваності спостерігається у віці від 2 до 4 років.**
- Ø Хлопчики хворіють у 1.5 рази частіше, ніж дівчатка.**
- Ø У сім'ях осіб, хворих на гострий лейкоз, ризик захворюваності дітей підвищується майже в 3 рази.**
- Ø У промислово розвинених країнах частіше спостерігається «сортон» у дітей у віці 3 - 4 років, у тих, що розвиваються - зрілий T-і B-клітинний у дітей старшого віку.**

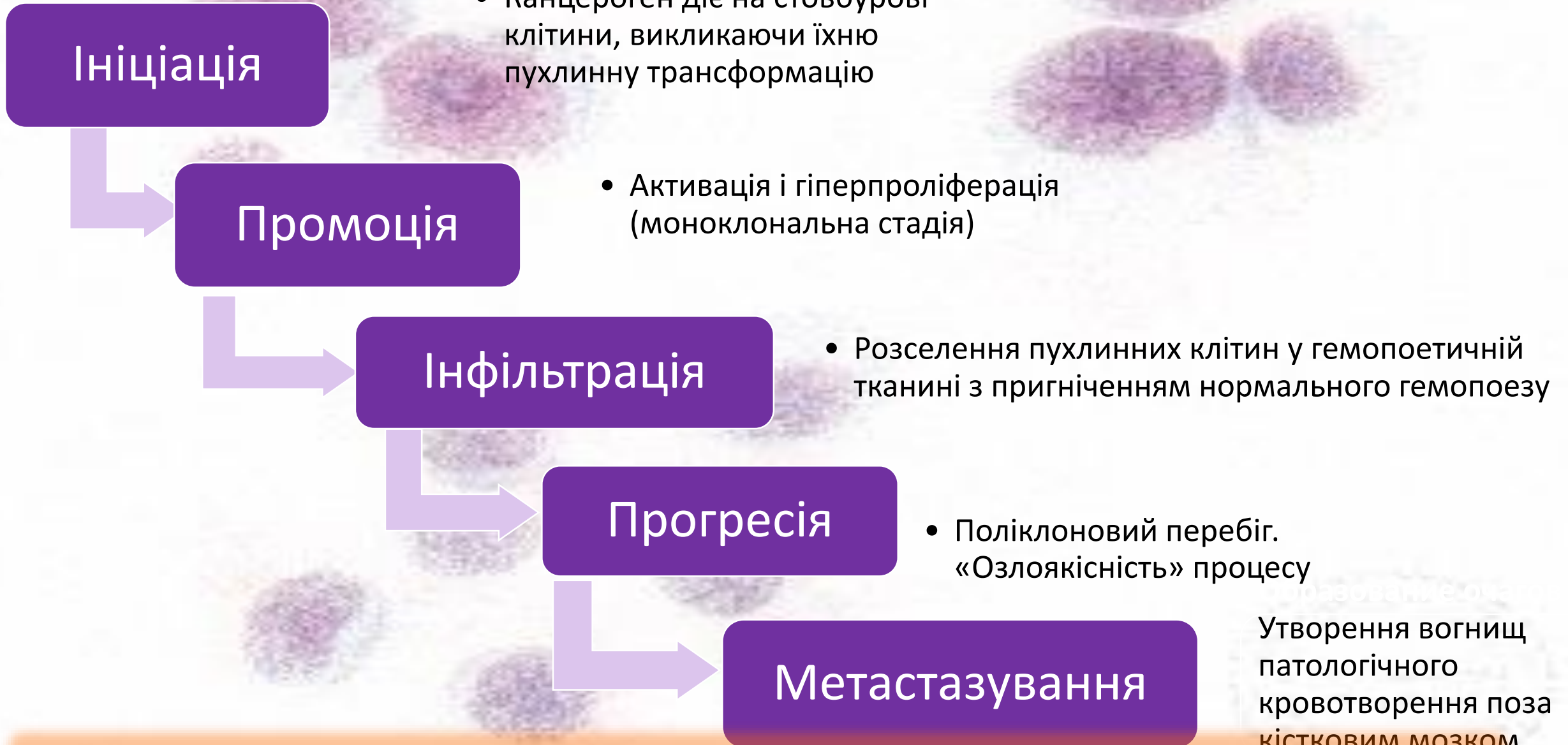


Чинники, пов'язані з ризиком виникнення лейкемій

- **Іонізуюча радіація**
- **Внутрішньоутробне опромінення** (внутрішньоутробне при рентгенологічному обстеженні вагітної матері)
- **Атомні катастрофи**
- **Вплив електромагнітних полів**
- **Токсичні та лікарські препарати, що застосовуються матір'ю**
- **Вірусні фактори** (ретровіруси (особливо Т – клітинні лейкози), вірус Епштейна-Барр)
- **Генні мутації** (транслокації, інверсії, делеції)
- **Синдромно-генетична схильність** (лейкози у однояйцевих близнюків; діти із с-мами Дауна, Луї-Бар, Блума, Швахман-Даймонда, Костманна, сімейної моносомії 7, сімейний синдром множинного раку з гострим лейкозом, нейрофіброматоз Імунологічні фактори)
- **Вроджені та набуті імунодефіцитні стани.**
- **Гормональні фактори** (надмірна гормональна стимуляція СТГ та іншими гормонами, що сприяють зростанню)
- **Гіпопластичні стани** (анемія Фанконі, Блекфена-Даймонда. Анемія Фанконі збільшує відносний ризик виникнення гострого мієлобластного лейкозу у 1000 разів)
- **Акселерація фізичного розвитку**
- **Спленектомія в анамнезі**



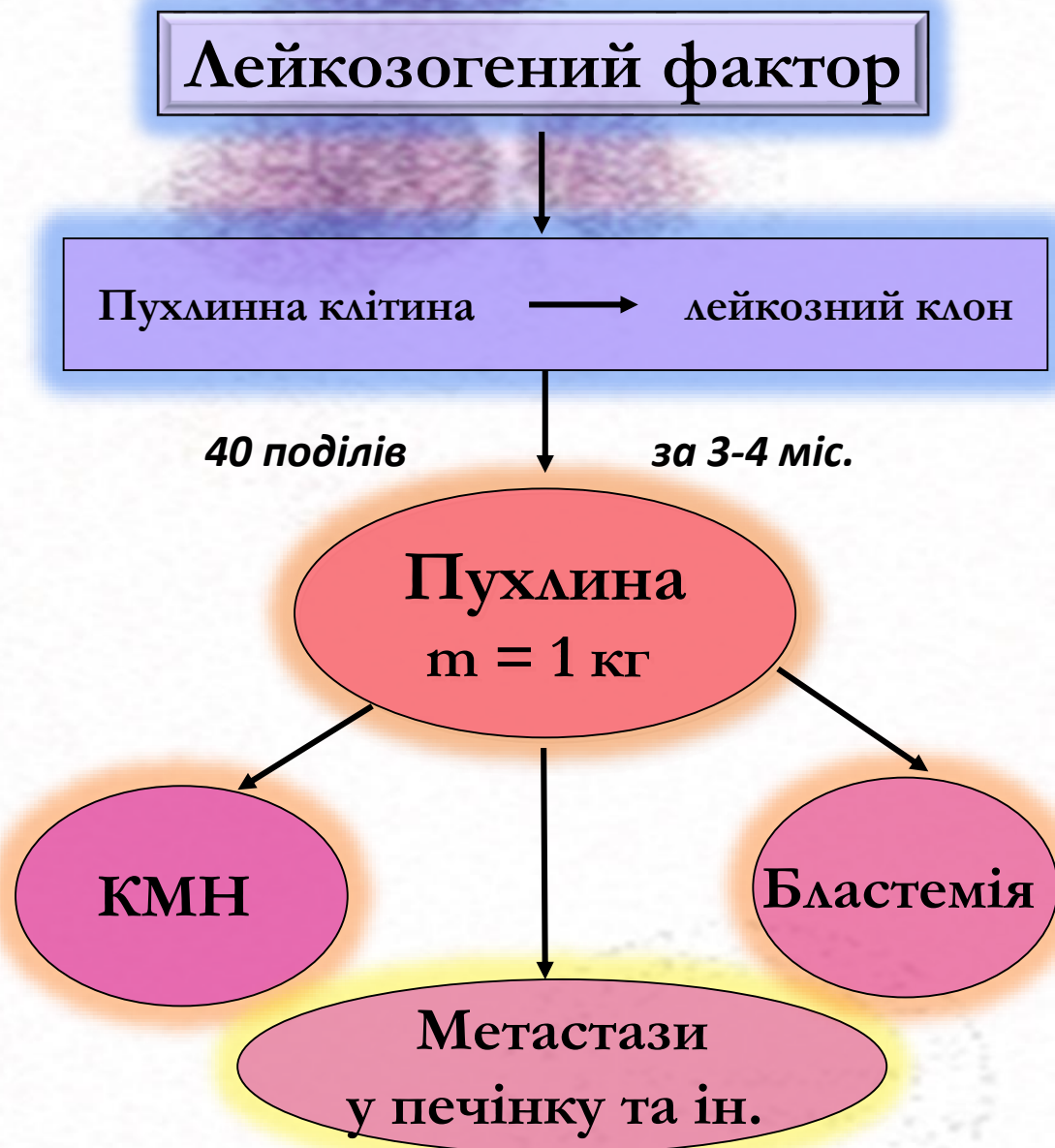
Основні стадії патогенезу гемобластозів



Резистентність до терапії - це якісно новий етап розвитку пухлини!

Розвиток лейкемії можна вкрай спрощено уявити так (мутаційно-клонова теорія походження лейкемій):

- Онкогени передаються антенатально вертикально і призводять до утворення мутантних клітин, зростання яких до певного часу стримується, або ж вони знищуються (*перша подія*).
- У трансформованому клоні перинатально чи постнатально при впливі провокуючих факторів (вірусні інфекції чи інші екзогенні причини) за наявності відповідних конституціональних умов та преморбідних причин відбувається друга мутація (*друга подія*).
- Лейкозні клітини походять від однієї клітини – родоначальника, яка припинила диференціювання на ранній стадії розвитку.
- Найімовірніше, перша мутація клітин відбувається ще внутрішньоутробно. Лейкозний клон складається з двох фракцій - активно проліферуючої фракції і тієї, що дремає. Фракція, яка дремає, періодично поповнює популяцію, що проліферує, починаючи так само активно ділитися.
- При лабораторних ознаках лейкемій в організмі хворого є близько 10^{11} бластних клітин, у разі розвитку клінічних симптомів – 10^{12} бластів (1кг). Термін необхідний, щоб накопичити таку кількість клітин становить приблизно 1 рік, максимальний -10 років, мінімальний - 2-3,5 міс.



Усі гострі лейкемії виникають з однієї клітини, що мутувала, яка може відноситися як до дуже ранніх, так і комітованих у напрямку різних ліній кровотворення.

Клінічний перебіг гострої лейкемії, терапія, ефективність лікування та прогноз захворювання визначаються:

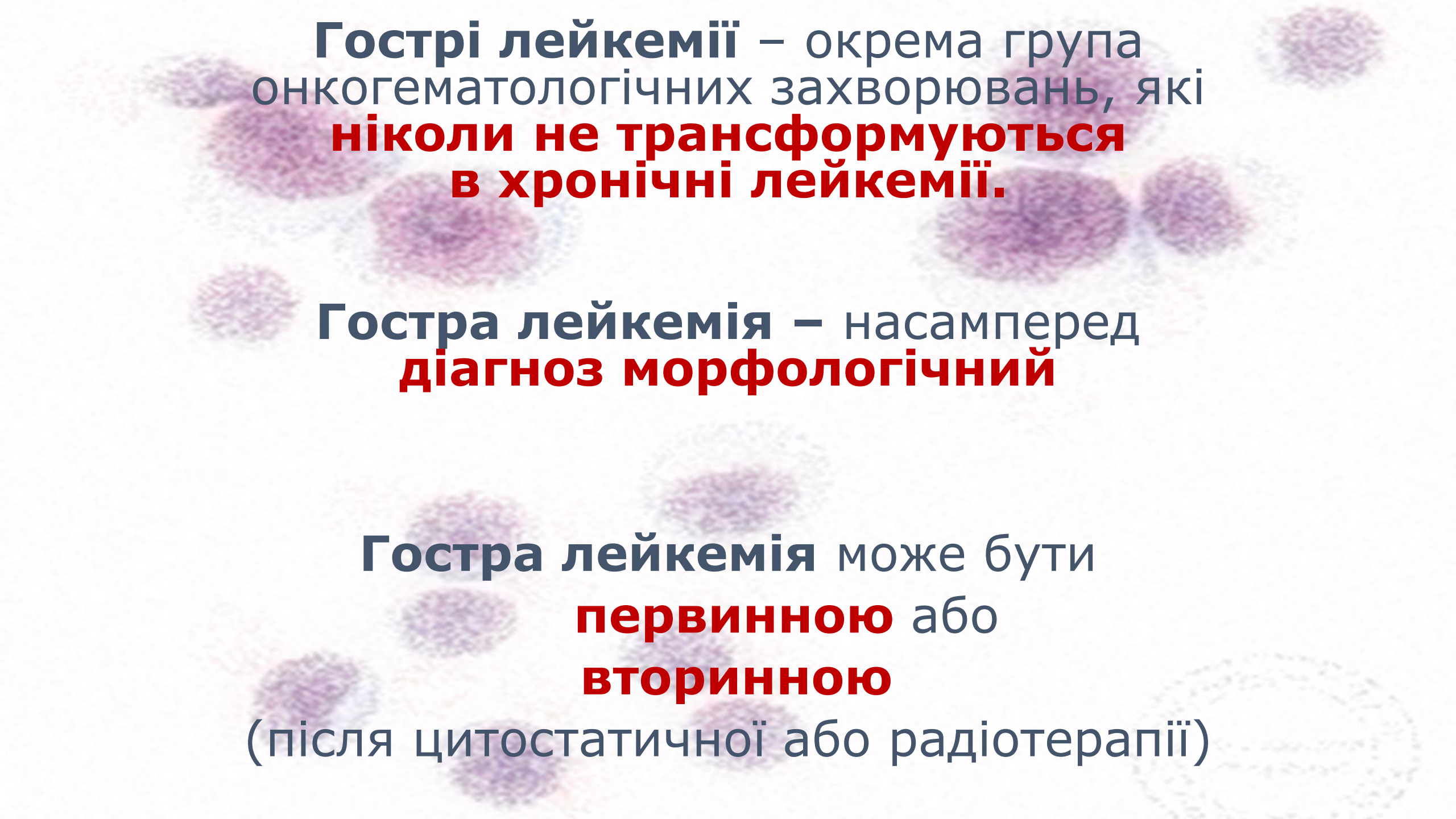
- належністю бластних клітин до тієї чи іншої лінії кровотворення,
- ступенем їх диференціювання,
- ступенем витіснення нормальних паростків кровотворення



Класифікація лейкемій

Лейкемії класифікують за такими критеріями:

- ◎ морфологічним,
- ◎ імунологічним,
- ◎ біохімічним,
- ◎ цитогенетичним.



Гострі лейкемії – окрема група онкогематологічних захворювань, які **ніколи не трансформуються в хронічні лейкемії.**

Гостра лейкемія – насамперед **діагноз морфологічний**

Гостра лейкемія може бути **первинною** або **вторинною**
(після цитостатичної або радіотерапії)

Виділяють два види захворювання, які розрізняються за морфологією, перебігом, характером хіміотерапії, що проводиться, і результатами лікування:

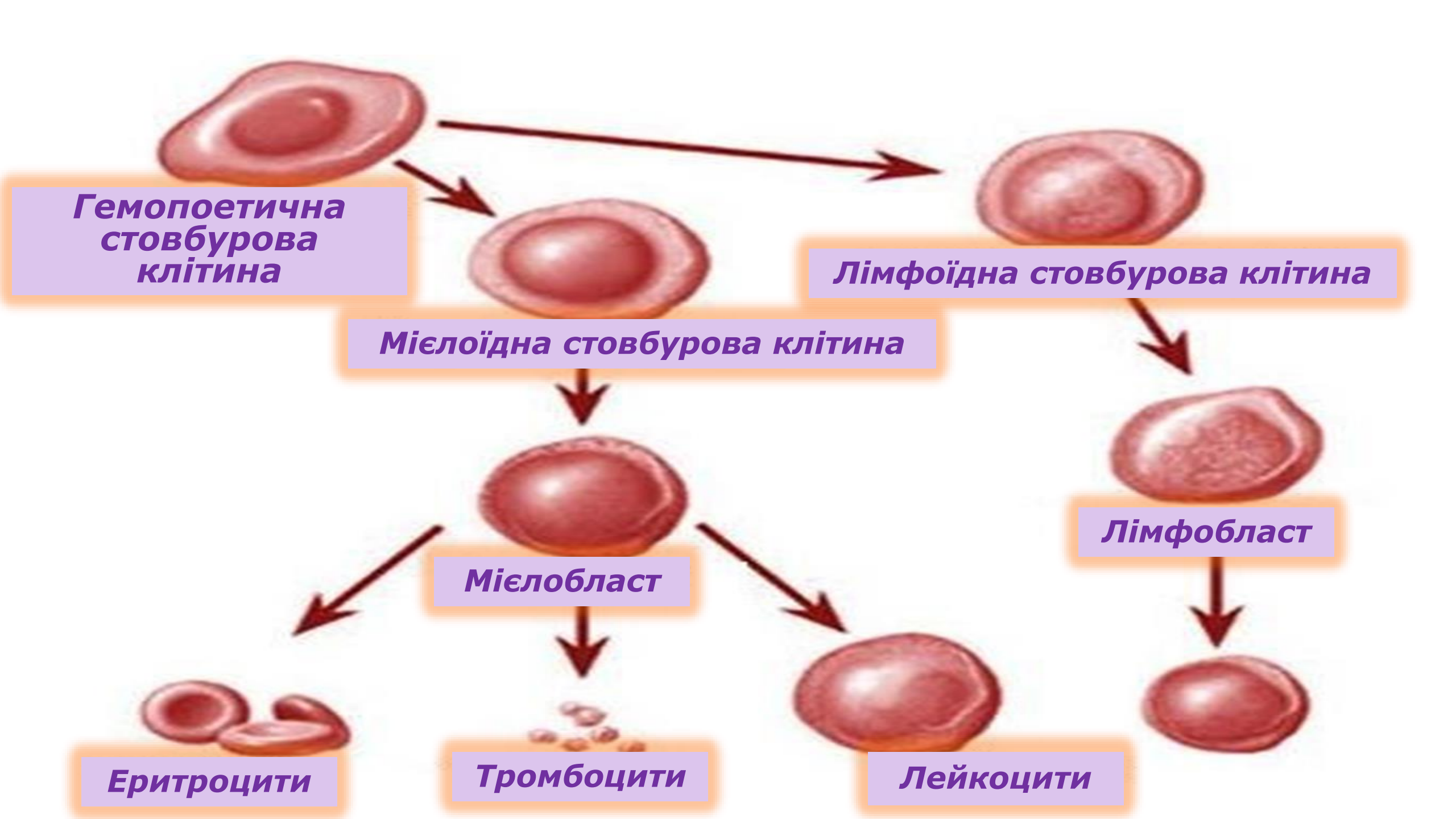
Гостра лімфобластна лейкемія

(90% у структурі лейкемій дітей)

Гострі (нелімфобластні, мієлобластні) лейкемії

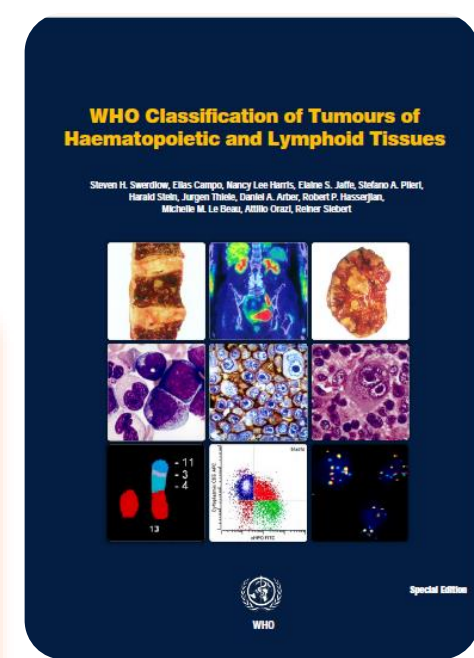
(у 80% випадків розвиваються у дорослих)



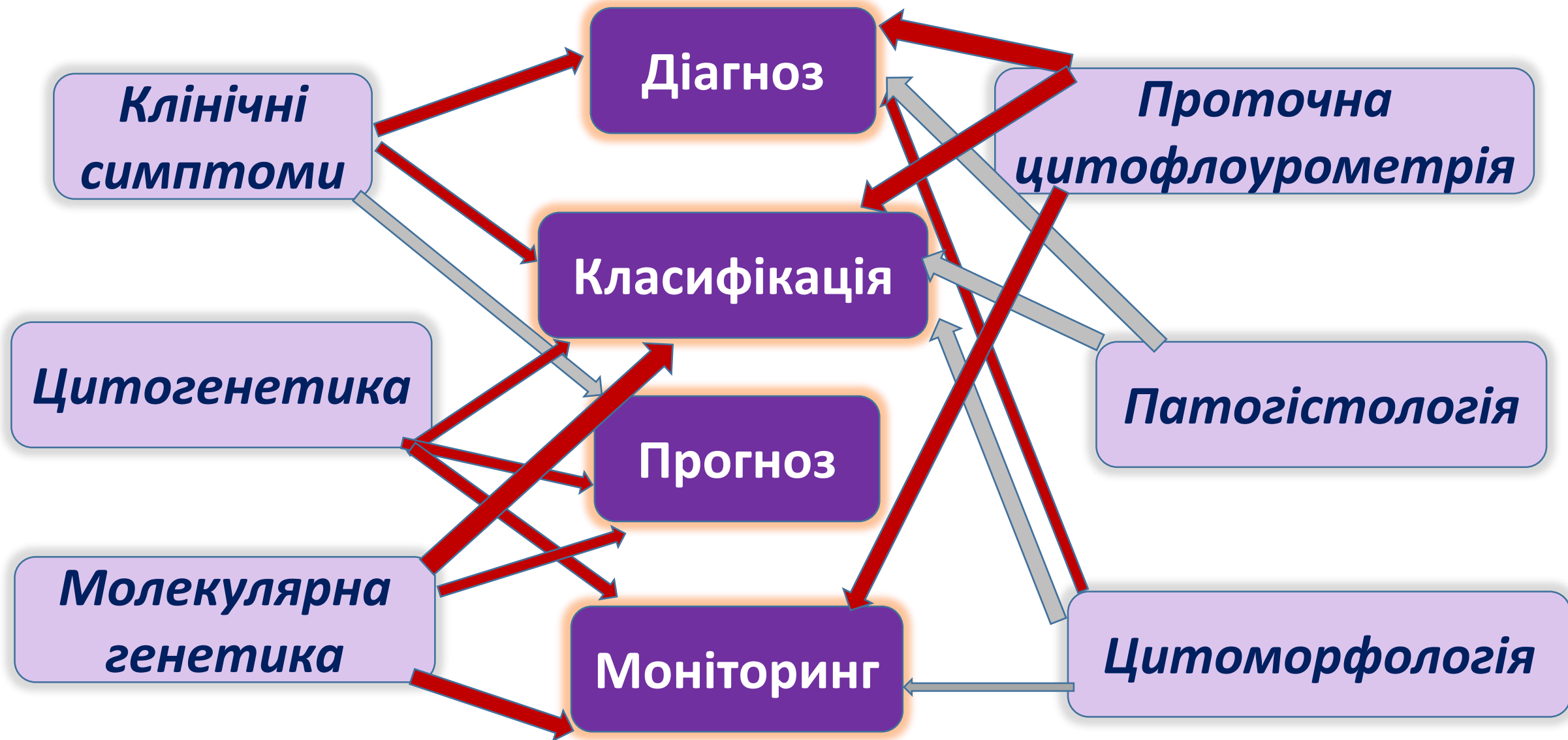


Сучасна класифікація ВООЗ

- *клінічні ознаки*
- *дані, які отримані з використанням морфологічних методів дослідження (гістологічних, цитологічних, цитохімічних)*
- *результати імунофенотипування*
- *результати цитогенетичного і молекулярного аналізу*



Методи клінічного аналізу гострої лейкемії



КЛІНІЧНА КАРТИНА ГОСТРОЇ ЛЕЙКЕМІЇ

У початковому періоді гостра лейкемія перебігає під виглядом захворювань, масок, пов'язаних переважно з гіперпластичним ураженням органів або з вираженим цитопенічним синдромом. Можна виділити **4 варіанти** цього періоду:

Гострий початок захворювання (приблизно у 50 % хворих) характеризується високою лихоманкою, значними проявами інтоксикації, болями у суглобах, животі, горлі. Цей стан зазвичай трактують як грип, ангіну, гостру ревматичну лихоманку, апендицит. У разі правильний діагноз встановлюють лише через 2-3 тижні від появи перших симптомів.

Початок захворювання з вираженим геморагічним синдромом (приблизно у 10 % хворих) проявляється кровотечами різної локалізації: носовими, шлунково-кишковими, церебральними, крововиливами у шкіру, слизові оболонки, склери.

Поступовий початок (приблизно у 35-37 % хворих) характеризується неспецифічним симптомокомплексом: прогресуюча слабкість, зниження працездатності, біль у кістках, м'язах, суглобах, збільшення лімфатичних вузлів, поява невеликих геморагій на шкірі. У разі правильний діагноз встановлюється лише через 4-6 тижнів, провідна роль належить дослідженню периферичної крові.

Безсимптомний початок

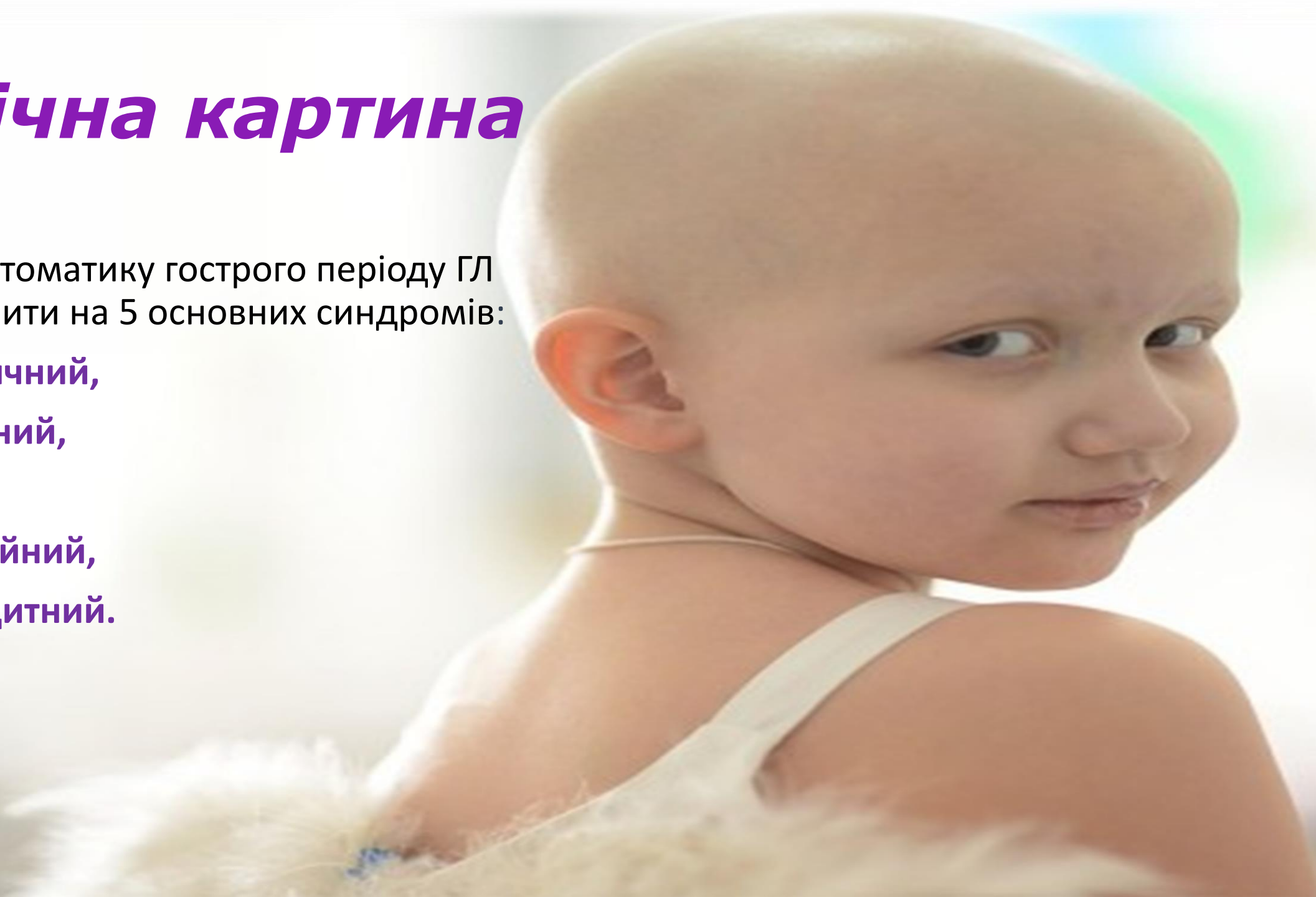
у дітей трапляється рідко. Загальний стан не порушено, самопочуття може бути задовільним. При об'єктивному обстеженні можна виявити незначне збільшення лімфовузлів, печінки та селезінки. Захворювання виявляється при дослідженні клінічного аналізу крові.



Клінічна картина

Клінічну симптоматику гострого періоду ГЛ можна розділити на 5 основних синдромів:

- Ø гіперпластичний,***
- Ø геморагічний,***
- Ø анемічний,***
- Ø інтоксикаційний,***
- Ø імунодефіцитний.***



Анемічний синдром

- розгортається у всіх хворих на лейкемію, **обумовлений різким пригніченням червоного паростка кровотворення, інтоксикацією, кровотечами.**
- Ступінь анемії чітко корелює з інтенсивністю проліферації лейкозних клітин у кістковому мозку та виступає своєрідним барометром активності пухлинного процесу.



Геморрагічний синдром

- обумовлений тромбоцитопенією, підвищенням проникності та зниженням резистентності судинної стінки, дефіцитом факторів згортання, підвищенням фібринолітичної активності.
- Виявляється крововиливами у шкіру та слизові оболонки, носовими, шлунково-кишковими, нирковими, легневими, матковими, церебральними кровотечами, які можуть бути профузними та загрожувати життю пацієнта.



Імунодефіцитний синдром

- пов'язаний із **нейтропенією, різкими порушеннями клітинної та гуморальної ланок імунітету, фагоцитозу, зниженням активності комплементу.**
- Складаються сприятливі умови для розвитку інфекційно-запальних уражень із тяжким перебігом до септичного стану, що може призвести до загибелі хворого.



Гіперпластичний синдром

- обумовлений лейкозною інфільтрацією тканин. Збільшуються **периферичні лімфатичні вузли, печінка, селезінка, піднебінні мигдалики.**
- Можливе значне **збільшення лімфовузлів середостіння** аж до стиснення верхньої порожнистої вени з розвитком характерної симптоматики (задишки, ціанозу, набряку шиї, вибухання шийних вен).
- **гіперплазія ясен** з розвитком важкого виразково-некротичного стоматита.
- **Лейкемічна інфільтрація** субперіостальної зони, шкіри (лейкеміди у вигляді бляшок), яєчок зі значним больовим синдромом, ураження нервової системи (нейролейкемія), бластна інфільтрація інших внутрішніх органів (нирок, легенів, серця).



Інтоксикаційний синдром

закономірно супроводжує період маніфестації та характеризується:

- загальною слабкістю,
- високою температурою тіла,
- пітливістю (особливо вночі),
- головними болями,
- відсутністю апетиту,
- схудненням,
- атрофією м'язів, оссалгіями,
- нудотою, блюванням.



Лихоманка

неопластична (внаслідок самої лейкемії)

відрізняється від інфекційно-запальної лихоманки такими особливостями:

температура тіла щодня на фебрильних цифрах,

тривалість лихоманки більше 2 тижнів,

відсутність проявів інфекції,

відсутність позитивної реакції на емпіричну антибактеріальну терапію,

позитивний ефект від нестероїдних протизапальних препаратів



Нейролейкемія – розвиток лейкозної інфільтрації в оболонках та в речовині головного та спинного мозку, у нервових стовбурах, гангліях вегетативної нервової системи. Зустрічається у 12-18% хворих на лейкемію і суттєво погіршує прогноз.

- **Менінгеальна форма** нейролейкемії проявляється інтенсивними головними болями, нудотою, блюванням, гіпералгезією, симптомами подразнення мозкових оболонок. При дослідженні спинномозкової рідини виявляється плеоцитоз за рахунок бластів, підвищена кількість білка, зниження глюкози.
- **Енцефалітична форма** характеризується інтенсивними головними болями, порушеннями сну, можливі марення, галюцинації, судоми, осередкова симптоматика. У лікворі збільшено кількість білка, підвищення глюкози при нормальному цитозі.
- **Дієнцефальна форма** нейролейкемії проявляється патологічною сонливістю, порушеннями терморегуляції, розвитком булімії, спрагою, поліурією, порушеннями дермографізму, підвищенням артеріального тиску. У лікворі нормальний або трохи підвищений цитоз, підвищена кількість білка, зниження глюкози.
- **Менінгомієлітична форма** характеризується появою нижнього парапарезу, порушенням ходи, функцією тазових органів, розвитком корінцевих симптомів. У лікворі нормальний рівень лейкоцитів, підвищений вміст білка та глюкози.
- **Полірадикулоневритична форма** нейролейкемії характеризується порушеннями функції різних черепно-мозкових нервів, чуттєвості у дистальних відділах рук та ніг, зниженням сухожильних рефлексів.
- Для діагностики нейролейкемії, крім ретельного неврологічного дослідження, використовують аналіз цереброспінальної рідини, нейроофтальмологічні дослідження, комп'ютерну томографію мозку. Особливого значення має дослідження клітинного складу цереброспінальної рідини.



Ознаки ураження сечо-статтєвої системи

- ураження яєчок - у 10-23% хворих чоловічої статі;
- безболісні;
- приховане ураження діагностується у 10-33% пацієнтів, що визначається у багатьох пацієнтів за допомогою УЗД;
- іноді може виявлятися гематурією, гіпертензією чи гострою нирковою недостатністю.



Ознаки ураження ШКТ

- ШКТ часто уражається при ГЛЛ.
- Найбільш частою ознакою є кровотеча з ШКТ.
- Не має клінічних ознак, при термінальній стадії лейкемії виникає некротична ентеропатія. Часто уражається товстий відділ кишечника - тифліт.



Ознаки ураження кісток і суглобів

- Кістковий біль - це найчастіший симптом ураження кісток і спостерігається у 25% пацієнтів. Результат ураження лейкозним інфільтратом кісток – періостит, інфаркти кісток, заміщення кісткових порожнин бластними клітинами.



Клінічні маски гострої лейкемії

Гіперпластичний синдром	Цитопенічний синдром
Хрон. тонзиліт, отит, ангіни	Анемії
Інфекційний моноклеоз	Тромбоцитопенічна пурпура
Гінгівіт, стоматит	Геморагічний васкуліт
Холецистохолангіт, гепатит	Імунодефіцитні стани
Затяжний перебіг пневмонії	Інфекційні захворювання (часті ГРЗ)
Хондроостеодистрофії, патологічні переломи	Лихоманка нез'ясованого генезу
Лімфаденіт	
Лейкемоїдні реакції	
Артрит (реактивний, ревматоїдний)	
Системні захворювання сполучної тканини	
Злоякісні пухлини іншого генезу	
Туберкульоз, бруцельоз	
Менінгіт, енцефаліт	

Діагностика гострих лейкемій



Алгоритм діагностики гострих лейкемій

I етап діагностики – встановлення факту наявності гострої лейкемії.

≥ 30% бластних клітин у кістковому мозку (за FAB- класифікацією)

≥ 20% бластів (за ВООЗ- класифікацією)

II етап діагностики – верифікація форми гострої лейкемії:

а) визначення мієлоїдної або лімфоїдної спрямованості бластних клітин;

б) визначення варіанта гострої лейкемії

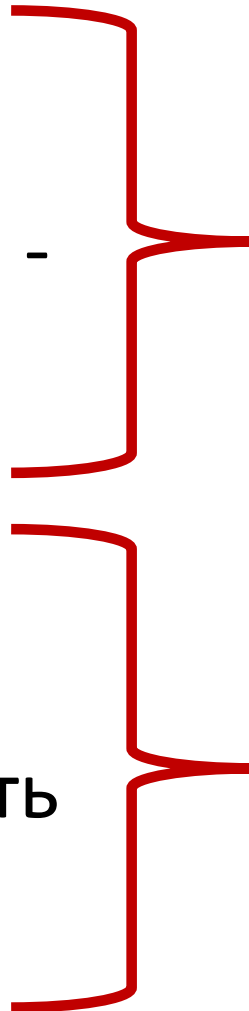
III етап діагностики – визначення групи ризику і маркерів для наступного відстеження резидуальної хвороби

Специфічний стан, при якому рівень бластних клітин у кістковому мозку нижче 5%, але пухлинний клон визначається іншими методами, описують терміном **«мінімальна залишкова/резидуальна хвороба» МЗХ**

Лабораторні дослідження

При гострій лейкемії у дітей у периферичній крові виявляють:

- бластні клітини,
- характерним діагностичним критерієм є «лейкемічний провал» (зіяння) (hiatus leucaemicus) - відсутність проміжних форм між бластними та зрілими клітинами.
- анемію, тромбоцитопенію,
- високу ШОЕ;
- кількість лейкоцитів варіабельна: частіше виявляють лейкоцитоз різного ступеня, зрідка - лейкопенію.



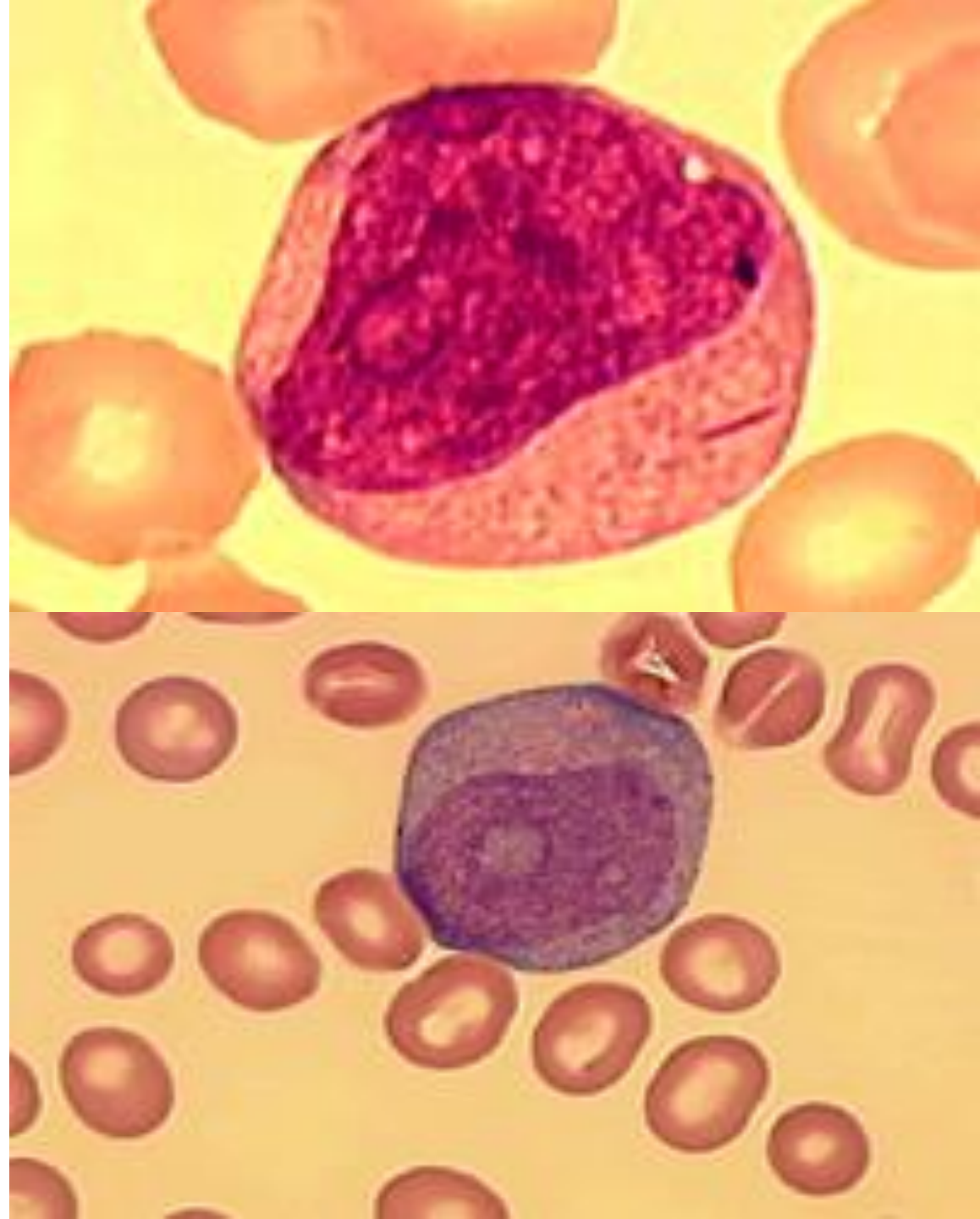
Бластні клітини

**Бласт нагадує лімфоцит
(10 -20 мкм)**

Ядерно - цитоплазмове співвідношення на користь ядра.

Структура ядра – *ніжно – хроматинова, тонкосітчаста з рівномірним забарвленням та калібром ниток хроматину. У ядрі видно нуклеоли від 2 шт (це накопичення РНК).*


Цитоплазма - *базофільна, характерна азурофільна зернистість червоного кольору, яка може кристалізуватись з утворенням паличок Ауера.*



Класифікація лейкемій за кількістю лейкоцитів у крові (Дамешек)

1. Лейкопенічна лейкемія ($< 4 \times 10^9/\text{л}$);
2. Алейкемічна лейкемія ($4-9 \times 10^9/\text{л}$);
3. Сублейкемічна лейкемія ($> 9 \times 10^9/\text{л}$ до $100 \times 10^9/\text{л}$);
4. Лейкемічна лейкемія ($> 100 \times 10^9/\text{л}$)

Приклад клінічного аналізу крові хворого на ГЛ

- Гемоглобін – 79г/л;
- еритроцити – $2,8 \times 10^{12}$;
- кольоровий показник - 0,9;
- лейкоцити – 10.0×10^9 ;
- Базофіли – 0%;
- еозінофіли – 0%;
- **Бласти – 37%**; 
- Промієлоцити – 0%
- Мієлоцити – 0%
- Метамієлоцити – 0%
- нейтрофіли паличкоядерні -1%;
- сегментоядерні – **12%; (1300)**,
- лімфоцити -45%;
- моноцити – 5%.
- **Тромбоцити – 30.000**

“лейкемічний провал” -
hiatus leukaemicus

Картина крові при гострій лімфобластній лейкемії

L = 60 x 10⁹/л

Е	Б	Нейтрофіли				Лімфоцити			Мон
		М	Ю	П	С	Лбл	Пл	Лімф	
2-4	0-1	--	--	3-6	51-67	---	---	23-40	4-8
---	---	--	--	---	8	60	25	7	---

Відсутній h.I. Цитохімія: глікоген (глибками +)

Картина крові при гострій лімфобластній лейкемії

$L = 90 \times 10^9 / \text{л}$

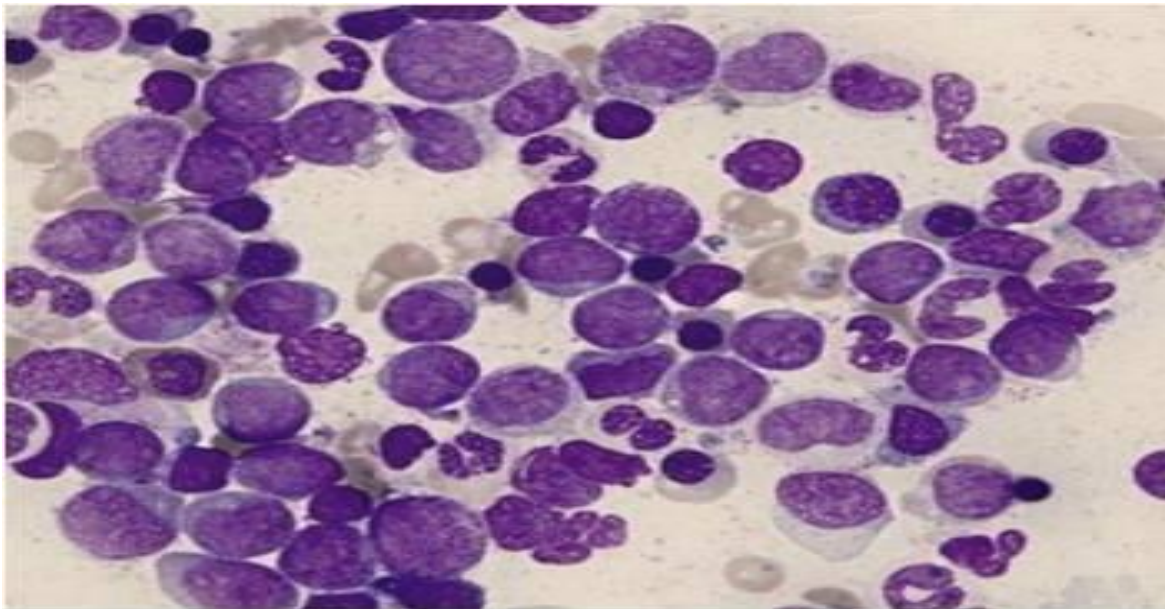
Е	Б	Нейтрофіли				Лімфоцити			Мон
		М	Ю	П	С	Лбл	Пл	Лімф	
2-4	0-1	--	--	3-6	51-67	---	---	23-40	4-8
1	---	--	--	---	7	86	---	6	---
							h.l.		

hiatus leukemicus (h.l.)

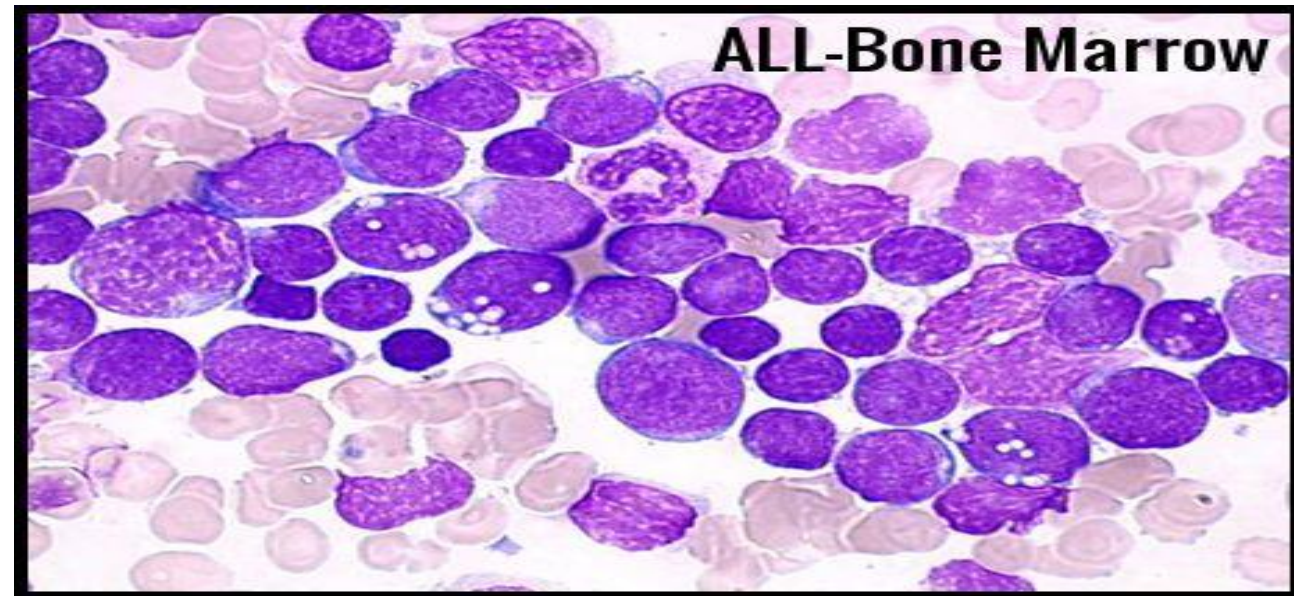
Дослідження кісткового мозку

Вірогідний діагностичний критерій гострої лейкемії - виявлення бластних клітин у стернальному пунктаті в кількості більше 25% клітинного складу червоного кісткового мозку (20% при ГМЛ).

Total replacement of hematopoietic stem by blasts



• AML



ALL

Класифікація гострих лейкемій

FAB класифікація

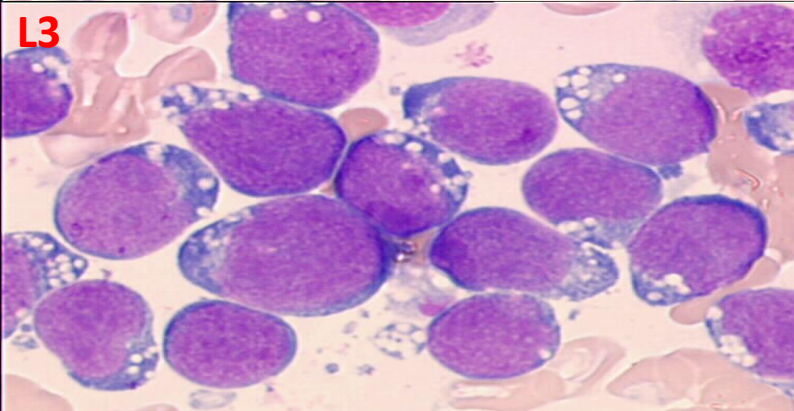
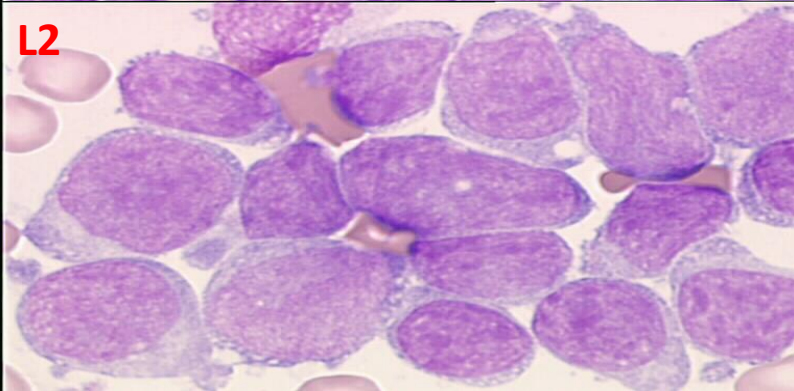
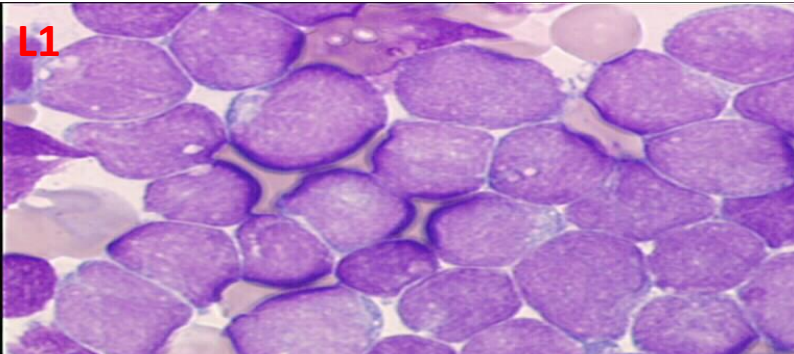
L1-L2-L3

M0,M1,M2,M3,M4,M5,M6,M7

Classification system	Modalities of testing	Broad subtypes
French-American-British (FAB) Classification, 1976	Morphology Cytochemistry AL defined as $\geq 30\%$ myeloblasts/monoblasts/lymphoblasts in blood or marrow Erythroleukaemia: $\geq 50\%$ erythroid cells, $\geq 30\%$ myeloblasts in non-erythroid cells	Eight subtypes of AML (M0-M7): M0 – AML minimal differentiation M1 – AML without maturation M2 – AML with maturation M3 – acute promyelocytic leukaemia M4 – acute myelomonocytic leukaemia M5 – acute monoblastic (M5a) or monocytic (M5b) leukaemia M6 – acute erythroleukaemia or pure erythroid leukaemia M7 – acute megakaryoblastic leukaemia Three subtypes of ALL based on morphology: L1, L2, L3

МОРФОЛОГІЧНА КЛАСИФІКАЦІЯ:

Франко-Американсько-Британська робоча група (FAB) по лейкемії у 1976 р. прийняла загальноприйняту на даний час класифікацію лейкозів за морфологічними характеристиками:



Гостра лімфобластна лейкемія (ГЛЛ)

L1 - дрібні з вузьким обідком цитоплазми і важко помітним ядрцем клітини. Найбільш поширена клітина при всіх типах ГЛЛ у дітей

L2 - більший за L1, більш широкий обідок цитоплазми, одне або більше виражених ядрців. Клітини менш типові, ніж L1, їх іноді помилково сприймають за мієлобласти.

L3 великі клітини з базофільною вакуолізованою цитоплазмою та чітко вираженими ядрцями. Трапляються рідко і, як правило, є маркерами В-клітинного варіанта ГЛЛ.

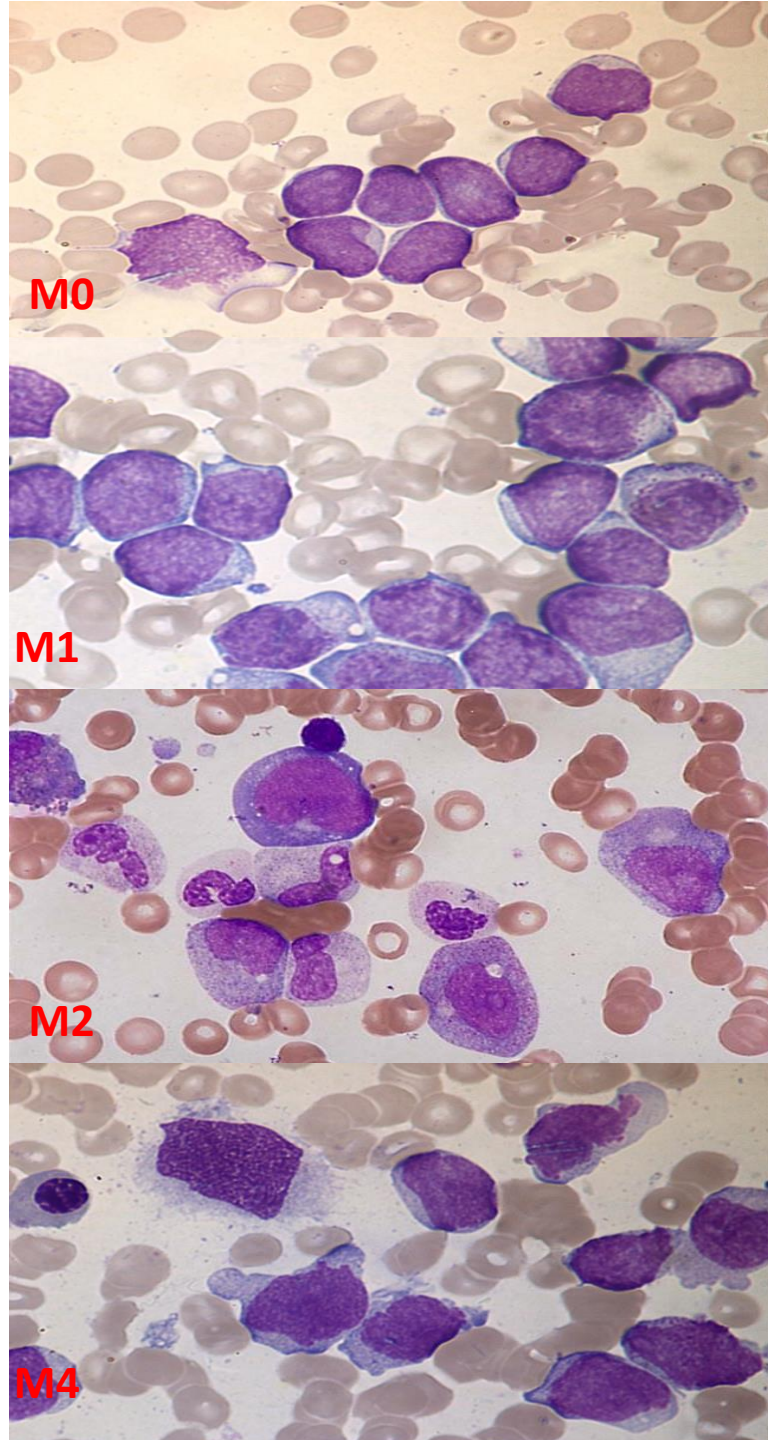
Такий поділ практично важливий, тому що L1 мають більш сприятливий прогноз.

Серед гострих нелімфобластних лейкозів (ГНЛЛ) виділяють:

Гостра мієлоїдна лейкоз:

- M0 - недиференційована
- M1 - гостра мієлобластна лейкоз недиференційована
- M2 - гостра мієлобластна лейкоз з диференціацією
- M3 – гостра промієлоцитарна лейкоз
- M4 – гостра мієломонобластна лейкоз
- M5 – гостра монобластна лейкоз
- M6 - гостра еритролейкоз
- M7 - гостра мегакаріобластна лейкоз

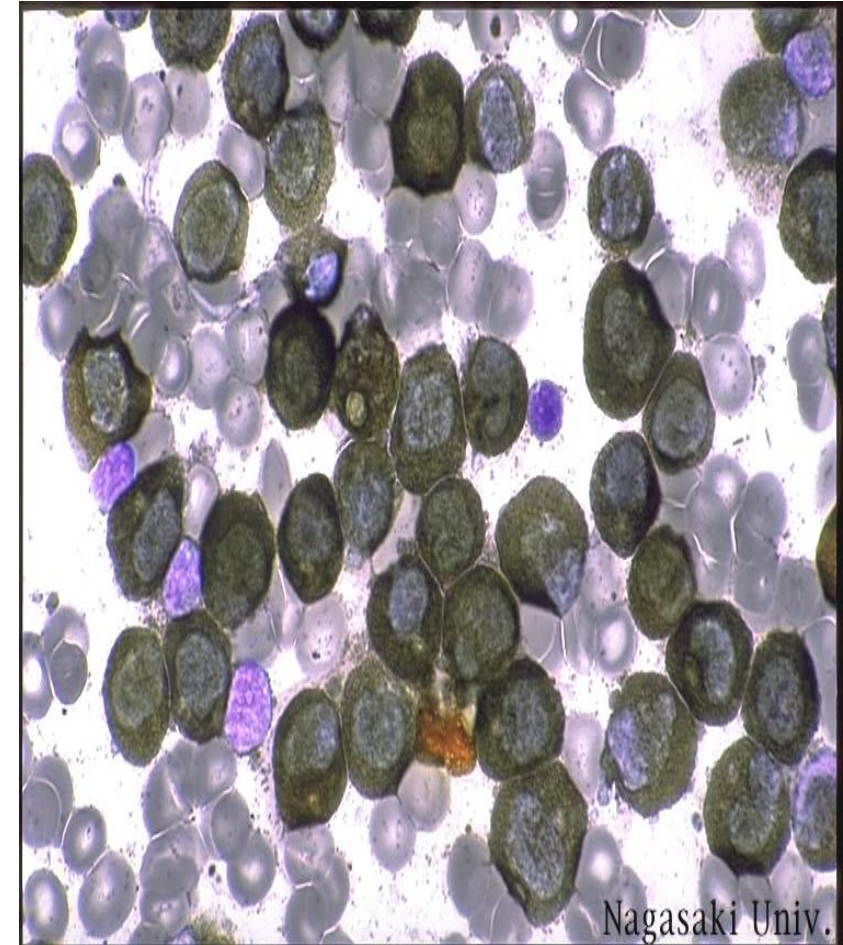
Вроджена лейкоз є особливою формою гострої лейкозії



Діагностика ГЛ

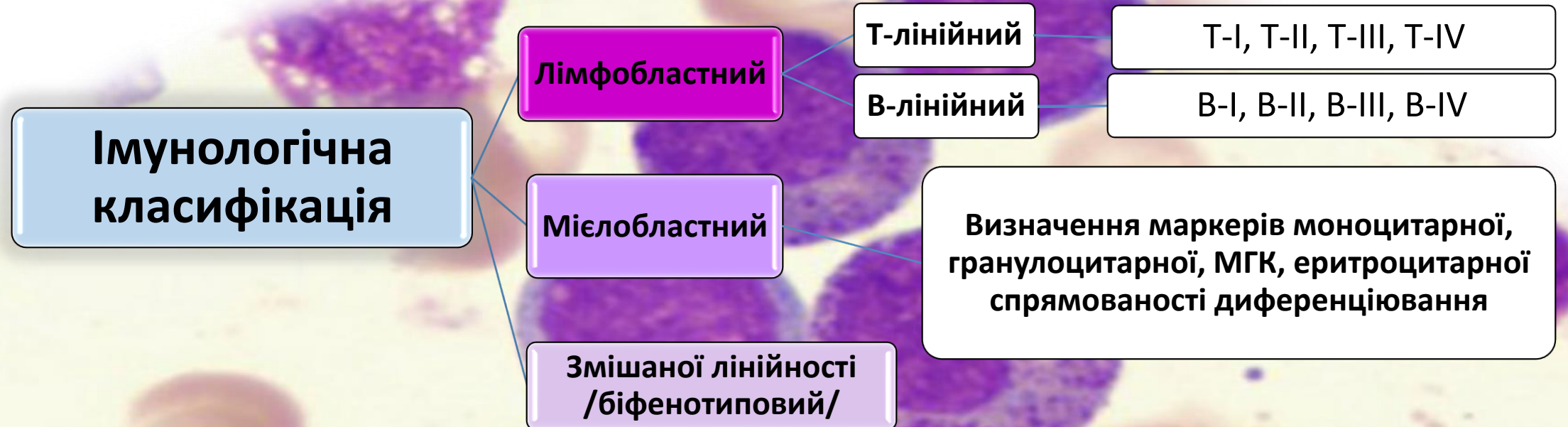
Цитохімічне дослідження кісткового мозку: мієлопероксидаза, ліпіди, глікоген, неспецифічна естераза (альфа-нафтілацетатестераза та альфа - нафтилбутиратестераза).

1. При **гострих лімфобластних лейкеміях** визначається негативна реакція на пероксидазу, ліпіди, хлорацетатестеразу.
2. При **гострих мієлобластних лейкеміях** - **позитивна реакція** на мієлопероксидазу, ліпіди, хлорацетатестеразу. ШИК-реакція залежить від форми гострої мієлоїдної лейкемії.
3. Маркер моноцитарного ряду виражена активність неспецифічної естерази



Позитивна реакція на мієлопероксидазу при ГМЛ

Класифікація гострих лейкемій



Classification system	Modalities of testing	Broad subtypes
European Group for Immunological Classification of Leukaemias (EGIL), 1995	Morphology Cytochemistry Immunophenotyping	AML: introduced immunological definitions for AML M0, M6 and M7 Immunological subclassification of B and T precursor ALL Biphenotypic and undifferentiated AL defined

Імунофенотипування

Впровадження у практику моноклональних антитіл дозволило ідентифікувати специфічні рецептори, антигени та інші молекули (маркери) на мембрані та/або цитоплазмі бластних клітин.

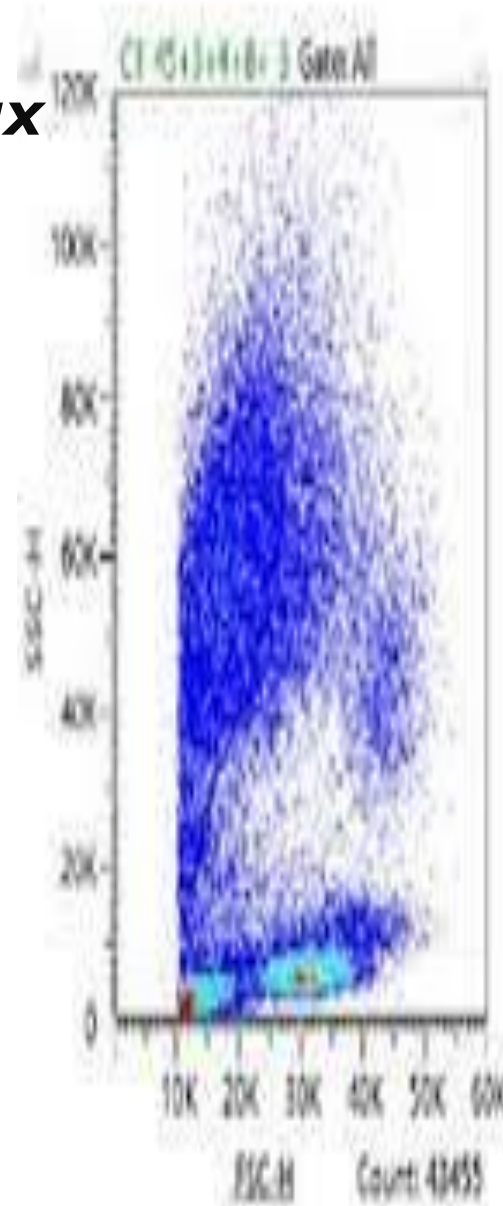
На даний час ідентифіковано понад 200 маркерів, які отримали назву кластерів диференціювання (CD).

Імунофенотипування необхідне для:

- 1) підтвердження діагнозу
- 2) встановлення діагнозу при сумнівних морфологічних та цитохімічних результатах
- 3) моніторингу виділення нових більш злоякісних клітин;
- 4) розподілу ГЛ на різні прогностичні групи

Приклад: гостра недиференційована лейкемія –

HLA-DR+, CD15+ |-, CD13+ \-, CD33+ \-



Імунофенотипична класифікація ГЛЛ

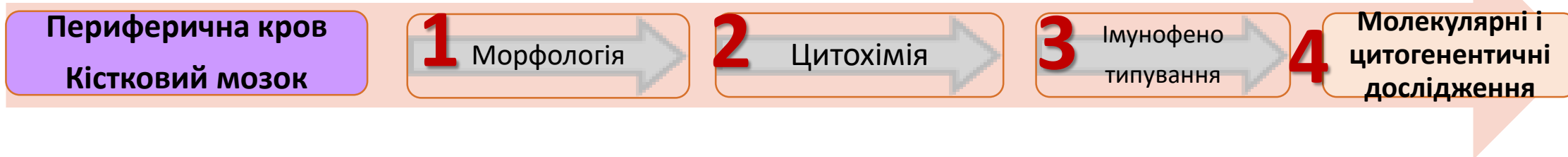
Варіант ГЛЛ	Характерні маркери	Частота,%
Ранній пре-В	CD10-, CD19+, cIg-, sIg-, cCD79 α +, cCD22+	5-10
Common	CD10+, CD19+, cIg-, sIg-	40-45
Пре-В	CD10+, CD19+, cIg+, sIg-	20
В	CD10+/-, CD19+, cIg-, sIg+	4-5
Пре-Т	CD7+, cCD3+	5-6
Т	CD1+, CD3+, CD4+, CD7+, CD8+	20

Імунофенотипична класифікація ГМЛ

(для ГМЛ морфологічна та імунологічна співпадають)

Імуноподваріант лейкемії	Клітинний фенотип
M0- малодиференційована лейкемія	HLA-DR+, CD15+ - , CD13+ - , CD33+ -
M1-мієлобластна лейкемія без дозрівання	HLA-DR+ - , CD38+ - , CD11a+ - , RFB1+ - CD53
M2-мієлобластна лейкемія з дозріванням	HLA-DR+ -CD72+ ,CD38+ - ,CD53+
M3-промієлоцитарна лейкемія	CD53+ ,RFB1+ - ,CD11b+ -
M4- мієломонобластна	HLA-DR+ ,CD15+ ,CD38-
M5-монобластна	HLA-DR+ ,CD11b+ ,CD15
M6-еритромієлоз	HLA=DR+ - ,CD38-
M7-мегакаріобластна	CD38+ ,CD41+ ,HLA-DR+ -

Діагностика гострих лейкемій



Цитогенетичне дослідження

- У 90% хворих на ГЛ знаходять генетичні поломки (транслокації, делеції, інверсії, гіперплоїдію...).
- При ГЛЛ транслокація (9;22) або (4;11) – фактор несприятливого прогнозу.
- Гіперплоїдія характерна для сприятливого перебігу ГЛ (часто у дітей з ГЛЛ).

Діагностичні та прогностичні мутації

Мієлоїдні лейкоемії

t (8;21) – AML-ETO – M2 **t (15;17) – PML-RARa – M3**

Inv (16) – M4

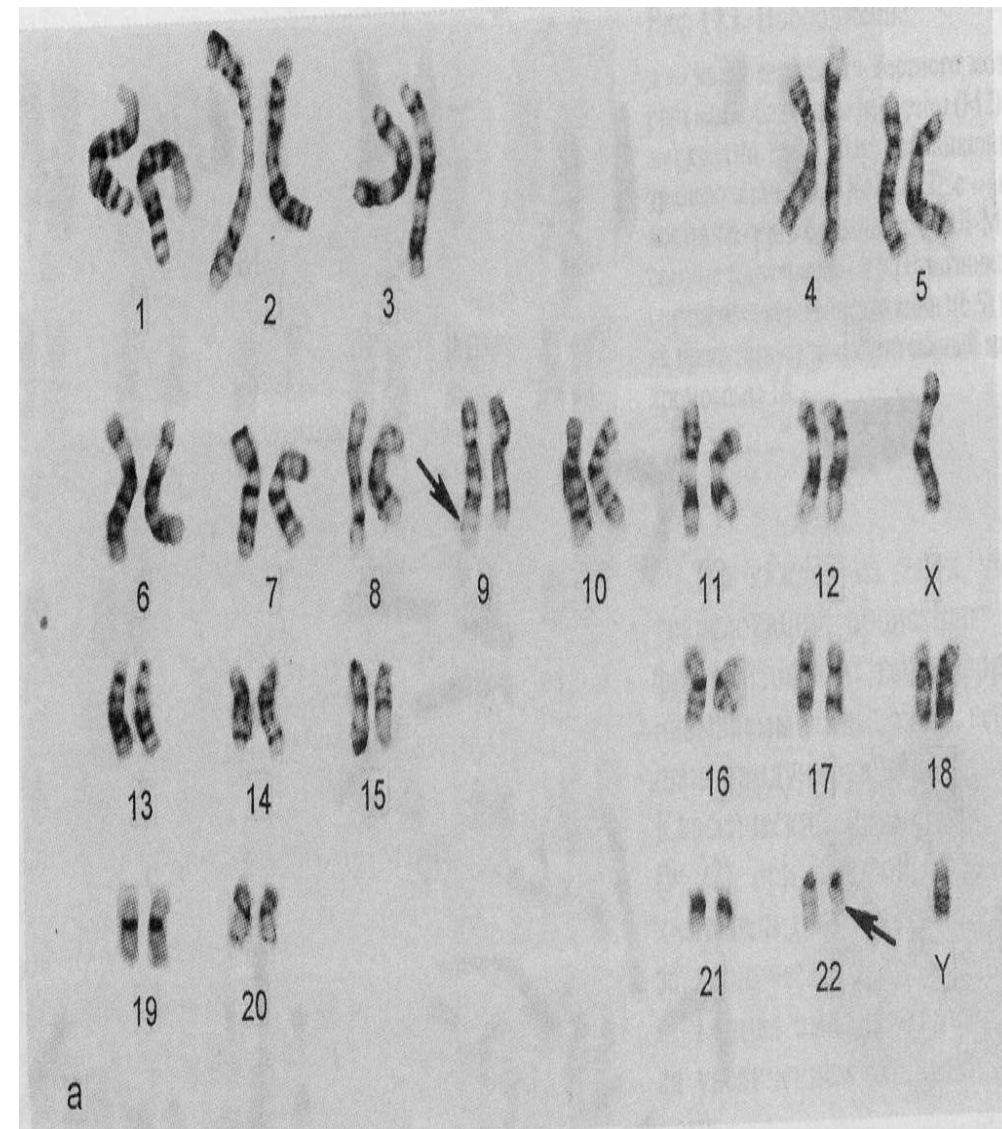
t (1;22) – M7

Лімфобластні лейкоемії

t (9;22) – p190

t (4;11)

t (1;19)



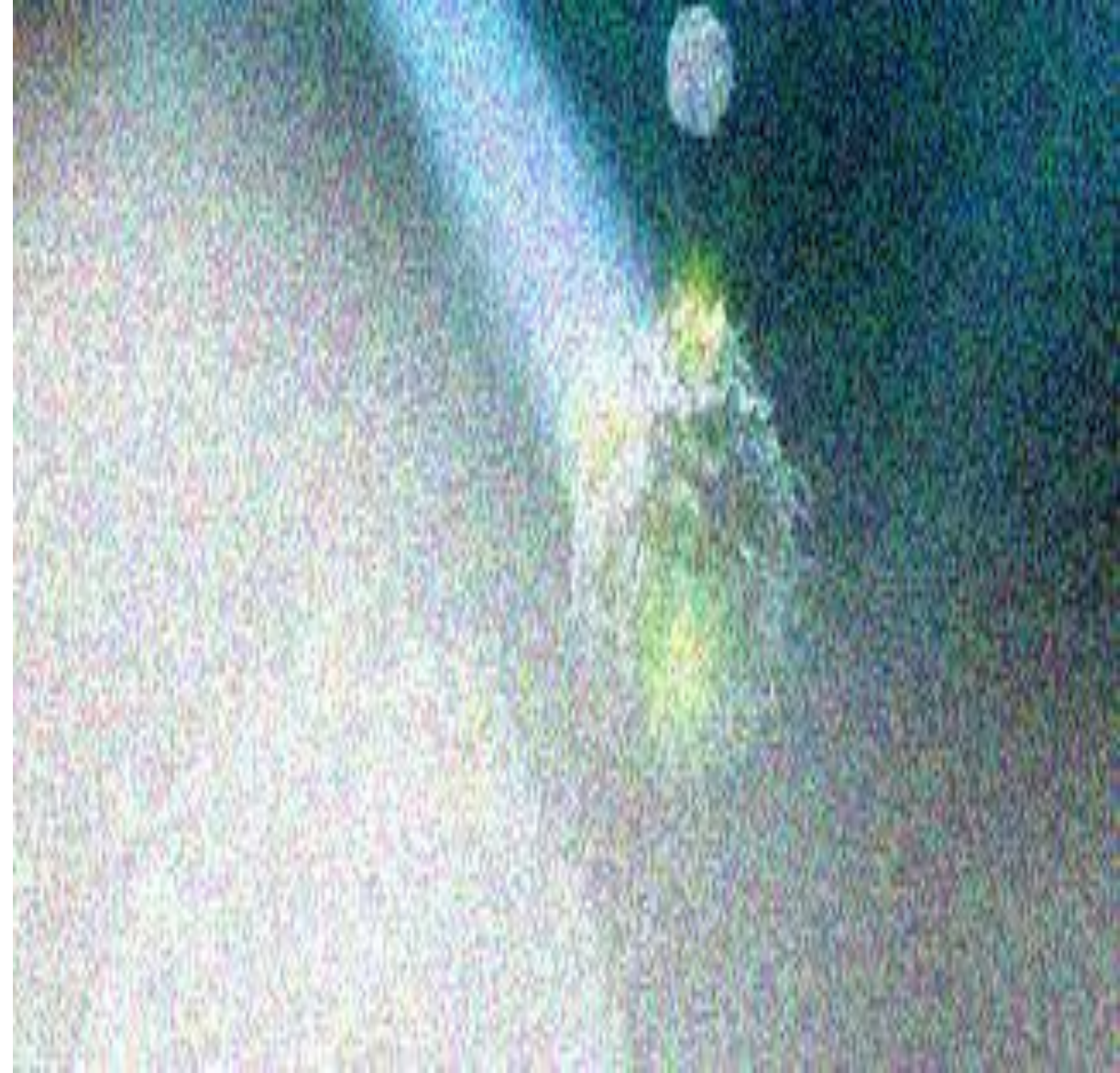
Філадельфійська хромосома

Імунологічні та цитогенетичні варіанти гострих лімфобластних лейкемій

Тип і частота	Імунофенотип	Цитогенетичні порушення
Пре-преВ-ГЛЛ (рання пре-преВ 5-10% и Common 45%)	HLA-DR, TdT+, CD34+, CD10+ \- ,CD19+, cIg-, sIg-, CD20- \+, CD24+ \-	T(12,21)d 20-25%, t(9,22), 11q23
Пре-В-ГЛЛ – 20%	HLA-DR, CD19, CD20+ \- ,CD24, CD9, CD10, CD34-	T(1,19)
В-ГЛЛ – 4-5%	HLA-DR, CD19, CD20, CD22, CD24	T(8,14), t(2,8), t(8,22)
Т-ГЛЛ -20-31%	HLA-DR+ \-, CD1, CD2, CD3, CD5, CD7,	T(1,14)d 15-25%

Діагностика ГЛ

- Імунофенотипування бластних клітин.
- Молекулярно-біологічне дослідження на протоонкогени (ПЛР).
- Цитогенетичне дослідження. ММТ - тест (на чутливість до цитостатиків).
- Дослідження на апоптоз.
- Рентгенографія органів грудної клітини.
- Скелетограма (за необхідності).
- КТГ (органів грудної порожнини, брюшної порожнини, голови).



Діагностика ГЛ

- Біохімічне дослідження: електроліти, сечовина, сечова кислота, «печінкові» проби, білірубін та ін.
- Дослідження ліквора: біохімічний склад і клітини. Спиномозкова рідина має діагностичне значення під час діагностики нейролейкемії.
- Гемостазіограма: зниження факторів коагуляції часто спостерігається при ГМЛ, включає гіпофібриногенемію, зниження рівнів факторів V, IX, X.



Діагностика ГЛ

- Дослідження функції ССС: ЕКГ і УЗД серця.
- Дослідження імунології: рівень сироваткових імуноглобулінів, рівень С 3 і С4.
- Дослідження вірусологічного профіля: титр АТ до вірусу вітряної віспи, ЦМВ, АТ до вірусу простого герпесу, скринінг АТ до гепатитів (HBV, HCV, HBV+HDV, HGV, HFV, HXV).



Алгоритм діагностики гострих лейкемій

III етап діагностики – визначення групи ризику і маркерів для наступного відстеження резидуальної хвороби

Специфічний стан, при якому рівень бластних клітин у кістковому мозку нижче 5%, але пухлинний клон визначається іншими методами, описують терміном **«мінімальна залишкова/резидуальна хвороба» МЗХ**

Мінімальна залишкова хвороба

Лімфобластні ГЛ

NCCN National Comprehensive Cancer Network®

NCCN Guidelines Version 5.2017
Acute Lymphoblastic Leukemia

[NCCN Guidelines Index](#)
[Table of Contents](#)
[Discussion](#)

MINIMAL RESIDUAL DISEASE ASSESSMENT

- The optimal sample for MRD assessment is the first pull or early pull of the bone marrow aspirate.
- MRD in ALL refers to the presence of leukemic cells below the threshold of detection by conventional morphologic methods. Patients who achieved a CR by morphologic assessment alone can potentially harbor a large number of leukemic cells in the bone marrow.
- MRD is an essential component of patient evaluation over the course of sequential therapy. If patient is not treated in an academic center, there are commercially available tests available that should be used for MRD assessment.
- Studies in both children and adults with ALL have demonstrated the strong correlation between MRD and risks for relapse, as well as the prognostic significance of MRD measurements during and after initial induction therapy.
- The most frequently employed methods for MRD assessment include multicolor flow cytometry assays specifically designed to detect abnormal MRD immunophenotypes, real-time quantitative polymerase chain reaction (RQ-PCR) assays, and next-generation sequencing-based assays to detect fusion genes (eg, *BCR-ABL1*), clonal rearrangements in immunoglobulin (Ig) heavy chain genes, and/or T-cell receptor (TCR) genes.
- Current multicolor flow cytometry or PCR methods can detect leukemic cells at a sensitivity threshold of $<1 \times 10^{-4}$ ($<0.01\%$) bone marrow mononuclear cells (MNCs).^{1,2} The concordance rate for detecting MRD between these methods is generally high.
- Timing of MRD assessment:
 - ◊ Upon completion of initial induction.
 - ◊ Additional time points should be guided by the regimen used.

Мієлобластні ГЛ

NCCN National Comprehensive Cancer Network®

NCCN Guidelines Version 1.2018
Acute Myeloid Leukemia

Role of MRD Monitoring

Currently, NCCN does not provide recommendations on the use of MRD monitoring until further studies can provide consistent and reliable results; however, due to the rapidly evolving field and the undeniable need for monitoring, current trends in this field are discussed below.

While morphologic assessment is the first step in a cure for AML, there remains a level of MRD that currently lacks any standardized method of monitoring. Two promising techniques are real-time quantitative PCR (RQ-PCR) and flow cytometry. RQ-PCR amplifies leukemia-associated genetic abnormalities, while flow cytometric profiling detects leukemia-associated immunophenotypes (LAIPs).²¹⁻²³ Both methods have a higher sensitivity than conventional morphology. RQ-PCR has a detection range of 1 in 1000 to 1 in 100,000, while flow cytometry has sensitivity between 10^{-4} to 10^{-5} . The challenge of incorporating these techniques into routine practice is a lack of standardization and established cutoff values, though ongoing research is focused on addressing these limitations. Most of what is known about MRD monitoring has been done in the APL population;^{241,242} however, these techniques are now expanding to include other AML subtypes. The data from these methods have been correlated with AML treatment outcome and the preliminary results are promising. Refinement of these methods to take into account variables including the intrinsic nature of the transcript as well as factors of the patient population, including age, disease severity, and treatment, will make MRD monitoring in patients with AML a more reliable tool.

0,01 % - поріг позитивності МЗХ

% вмісту пухлинних клітин серед усіх клітин кісткового мозку, які мають ядро

МЗХ на 15-й протокольний день

МЗХ < 0,1% - група стандартного ризику розвитку рецидива

0,1% ≤ МЗХ < 10% - група середнього (проміжного) ризик

МЗХ ≥ 10% - група високого ризику

відстеження МЗХ можливо тільки при початковій ідентифікації лейкомічного клону.

Стратифікація до групи ризику пацієнтів з В-ГЛЛ

Стратифікація пацієнтів базується на біологічних/молекулярно-цитогенетичних критеріях та критеріях відповіді на терапію. Виділяють дві основні часові точки (ЧТ) для проведення стратифікації:

1. **ЧТ-1** – визначається як 33-й день Protocol IA (завершення індукційної терапії)
2. **ЧТ-2** – визначається як 78-й день Protocol IB (завершення консолідувальної терапії)

Таблиця 4. Критерії стратифікації до групи стандартного ризику.

Для віднесення до групи стандартного ризику мають виконуватись всі перераховані нижче клінічні, молекулярно-генетичні критерії та критерії відповіді на терапію	
Клінічні критерії	<ul style="list-style-type: none">• Вік від 1 до 6 років• Ініціальна кількість WBC < 20 тис. в мкл• CD10+ (common)-фенотип• ЦНС-1 статус*
Молекулярно-генетичні критерії	<ul style="list-style-type: none">• Гіпердиплоїдія** та/або <i>TEL/AML (ETV6/RUNX1)</i>• Відсутність молекулярно-генетичних аномалій високого ризику***
Критерії відповіді на терапію	<ul style="list-style-type: none">• Гарна відповідь на преднізолон (<1000 бластів в мкл.) на 8-й день профази• Рівень МЗХ за даними проточної цитометрії <0,1% на 15-й протокольний день за

умов МЗХ- негативного статусу в ЧТ-1 та ЧТ-2 (< 1x10⁻⁴)

- МЗХ негативний статус в ЧТ-1 (за умови використання методу (проточна цитометрія або ПЛР) із роздільною здатністю не менше 10⁻⁴)

Примітки:

* Відсутність бластів в СМР при дослідженні цитоцентрифугату та атравматичність пункції відповідно до алгоритму Steinherz-Bleyer.

** Наявність більше 50 хромосом в лейкемічних бластах або ДНК-індекс (визначається як співвідношення ДНК в лейкемічних бластах по відношенню до вмісту у нормальних диплоїдних лімфоцитах) ≥ 1.16

*** *KMT2A(MLL)-AFF1*, *TCF3-HLF*, гіподиплоїдія (24-39 хромосом), мутації гена *TP53* (соматичні та вроджені), *KMT2A (MLL)*-рearанжування, *IKZF1*, *BCR/ABL1*, *BCR/ABL1*-подібні.

Таблиця 5. Критерії стратифікації до групи високого ризику.

Для віднесення до групи високого ризику достатньо <u>одного з перерахованих нижче</u> клінічного, молекулярно-генетичного критерія або критерія відповіді на терапію	
Молекулярно-генетичні критерії	<ul style="list-style-type: none">● реаранжування <i>KMT2A-AFF1</i> (MLL-AF4)● реаранжування <i>TCF3-HLF</i>● гіподиплоїдія (< 45 хромосом)● Мутації групи IKZFplus (одночасна делеція генів IKZF1 із PAX5, CDKN2A, або CDKN2B (гомозиготні делеції), або PAR1 та відсутність делеції в гені ERG) та M3X позитивний статус на 33-й день за умов відсутності ETV6-RUNX1, TCF3-PBX1 або реаранжувань гену KMT2A інших від KMT2A-AFF1
Критерії відповіді на терапію	<ul style="list-style-type: none">● відсутність морфологічної ремісії на 33-й день (>5% бластів)● M3X за даними проточної цитометрії >10% на 15-й протокольний день <u>за умов відсутності ETV6-RUNX1*</u>● M3X $\geq 5 \times 10^{-4}$ ($\geq 0,05\%$) на 33-й протокольний день (ЧТ-1)● M3X в ЧТ-1 $\geq 5 \times 10^{-4}$ ($\geq 0,05\%$) та M3X-позитивний статус (< 5×10^{-4}) в ЧТ-2● M3X в ЧТ-2 $\geq 5 \times 10^{-4}$ ($\geq 0,05\%$)
Примітка: * при наявності реаранжування генів ETV6-RUNX1 тільки рівня M3X в к/м вище 10% на 15-й день протокольної терапії недостатньо для віднесення пацієнта до групи високого ризику.	

Таблиця 6. Стратифікація пацієнтів до групи ризику в ЧТ-2 за даними МЗХ.

МЗХ в ЧТ-1	МЗХ в ЧТ-2			
	Негативна 1×10^{-4} ($0,01\%$)	Позитивна але 5×10^{-4} ($0,05\%$)	$\geq 5 \times 10^{-4}$ ($\geq 0,05\%$)	Не визначалась
- негативна* (1×10^{-4})	н/в	н/в	н/в	SR
- негативна ^{P3}	по МЗХ 15д	MR	HR	по МЗХ 15д
- позитивна але 5×10^{-4} ($0,05\%$)	MR	MR	HR	MR
- позитивна $\geq 5 \times 10^{-4}$ ($\geq 0,05\%$)	MR	HR	HR	MR
Відсутнє/не визначалось	по МЗХ 15д	MR	HR	по МЗХ 15д
Наявність будь яких ініціальних критеріїв високого ризикy	HR	HR	HR	HR

Умовні позначення:

н/в – не визначається у зв'язку із досягненням МЗХ-негативного статусу в ЧТ-1

*за умов використання методу визначення МЗХ із роздільною здатністю не менше 10^{-4}
негативна^{P3} - МЗХ при використанні методу із меншою ніж 10^{-4} роздільною здатністю не менше 10^{-4}

SR, група стандартного ризику; MR, група середнього (проміжного) ризику; HR, група високого ризику.

Стратифікація до груп ризику пацієнтів з Т-ГЛЛ

Стратифікація ризику при Т-ГЛЛ суттєво не відрізняється від стратифікації при В-ГЛЛ, проте має свої особливості.

Так, незалежними критеріями віднесення до групи високого ризику є:

- погана відповідь на преднізолонову профазу при Т-ГЛЛ залишається незалежним прогностичним критерієм і потребує віднесення пацієнта до групи високого ризику;
- недосягнення комплексної ремісії в ЧТ-1
- рівень МЗХ за даними проточної цитометрії на 15-й протокольний день $\geq 10\%$;
- МЗХ методом проточної цитометрії або ПЛР $\geq 5 \times 10^{-4}$ в ЧТ-2 (78-й протокольний день)

Лікування гострої лейкемії

- 1 історичний етап – 19 – початок 20 століття – визначення нозологічної форми та відсутність будь-якого лікування. Тривалість життя хворих – близько 3 місяців!
- 2 етап – з початку 40-х років 20 століття почали використовувати гемотрансфузії, що досягали окремих клінічних ремісій.
- 3 етап – 1948 рік, перше клінічне застосування аміноптерину – цитостатика, антагоніста фолієвої кислоти – призвело до першої повної клініко-гематологічної ремісії.
- ***На даний час програмна (протокольна) система використання хімотерапевтичних препаратів.***

Основні принципи лікування ГЛ

- Після встановлення діагнозу, (не тільки морфологічного, але за результатами імунофенотипування, цитогенетики, молекулярно-біологічного дослідження) оскільки за відсутності терапії тривалість життя пацієнтів не перевищує трьох місяців.
- У лікуванні гострих лейкозів нині найчастіше використовуються Європейські протоколи поліхіміотерапії (BFM).
- Вибір схеми лікування визначається морфологічним, цитохімічним та імунофенотипічним, цитогенетичним варіантом гострого лейкозу.
- Найчастіше використовується ПХТ: оскільки цитостатики діють певні стадії клітинного мітотичного циклу, зміна протоколу проведення схеми неприпустима!
- Терапію гострого лейкозу проводять лише у спеціалізованих гематологічних клініках.
- Завдання сучасної терапії лейкозу – повна ерадикація (знищення) лейкозних клітин.

Основні напрямки терапії ГЛ

- **Специфічна хіміотерапія** спрямована на досягнення та закріплення ремісії захворювання. Складається з декількох етапів, різна для лімфобластної та мієлобластної лейкемій.
- **Супровідна підтримуюча терапія** проводиться для зниження інтоксикації при лізисі пухлинного субстрату та зменшення побічних токсичних ефектів хіміопрепаратів.
- **Замісна терапія** необхідна при загрозливій тромбоцитопенії та тяжкій анемії.
- **Трансплантація** червоного кісткового мозку та стовбурових кровотворних клітин.



ЛІКУВАННЯ ГОСТРИХ ЛІМФОБЛАСТНИХ ЛЕЙКЕМІЙ

проводиться шляхом здійснення протокольної поліхіміотерапії, обсяг якої залежить від групи ризику, що визначається у хворого відповідно до прогностичних факторів.

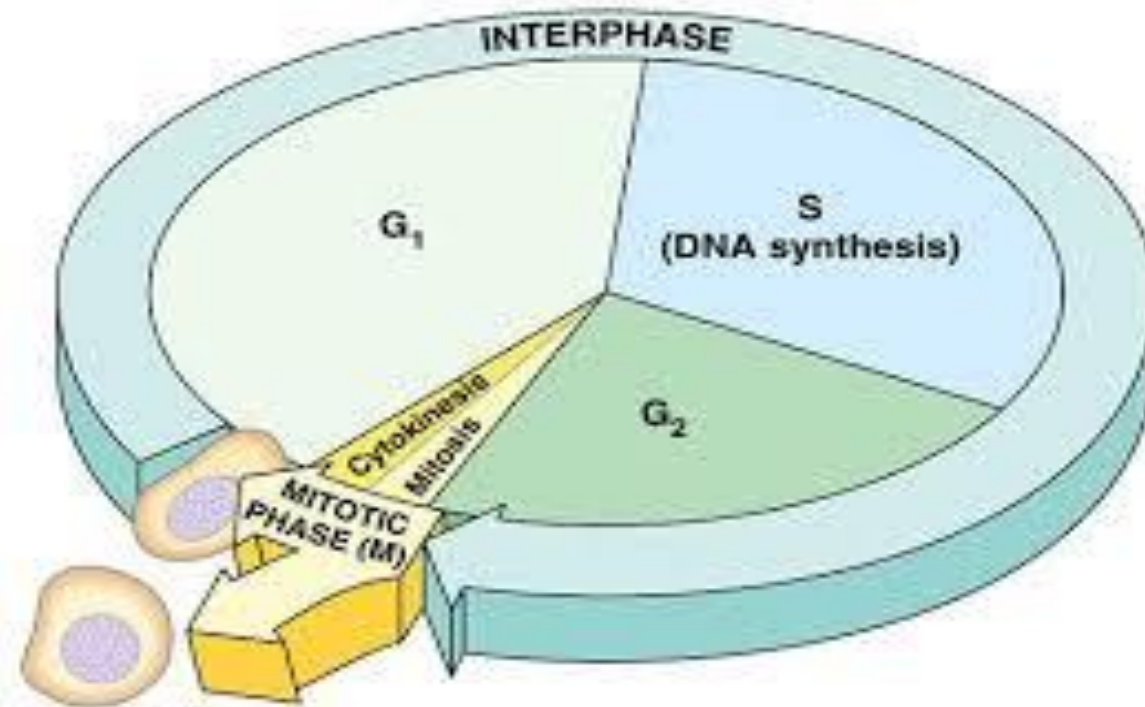
Важливими для прогнозу факторами є

- вік хворого,
- обсяг пухлинної маси (за початковим рівнем лейкоцитів крові),
- наявність прогностично несприятливих цитогенетичних аномалій $t(9;22)$ та $t(4;11)$ та їх молекулярно-генетичних еквівалентів,
- характер відповіді на ініціальне лікування (кліренс лейкемічних клітин із периферичної крові та кісткового мозку на перших етапах виконання протокольної хіміотерапії).

По комбінації цих факторів розрізняють три основні прогностичні групи – **стандартний, середній (проміжний) і високий ризик.**

Мітотичний клітинний цикл

Антрацикліни
Вінкрисин
Цитозар
Меркаптопурин



Антрацикліни
Вінкрисин
Етопозид
Цитозар
Мітоксантрон
Меркаптопурин

Антрацикліни
Вінкрисин
Мітоксантрон

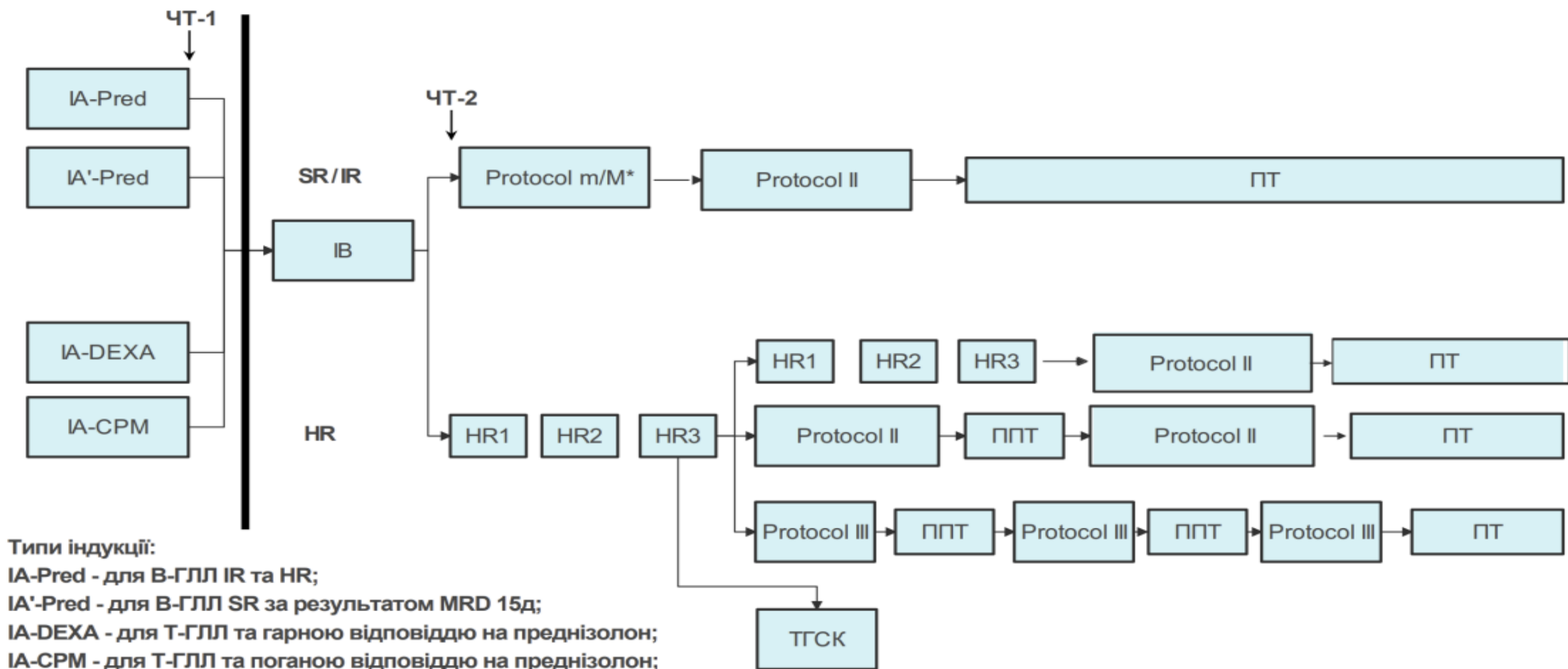
Антрацикліни
Вінкрисин
Етопозид
Мітоксантрон

М - мітоз, S - період синтезу ДНК, G₁ - постмітотичний період, під час якого відбувається синтез РНК, G₂ – премітотичний період, під час якого відбувається синтез білків мітотичного веретена і синтез РНК, G₀ - період тисчасового спокою.

Етапи програмного лікування ГЛ

У програмному лікуванні злоякісних пухлин кровотворної і лімфоїдної тканини виділяють етапи:

- 1)індукція ремісії,
- 2) консолідація ремісії,
- 3)підтримуюче лікування у періоді ремісії (для ГЛЛ).



Типи індукції:

IA-Pred - для В-ГЛЛ IR та HR;

IA'-Pred - для В-ГЛЛ SR за результатом MRD 15д;

IA-DEXA - для Т-ГЛЛ та гарною відповіддю на преднізолон;

IA-CPM - для Т-ГЛЛ та поганою відповіддю на преднізолон;

ЧТ-1 - часова точка 1 (33-й день); **ЧТ-2** - часова точка 2 (78-й день); **ППТ** - проміжна підтримуюча терапія; **ПТ** - підтримуюча терапія; **ТГСК** - трансплантація гемопоетичних стовбурових клітин.

SR - група стандартного ризику; **IR** - група середнього (проміжного ризику); **HR** - група високого ризику.

*Інтенсифікація лікування за схемою "Protocol m" передбачена виключно для пацієнтів стандартної групи ризику із В-ГЛЛ; Для пацієнтів групи стандартного та середнього ризику Т-ГЛЛ та групи середнього ризику В-ГЛЛ проводиться відповідно до схеми терапії "Protocol M".

Дякую за увагу!

