



БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО  
СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

# ХЕМАТОЛОГИЯ

ТОМ LII - БРОЙ 1-2 - 2016

# ХЕМАТОЛОГИЯ

## HEMATOLOGY

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ  
JOURNAL OF THE BULGARIAN MEDICAL SOCIETY OF HEMATOLOGY

ТОМ/VOL. XLII

2016

№ 1-2

### РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

Главен редактор

Проф. д-р Стефан Горанов, дмн  
тел./факс: 032 602 481

Зам. главен редактор

Проф. д-р Георги Балаценко, дмн  
тел: 02 970 1137

Секретар

Д-р Веселина Горанова-Маринова, дмн  
тел.: 032 602 596, 032 602 298

Членове

Проф. д-р Георги Михайлов, дмн

Проф. д-р Маргарита Генова, дмн

Проф. д-р Фани Мартинова, дмн

Проф. д-р Жанет Грудева – Попова, дмн

Доц. д-р Лиана Герчева, дмн

Проф. д-р Юлиан Райнов, дмн

Доц. д-р Валерия Калева, дмн

Доц. д-р Евгений Хаджиев, дмн

Д-р Лилия Сивчева

### EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Prof. Stefan Goranov, MD, PhD, DMSc  
tel./fax: +359 32 602 481

Associated Editor-in-Chief

Prof. Georgi Balatzenko, MD, PhD  
tel./fax: +359 2 970 1137

Secretary

Dr. Vesselina Goranova-Marinova, MD,  
PhD, tel.: +359 32 602 596, 602 298

Members

Prof. Dr. Georgi Michaylov, MD PhD

Prof. Dr. Margarita Genova, MD PhD

Prof. Dr. Fani Martinova, MD PhD DMSc

Prof. Janet Grudeva-Popova MD PhD

Ass. Prof. Liana Gercheva, MD PhD

Prof. Julian Raynov, MD PhD

Ass. Prof. Valeria Kaleva, MD PhD

Ass. Prof. Eugenii Hadjiev, MD PhD

Dr. Lilia Sivcheva

### СЪДЪРЖАНИЕ / CONTENT

#### ОБЗОРИ / REVIEWS

1. ЗНАЧЕНИЕ НА ИКАРОС ФАКТОРА ПРИ ОСТРАТА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ,  
С. Лозенов, Г. Балаценко, Б. Спасов, Я. Петров, М. Дончев, Г. Арnaudов, М. Генова, Г. Михайлов  
SIGNIFICANCE OF THE IKAROS FACTOR IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA,  
S. Lozenov, G. Balatzenko, B. Spasov, Y. Petrov, M. Donchev, G. Arnaudov, M. Genova, G. Mihaylov.....3

#### ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ / ORIGINAL ARTICLES

2. АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ АВТОЛОЖНА СТВОЛОВО КЛЕТЪЧНА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ ЗА ПЕРИОДА ЯНУАРИ 2009 г. - ДЕКЕМВРИ 2013г., П. Ганева, Г. Арnaudов, Я. Петров, С. Лозенов, Б. Спасов, М. Минчев, Ч. Ботев, И. Тонев, М. Генова, Л. Герчева, А. Михова, Г. Балаценко, Г. Михайлов  
ANALYSIS OF OUTCOMES FOLLOWING AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA FROM JANUARY 2009 - DECEMBER 2013, P. Ganeva, G. Arnaudov, Y. Petrov, S. Lozenov, B. Spasov, M. Minchev, Ch. Botev, I. Tonev, M. Genova, L. Garcheva, A. Mihova, G. Balatzenko, G. Mihaylov.....10
3. СРАВНЕНИЕ НА ПРОГНОСТИЧНОТО ЗНАЧЕНИЕ НА МИНИМАЛНАТА РЕЗИДУАЛНА БОЛЕСТ И КОНВЕНЦИОНАЛНИТЕ ПРОГНОСТИЧНИ ФАКТОРИ ПРИ ЛЕЧЕНИЕТО НА ОСТРАТА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ ПРИ ВЪЗРАСТНИ, С. Лозенов, Б. Спасов, Я. Петров, В. Стоева, Т. Янкова, К. Игнатова, Ю. Жечев, М. Станева, Т. Михайлова, Д. Пейчев, М. Стойчов, М. Генова, Г. Балаценко, М. Дончев, Г. Арnaudов, Г. Михайлов  
COMPARISON OF THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE MINIMAL RESIDUAL DISEASE AND THE CONVENTIONAL PROGNOSTIC FACTORS IN ADULT ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA, Lozenov S., Spasov B., Petrov Y., Stoeva V., Yankova T., Ignatova K., Zhechev Y., Staneva M., Mihailova T., Peichev D., Stoichov M., Guenova M., Balatzenko G., Donchev M., Arnaudov G., Mihaylov G.....17
4. МАНТЕЛНОКЛЕТЪЧЕН ЛИМФОМ – АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИТЕ НА ПРОСЛЕДЯВАНИТЕ И ЛЕКУВАНИ В НСБАЛХЗ ПАЦИЕНТИ, В. Стоева, М. Дончев, П. Ганева, Бр. Спасов, Т. Янкова, Я. Петров, Ст. Лозенов, К. Игнатова, М. Генова, Т. Диков, Г. Арnaudов, Г. Михайлов  
LYMPHOMA - ANALYSIS OF RESULTS OF PATIENTS DIAGNOSED AND TREATED IN NSHATHD, V. Stoeva, M. Donchev, P. Ganeva, Br. Spasov, T. Yankova, Y. Petrov, St. Lozenov .....25
5. ЕФЕКТ НА СЪВРЕМЕННАТА ХЕЛАТИРАЩАТА ТЕРАПИЯ ВЪРХУ СЪРДЕЧНАТА ФУНКЦИЯ ПРИ ВЪЗРАСТНИ ПАЦИЕНТИ С ТРАНСФУЗИОННО ЗАВИСИМА В-ТАЛАСЕМИЯ, П. Георгиев, В. Горанова-Маринова, К. Сапунарова, В. Гръкланов, Д. Костова, Ст. Горанов  
EFFICACY OF MODERN CHELATION THERAPY ON CARDIAC FUNCTION IN ADULT PATIENTS WITH TRANSFUSION-DEPENDENT B -THALASSEMIA, P. Georgiev, V. Goranova-Marinova, K. Sapunarova, V. Graklanov, D. Kostova, St. Goranov .....29
6. ИЗОХРОМОЗОМА НА ДЪЛГОТО РАМО НА ХРОМОЗОМА 14 КАТО ЕДИНИЧНА АНОМАЛИЯ ПРИ СЛУЧАЙ С МИЕЛОДИСПАСТИЧЕН СИНДОМ, Л. Митев, А. Асенова, Л. Грахльова, К. Милчева, Р. Станчев, И. Гизов, Ю. Райнов  
ISOCHROMOSOME OF THE LONG ARM OF THE CHROMOSOME 14 AS ISOLATED ANOMALY IN THE CASE WITH MYELODISPLASTIC SYNDROME, L. Mitev, A. Asenova, L. Grahlyova K. Milcheva, R. Stanchev, I. Gigov, J. Raynov .....36

#### КАЗУИСТИКА / CASE REPORT

Списанието се обработва в:

- \* EMBASE/Excerpta Medica
- \* БД - Българска медицинска литература

ХЕМАТОЛОГИЯ бр. 1-2/2016

|             |
|-------------|
| ХЕМАТОЛОГИЯ |
| HEMATOLOGY  |

ISSN 2367-7864  
УДК 616.15

**АДРЕС НА РЕДАКЦИОННАТА  
КОЛЕГИЯ**

Клиника по клинична хематология  
към УМБАЛ „Св Георги“ - ЕАД  
4002 Пловдив  
Бул „Васил Априлов“ 15А  
тел./факс: 032 602 481  
stefangoranol@yahoo.com

**EDITORIAL BOARD ADDRESS**

Clinic of clinical Hematology,  
University Hospital „Sv. Georgi“  
4002 Plovdiv  
15A, Vasil Aprilov blvd.,  
Tel./fax: +359 32 602 481  
stefangoranol@yahoo.com

Уредник: Импресив ЕООД, Пловдив  
Тел за контакт: 0889 546 506

Медицинска корекция, стил, структура  
и статистика:

Д-р Веселина Горанова-Маринова, дм  
Д-р Катя Сотирова

Стилова редакция, корекция, графичен  
дизайн: Импресив ЕООД, Пловдив,  
Тел за контакт: 0889 546 506  
sotirov.joro@gmail.com

7. СЛУЧАЙ С ОСТРА МИЕЛОМИНОЦИТНА ЛЕВКИМИЯ И ПРИСЪСТВИЯ НА ДОПЪЛНИТЕЛНИ КОПИЯ НА MLL ОНКОГЕНА, Л. Митев, А Асенова, Л. Грахльова, А. Недева, И. Гизов, Ю Райнов  
CASE OF ACUTE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA ASSOCIATED WITH ADDITIONAL COPIES OF MLL ONCOGENE, L. Mitev, A. Asenova, L. Grahlyova, A. Nedeva, I. Gigov, J. Raynov.....39

8. ТРАНСЛОКАЦИЯ t(1;3)(p36;q21) ПРИ СЛУЧАЙ С ОСТРА МИЕЛОМОНОЦИТНА ЛЕВКИМИЯ, Л. Митев, А. Асенова, Л. Грахльова, Г. Иванов, И. Гизов, Ю. Райнов  
TRANSLOCATION t(1;3)(p36;q21) IN CASE WITH ACUTE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA, L. Mitev, A. Asenova, L. Grahlyova, G. Ivanov, I. Gigov, J. Raynov.....42

9. ГЕНЕРАЛИЗИРАНА ЛИМФАНГИОХЕМАНГИОМАТОЗА С ВОДЕЩА БЕЛОДРОБНА ЛОКАЛИЗАЦИЯ - СЪОБЩЕНИЕ НА КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ И ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА, К. Сапунарова, М. Спасова, А. Учиков, Б. Анави, В. Горанова-Маринова, Х. Иванова, П. Георгиев, В. Гръкланов, С. Горанов  
PULMONARY LYMPHANGIOHEMANGIOMATOSIS WITH LEADING - PULMONARY INVOLVEMENT: CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW, K. Sapunarova, M. Spasova, A. Uchikov, V. Goranova-Marinova, B. Anavi, H. Ivanova, P. Georgiev, V. Graklanov, S. Goranov.....45

10. ХИБРИДНИ НУКЛЕАРНО-МЕДИЦИНСКИ МЕТОДИ ПРИ РЕСТАДИРАНЕ НА ПАЦИЕНТ С НЕХОДЖКИНОВ ЛИМФОМ - SUV-PET/CT СПРЯМО SUV-SPECT/CT - ПИЛОТНО ПРОУЧВАНЕ, Л. Чавдарова, Е. Пиперкова, М. Diemling, В. Хаджийска  
HYBRID METHODS IN THE NUCLEAR MEDICINE RESTAGING OF A PATIENT WITH NON-HODGKIN LYMPHOMA - SUV PET/CT VS SUV SPECT/CT - A PILOT STUDY, L. Chavdarova, E. Piperkova, M. Diemling, V. Hadjiiska .....52

**ОБРАЗОВАТЕЛНА ПРОГРАМА / EDUCATIONAL PROGRAM**

11. МАРГИНАЛНОЗОНОВИ ЛИМФОМИ - I част, Ю. Жечев  
MARGINAL ZONE LYMPHOMAS - part I, Y. Zhechev .....55

12. МАРГИНАЛНОЗОНОВИ ЛИМФОМИ - II част, Ю. Жечев  
MARGINAL ZONE LYMPHOMAS - part II, Y. Zhechev.....69

13. AZACITIDIN (VIDAZA)- ОПЦИЯ, КОЯТО ПРЕЧУПИ ЕВОЛЮЦИЯТА НА МИЕЛОДИС-ПЛАСТИЧНИТЕ СИНДРОМИ, В. Горанова-Маринова, М. Петров  
AZACITIDIN (VIDAZA) - AN OPTION THAT REMODELLED THE EVOLUTION OF MYELO-DYSPLASTIC SYNDROMES, V. Goranova-Marinova, M. Petrov.....80

14. НОВИЯТ ТИРОЗИНКИНАЗЕН ИНХИБИТОР ПОНАТИНИБ (ICLUSIG®) ОСИГУРЯВА НОВА НАДЕЖДА ЗА ПАЦИЕНТИ СЪС CML ПРИ НЕУСПЕХ НА ДРУГИТЕ ТЕРАПИИ, К. Миедзинска, Е. Джабур, Т. Лион, Д. Апърли, Л. Лучано, Д. Зачкова  
THE NOVEL TYROSINE KINASE INHIBITOR PONATINIB (ICLUSIG®) PROVIDES NEW HOPE FOR CML PATIENTS FOLLOWING PREVIOUS THERAPY FAILURE, Katharina Miedzinska, MSc; Prof. Elias Jabbour, MD, Prof. Thomas Lion, MD, PhD, Prof. Jane Apperley, MD, Luigia Luciano, MD, Daniela Žáčková, MD .....84

## ЗНАЧЕНИЕ НА ИКАРОС ФАКТОРА ПРИ ОСТРАТА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ

С. Лозенов, Г. Балаценко, Б. Спасов, Я. Петров, М. Дончев, Г. Арnaudов, М. Генова, Г. Михайлов  
СБАЛХЗ София

## SIGNIFICANCE OF THE IKAROS FACTOR IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

S. Lozenov, G. Balatzenko, B. Spassov, Y. Petrov, M. Donchev, G. Arnaudov, M. Genova, G. Mihaylov  
National Hospital of Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

**Резюме.** Белтъкът от семейството на икаросовите цинк пръсти 1 (икарос) се кодира от гена IKZF1. Той представлява транскрипционен фактор с ключово значение в регулацията на развитието на лимфоидната хемопоетична линия и за имуноглобулиновото пренареждане.

Настоящият обзор прави преглед на чуждестранната литература, за да обобщи данните за механизма на въздействие на мутациите и абнормната експресия на IKZF1 при ОЛЛ, тяхната честота им, връзките с утвърдените генетични и молекулярнобиологични маркери, както и тяхното прогностично значение.

Икарос факторът въздейства върху биологията на ОЛЛ основно чрез липса на нормална репресия на таргетни гени с роля върху клетъчната пролиферация и с липса на нормална регулация на таргетни гени с роля в лимфоидната диференциация. Аномалиите във функцията на икарос се оценяват на две нива - експресия на белтъчната молекула и на генетично ниво. Най-често описваните аномалии включват експресия на абнормни форми на белтъка, известни като доминантно негативни изоформи (DNI) и наличието на делеции в IKZF1 локуса. Данните по отношение на честотата на тези аномалии и прогностичното им значение се базират основно на данни от педиатрични групи и са противоречиви, като честотите при едни колективи и определени подгрупи достигат над 80, 90%, а други колективи изобщо не откриват аномалията.

Данните за прогностичното значение коментират най-често ролята му за риска от рецидив, където се установява негативно прогностично значение. Данните за значението за общата преживяемост са оскъдни, повечето колективи коментират тенденция към по-лоша обща преживяемост при подгрупи пациенти с абнормна експресия на икарос или мутации в IKZF1. Необходими са допълнителни изследвания при възрастни пациенти за уточняване на прогностичното значение на икарос фактора и за стандартизиране на методите на изследване на отклоненията в експресията и генетиката му.

**Abstract.** The protein of the Ikaros zinc finger family 1 (Ikaros) is a protein, coded by the IKZF1 gene. It is a transcription factor with a key role in the regulation of the lymphoid line development and for the immunoglobulin rearrangement.

This article reviews a considerable volume of foreign literature to summarize the data concerning the mechanism of action of the mutations and aberrant expression of IKZF1, their incidence and to review the data for their relationship to the established genetic and molecular markers in ALL and their prognostic significance.

The Ikaros factor impacts the biology of ALL mainly through the lack of normal repression of target genes and through role lack of normal regulation of target lymphoid differentiation genes. The anomalies in the function of Ikaros are evaluated on two main levels – protein expression and genetic level. The most frequent anomalies include expression of aberrant protein, known as dominant negative isoforms (DNI) and deletions in the IKZF1 locus. The incidence and prognostic significance data for these anomalies are based mostly on pediatric groups and are contradictory with some groups reporting incidence rates of more than 80, 90% in some ALL subgroups and other failing to demonstrate IKZF1 anomalies in ALL.

The prognostic significance data comment mostly on the risk of relapse, where Ikaros abnormalities demonstrate

*negative prognostic significance. The data for the impact on the overall survival are limited with most groups commenting on a trend to a worse OS in subgroups of patients with abnormal Ikaros expression or IKZF1 mutations. Further studies are needed in adult groups to specify the prognostic significance of Ikaros and to standardize the methods for examination of its expression and its genetics.*

## ЗНАЧЕНИЕ НА ИКАРОС ФАКТОРА ПРИ ОСТРАТА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ

### ВЪВЕДЕНИЕ

През последните няколко десетилетия резултатите от терапията при острата лимфобластна левкемия (ОЛЛ) претърпяват значителен напредък, особено при педиатричните пациенти, но в голяма степен и при възрастните пациенти, като някои от групите за лечение на ОЛЛ сега съобщават за 5 годишна обща преживяемост (ОС) и нива на пълна ремисия (ПР) в порядъка на 30 – 50 % и 78 – 93%, съответно.<sup>1-6</sup> Този напредък се обуславя в голяма степен от молекулярнобиологичните и генетичните разкрития за биологията на ОЛЛ, които позволяват по-прецизна рискова стратификация и персонализиране на терапията при пациентите. Сред тези молекулярнобиологични и генетични аномалии при ОЛЛ през последните две десетилетия се натрупва нарастващ обем данни и за значението на цинк фактора икарос за биологията, прогнозата и рисковата стратификация при ОЛЛ.

Белтъкът от семейството на икаросовите цинк пръсти 1 (икарос) е кодиран в гена IKZF1. Цинковите пръсти са суперфамилия от белтъци, включващи в третичната си структура малки издадени спираловидни белтъчни мотиви, чрез които осъществяват контакт с таргетни субстрати, като третичната структура се стабилизира от цинков йон или няколко цинкови йони. Икарос представлява транскрипционен фактор с ключово значение за регулацията на развитието на лимфоидната хемопоетична линия и за имуноглобулиновото пренареждане.<sup>7,16</sup> Данните за честотата на мутациите в IKZF1 гена и за абнормната експресия на икарос при ОЛЛ демонстрират доста хетерогенна честота сред различните колективи от 34%<sup>10</sup>, 52,6%<sup>9</sup> при В-ОЛЛ. Някои от колективите демонстрират висока асоциираност с Ph+ В-ОЛЛ<sup>12</sup>, докато други не успяват да установят отклонения в експресията на IKZF1 при В-ОЛЛ<sup>13</sup>. В миши модели е показано голямото значение на IKZF1 за развитието на Т-клетъчната линия<sup>11</sup>. Въпреки това, данните за връзката между абнормната експресия и мутационния статус на икарос и на IKZF1 гена при хора и Т-ОЛЛ, са оскъдни, един колектив съобщава честота на абнормна експресия на икарос при 21,4% педиатрични пациенти с Т-ОЛЛ<sup>14</sup>, друг колектив съобщава абнормна експресия на икарос при всички пациенти от наблюдавана група от 18 педиатрични пациенти с Т-ОЛЛ<sup>15</sup>.

Целта на настоящия обзор е да представи преглед на литературните данни за молекулярната биология и генетиката на икарос и IKZF1, както и данни за честотата на мутациите и абнормната експресия на IKZF1 при ОЛЛ, да разгледа данните за връзките между статуса на IKZF1 и утвърдените генетични и молекулярнобиологични маркери при ОЛЛ и данните за прогностичното значение на абнормната експресия и мутациите в IKZF1.

### СТРУКТУРА НА ИКАРОС ФАКТОРА

Структурата на икарос фактора включва няколко цинкови пръста, които могат да бъдат обединени в няколко отделни функционални домейна, като 2 от тези домейна са ключови за разбирането на структурата на икарос във връзка с функцията му. В N-края на белтъчната молекула се намират 3 цинкови пръста, образувани от мотиви с C2H2 структура и един мотив с CCHC структура, които имат ДНК-свързващ потенциал и изграждат ДНК – свързващия домейн на икарос<sup>16</sup>. В –COOH края на белтъчната молекула се намират два цинкови пръста, които имат роля за свързване с други представители на фамилията икарос, например Helios и Aiolos и за други белтък-белтък, свързвания, най-често с регулаторна функция. Този участък е необходим и достатъчен за хомо- и хетеродимеризацията на икарос, необходими за нормалното изпълнение на неговата функция и се обозначава, като димеризационен домейн.<sup>16,17</sup>

Наличието на сходни цинкови пръсти в N-края на белтъчната молекула и възможността за алтернативен сплайсинг, обуславят наличието на различни изоформи с вариация в ДНК-свързващия домейн на молекулата (Ik1, Ik2, Ik3, Ik4, Ik5, Ik6, Ik7, Ik8). Някои от тези изоформи са загубили част от цинковите пръсти в ДНК-домейна и не притежават способност за свързване към ДНК и въздействие върху таргетните гени (Ik4, Ik5, Ik7, Ik6, Ik8).<sup>18,19</sup> Физиологично е възможно наличието и на такива изоформи, но наличието само на изоформи с нефункционален ДНК-домейн или тяхната свръхекспресия спрямо функционалните форми се означава като наличие на доминантно негативни изоформи (DNI), което се свързва със загуба на функция на икарос и със съответните молекулярнобиологични последиствия.

## ГЕНЕТИКА НА IKZF1:

За да бъдат разбрани отклоненията в структурата и функцията на икарос е необходимо да се познава генетиката на фактора. IKZF1 генът при хора е разположен в късото рамо на седма хромозома - 7p12.2 и се състои от 8 екзона. Екзоните от 4 до 6 съдържат гените за секвенциите на цинковите

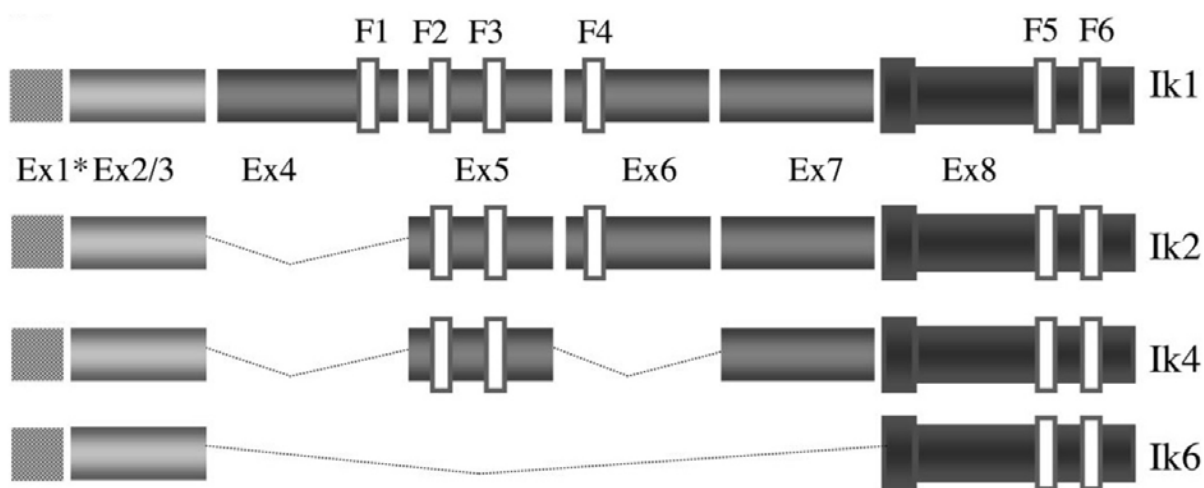
пръсти, които участват в структурата на ДНК-домейна, а осмият екзон съдържа гени за двата цинкови пръста на димеризационния домейн (*фигура 1*).



**Фигура 1**

Липсата на цинкови пръсти (ЦП) 2 и/или 3 и/или ЦП 5 и ЦП 6 води до форми на икарос без способност за свързване с ДНК<sup>17</sup>. В екзон 2 се намира се намира ATG стартова секвенция за транслацията на целия ген. Мутации в него, се счита че водят до понижена експресия на „дълги“ изоформи на икарос, способни да се свързват с ДНК (Ik1, Ik2, Ik3), което води до така наречената хаплоинсуфициенция на икарос<sup>20</sup>. Липсата на някои от гените за ЦП1 до ЦП4 води до синтеза на така наречените „къси“ форми (Ik4, Ik5, Ik6, Ik7,

Ik8 с респективна липса на екзони за поне два ДНК-свързващи цинкови пръсти), като най-малка е Ik6 изоформата, при която има загуба на експресия на екзони 4, 5 6 и 7. Наличието на експресия и на такива форми е възможно и конституционално, поради възможностите за алтернативен сплайсинг при посттранслационната обработка, но свръхекспресията или наличието само на къси форми би корелирало със загуба на функцията на икарос. Примери за сплайсинга при някои от изоформите са показани на *фигура 2*.



**Фигура 2.**

## РОЛЯ НА ИКАРОС ФАКТОРА В ОНКОГЕНЕЗАТА:

Освен характерът на аномалиите в генетиката и експресията на икарос, интерес представлява и конкретния механизъм, чрез който икарос би могъл да участва в онкогенезата при ОЛЛ. Демонстрирано е, че икарос се свързва директно с таргетните си гени и регулира експресията им, като икарос факторът е обилно разположен навън в перичентромерния регион на хромозомите и упражнява ефекта си чрез хроматиново ремоделиране<sup>16,21</sup>. Икарос може да функционира, както като репресор на експресията така и като активатор на експресията в зависимост от асоциацията си с NuRD, CtBP или SWI/SNF комплексите<sup>16</sup>. Като супресор на експресията, икарос може да действа, посредством активиране на пътя на хистон деацетилазите (HDAC)<sup>22</sup> или по независим от HDAC път, например в съчетание с корепресора CtBP<sup>23</sup>. Отново чрез хромозомно моделиране, но в асоциация със SWI/SNF комплексите, икарос може да активира съответните таргетни гени<sup>24</sup>.

Идентифицирани са няколко таргетни гени и няколко сигнални пътя, чрез чиято генна супресия физиологичният икарос осъществява тумор супресорна функция. Икарос инхибира Igl1 промотора, което е ключова стъпка в преодоляването на пре-B етапа в диференциацията на В-клетките<sup>25</sup>. Установена е ролята и за подтискането на експресията на гена на терминалната деоксилнуклеотид трансфераза (TdT), по механизъм включващ хетерохроматиново ремоделиране<sup>26</sup>. Показано е също супресорно действие и по-отношение на ключовия сигнален път при Т-ОЛЛ включващ Notch сигналната трансдукция, като икарос инхибира експресията на Notch. Икарос също така инхибира и експресията на с-Мус и Bcl-xl, което допълва неговата тумор-супресорна роля при ОЛЛ<sup>7</sup>.

Освен чрез супресия на онкогенни сигнални пътища, икарос има противотуморна роля при онкохематологичните заболявания и чрез функциите, които нормално изпълнява чрез активиране на гени за диференцирането на лимфоидните прогенитори. Установено е, че икарос участва в Т-клетъчната диференциация, като стимулира експресията, както на CD8, така и на CD4 антигените, като липсата на икарос при миши модели е водела до Т-клетъчни имунодефицитни състояния и особено до дефицит на CD8+ клетки<sup>27</sup>.

Ролята на икарос фактора като пазител на генома далеч не се изчерпва само с въздействието му върху изброените по-горе таргетни гени. Няколко групи демонстрират връзката на абнормната функция на икарос с така наречената „Bcr-abl-like” ОЛЛ, при която на базата на анализи

с ДНК-микрочипове се установява промяна на експресията на множество гени в целия геном, която корелира силно с промяната, наблюдавана при Ph+ ОЛЛ<sup>28</sup>.

## МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ НА ЕКСПРЕСИЯТА НА ИКАРОС НА IKZF1 ГЕНА:

Експресията на икарос се оценява чрез полимеразна верижна реакция на информационна РНК в реално време и сепариране на продуктите чрез гелелектрофореза. Поради възможностите за алтернативен сплайсинг повечето колективи използват повече от един праймер, насочен към ключови места в секвенцията на икарос (например екзоните кодиращи ДНК домейна). Генетичния анализ се основава на оценки по метода на сравнителната геномна хибридизация и по-чувствителните анализи по метода на единичните нуклеотидни полиморфизми (SNP) и хибридизационните анализи с микрочипове. Разбира се най-информативно, макар и най-трудоемко, е ДНК секвенирането, което предприемат някои от колективите.

## МУТАЦИОНЕН СПЕКТЪР В IKZF1 И АБНОРМНА ЕКСПРЕСИЯ НА ИКАРОС ФАКТОРА:

Мутационният спектър на IKZF1, който може да доведе до загуба на гореспоменатите функции може да бъде групиран в няколко функционални категории: пълни делеции – при които има загуба и на двата алела за IKZF1 (сравнително по-големи биалелни делеции, фреймшифт мутации), което води до пълна липса на икарос, хаплоинсуфициенция – която може да касае хетерозиготна делеция на целия ген или мутации в регулаторните секвенции, които могат да доведат до понижени нива на експресия, експресия на DNI – изоформи – при които на ниво експресия се наблюдава свърхекспресия на „късите” форми на икарос, а на ниво ген се очакват частични делеции или точкови мутации, елиминиращи част от екзоните, кодиращи цинковите пръсти. Mullighan и колектив съобщават за наличие на хомозиготни и хетерозиготни делеции, засягащи IKZF1, при сравнително големи групи педиатрични и възрастни пациенти с ОЛЛ с висока степен на асоцииране с bcr-abl експресията (84% от Ph+В-ОЛЛ пациентите са с делеция в IKZF1) и значително ниво и при Ph- В-ОЛЛ – над 24%<sup>12,28</sup>. Най-честите делетирани участъци засягат участъка от екзон 4 до екзон 7. Холандски колектив открива при ретроспективен анализ на прои от 1128 педиатрични пациенти следната честота на делеции в IKZF1 – 16% при bcr-abl негативни, MLL – див тип В-ОЛЛ, 70% при bcr-abl позитивната В-ОЛЛ и 40% при В-ОЛЛ с bcr-abl like сигнатура<sup>29</sup>. Съществуват обаче и противоречиви данни за значително по-ниска честотата на

IKZF1 делециите, като американски колектив не успява да открие хомозиготни делеции при 21 педиатрични пациента с ОЛЛ<sup>13</sup>.

По отношение на аберациите в експресията може да се коментира налична експресия на „къси“ изоформи, свръхекспресия на „късите“ изоформи и пълна липса на експресия на „дълги“ форми. Японски колектив установява свръхекспресия на късата форма Ik6 при 14 от 41 пациента с ОЛЛ, като демонстрира и тенденция към значима връзка между свръхекспресията на Ik6 и наличието на bcr-abl транскрипти, но без да се достига статистически значима разлика<sup>10</sup>. В същото проучване при 4 от пациентите, със свръхекспресия на Ik6 се демонстрира отклонение в анализ по метода „Southern blot“ на рестриктазни фрагменти от ДНК спрямо здрави доброволци. Анализът наблюдава и пациенти, при които има слаба експресия на Ik6, но със запазване на доминиращата експресия на дългите форми на икарос. При друго проучване сред 47 възрастни пациенти с Ph+ ОЛЛ се демонстрира наличие на Ik6 при 91% от случаите, като при 49% Ik6 е преобладаващата форма, а при 43% се наблюдава в съчетание с дългите форми на икарос<sup>30</sup>. Американският колектив обаче, който не открива хомозиготни делеции при 21 педиатрични пациенти, не открива и наличие на абнормна експресия на DNI изоформи, а също така при ретроспективен анализ на над 350 проби от педиатрични пациенти, не открива понижена експресия на икарос фактора, каквато би се очаквала при хомо- или хетерозиготни делеции<sup>13</sup>.

## ПРОГНОСТИЧНО ЗНАЧЕНИЕ НА МУТАЦИИТЕ В IKZF1 И НА АБНОРМНАТА ЕКСПРЕСИЯ НА IKZF1

Данните за прогностичното значение на мутациите в IKZF1 гена и аберациите в експресията на икарос фактора са противоречиви, и са базирани в доста по-голямата си част на наблюдения върху педиатрични популации. Италиански колектив демонстрира значението на IKZF1 делециите при 410 педиатрични пациента с Ph-негативна В-ОЛЛ в изпитването AIEOP-BFM ALL2000, като показва статистически значимо влияние на IKZF1 върху преживяемостта без събитие (EFS), 70,2% срещу 85,2% за пациентите с делеция  $p=0,007$  към петата година, като рискът за настъпване на рецидив до 5-тата година също е статистически значимо по-висок 24,2% за пациентите с делеция срещу 13,1% за пациентите без  $p=0,049$ . Въпреки голямата група, не се отчита статистически значима разлика по отношение на 5-годишната преживяемост (OS)<sup>31</sup>. Авторите отдават това на дизайна на рисковата стратификация на педиатричния протокол и на трансплантационната активност, които може да компенсират прогностичното значение на IKZF1 делециите при пациентите

лекувани с BFM протокола. Холандски колектив установява при голяма група педиатрични пациенти ( $n=1128$ ) установява статистически значимо влияние на IKZF1 делециите върху риска от рецидив, съответно 34% срещу 13% ( $p=0.001$ ). Подгрупово това влияние се запазва в групите на хиперплоидната и bcr-abl like негативната В-ОЛЛ, но се губи в кохортата на bcr-abl like позитивната В-ОЛЛ<sup>29</sup>. Едно от малкото проучвания при групи от възрастни пациенти, проведено от италиански колектив при 83 пациенти, демонстрира статистически значимо влияние на делециите на IKZF1 върху двугодишните риск от рецидив и преживяемост, свободна от заболяване (DFS) съответно 69,1% срещу 40,4% и 30,9% срещу 53,9%, но липсва статистически значима разлика по отношение на общата преживяемост 76,1% за пациентите с делеция на IKZF1 срещу 66% за тези с див тип IKZF1 ( $p=0.7830$ )<sup>32</sup>.

Прогностичното значение на DNI изоформите също не е еднозначно. В група от 113 педиатрични пациента наличието на експресия на Ik6, Ik8 не води до статистически значим ефект върху риска от рецидив и EFS а тенденцията за по-лоша OS не достига статистическа значимост<sup>14</sup>. Китайски колектив демонстрира при 79 възрастни пациенти с ОЛЛ статистически значимо въздействие на експресията на Ik6 върху OS<sup>33</sup>.

Интерес представляват и данните за влиянието на мутациите в IKZF1 и абнормната експресия върху химиорезистентността. В клетъчни линии липсва такава за някои от стратегическите медикаменти при терапията на ОЛЛ с делеции в IKZF1<sup>8</sup>. Друг колектив демонстрира ин витро резистентност към терапия с тирозин киназни инхибитори при bcr-abl позитивна В-ОЛЛ с абнормна експресия на Ik6<sup>30</sup>.

## ОБСЪЖДАНЕ:

Мутациите в IKZF1 и отклоненията в експресията на икарос фактора безспорно са обект на засилен интерес в полето на биологията и клиниката на ОЛЛ през последните две десетилетия. Все пак, те все още не са намерили своето категорично значение и все още са обект на обсъждания.

Липсата на категорично място на икарос фактора в биологията и клиниката на ОЛЛ в голяма степен се дължи на противоречащите резултати на различните групи по отношение на честотата на мутациите и абнормната експресия. Като вариацията в честотата, така и вариацията в прогностичното значение на икарос, които се наблюдават, могат да бъдат отдадени на различия в използваните методологии. Голяма част от колективите, които съобщават за наличието на делеции в IKZF1, използват като основен метод SNP анализа<sup>13, 28, 29</sup>, който класически има предимства за установяване на количествени

генетични аберации (хомозиготни и хетерозиготни делеции и дупликации), но той няма достатъчен потенциал пряко да оцени качествено конкретните мутационни събития. Колективът, който съобщава за липса на делеции при IKZF1 използва ДНК секвениращ анализ, който би могъл да докаже в по-голяма степен качествени отклонения (точкови мутации, фреймшифт мутации, минимални по количество инсерции, делеции и дупликации), но би могъл да пропусне хетерозиготна делеция на целия ген<sup>13</sup>. Нито един от двата метода не отчита пълноценно потенциалното наличие на хиперметилирани участъци и особено моноалелното наличие на такива, а такова е описано при колоректален карцином<sup>34</sup>. Проблем за уточняването на реалната честота на генетичните и експресионните аберации при възрастни пациенти, както и отсяването на прогностичното им значение, представлява и малкият обем данни от сравнително малки като брой кохорти възрастни пациенти, не е категорично установено дали данните за честотата и вида на аберациите в педиатричните групи са тъждествени на тези при възрастните пациенти (което не е така за по-голямата част от останалите генетични и молекулярнобиологични аберации при ОЛЛ).

Неразрешен окончателно остава и въпросът за корелацията между генетичните събития и експресията на икарос фактора. На пръв поглед, наличието на делеции би трябвало да обуслови експресия на DN1 изоформи или глобално понижена експресия на икарос, но няколко от колективите съобщават съхранена експресия на нормални изоформи при налични делеции на IKZF1. При липса на пълна транскрипционна корелация на генетичните аберации в IKZF1, тяхното клинично и прогностично значение, закономерно не може да се потвърди окончателно, необходими са допълнителни проучвания при по-големи групи в тази насока.

Във връзка с противоречивите резултати за мутационния статус и експресията на икарос се намесва и въпросът за това дали наблюдаваните отклонения в икарос са самостоятелно и още повече първично събитие. Германски колектив публикува данни, според които наличието на bcr-abl модулира алтернативния сплайсинг на икарос, и води до експресията на абнормни DN1 форми<sup>35</sup>. За сега подобни данни за оценяване само по отношение на Ph+ ОЛЛ, където са и най-големият обем данни за отклонения в експресията и генетиката на икарос фактора. Необходими са и повече данни за асоциацията между икарос фактора и други известни генетични и молекулярнобиологични маркери при ОЛЛ.

На всички тези въпроси трябва да бъде отговорено през следващите години, за да може окончателно да се прецени дали икарос фактора има самостоятелно място в рисковата стратификация и терапевтичните решения при пациентите с ОЛЛ.

## БИБЛИОГРАФИЯ:

1. Fielding AK, Richards SM, Chopra R, et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood*. 2007;109(3):944-950.
1. Kantarjian H, Thomas D, O'Brien S, et al. Longterm follow-up results of hyperfractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone (Hyper-CVAD), a dose-intensive regimen, in adult acute lymphocytic leukemia. *Cancer*. 2004;101:2788-2801.
1. Go`kbuget N, Hoelzer D. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol*. 2009;46(1):64-75.
1. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2011;29(5): 532-543.
1. de Bont JM, Holt Bv, Dekker AW, Significant difference in outcome for adolescents with acute lymphoblastic leukemia treated on pediatric vs adult protocols in the Netherlands. *Leukemia*. 2004 Dec;18(12):2032-5.
1. Takeuchi J, Kyo T, Naito K, et al. Induction therapy by frequent administration of doxorubicin with four other drugs, followed by intensive consolidation and maintenance therapy for adult acute lymphoblastic leukemia: the JALSG-ALL93 study. *Leukemia*. 2002;16:1259-1266.
1. Georgopoulos K, Bigby M, Wang JH, et al. The Ikaros gene is required for the development of all lymphoid lineages. *Cell*. 1994; 79(1):143-56
1. Vitanza NA, Zaky W, Blum R, Ikaros deletions in BCR-ABL-negative childhood acute lymphoblastic leukemia are associated with a distinct gene expression signature but do not result in intrinsic chemoresistance. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Oct;61(10):1779-85
1. Tokunaga K, Yamaguchi S, Iwanaga E et al. High frequency of IKZF1 genetic alterations in adult patients with B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol*. 2013 Sep;91(3):201-8.
1. Nakase K, Ishimaru F, Avitahl N, et al. Dominant negative isoform of the Ikaros gene in patients with adult B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res*. 2000 Aug 1;60(15):4062-5.
1. Winandy, S., Wu, P., and Georgopoulos, K. A dominant mutation in the Ikaros gene leads to rapid development of leukemia and lymphoma. *Cell*, 83: 289-299, 1995.
1. Mullighan CG, Miller CB, Radtke I, Phillips LA, Dalton J, Ma J, White D, Hughes TP, Le Beau MM, Pui CH, Relling MV, Shurtleff SA, Downing JR. BCR-ABL1 lymphoblastic leukaemia is characterized by the deletion of Ikaros. *Nature*. 2008; 453(7191):110-114
1. Qazi S, Ma H, Uckun FM <sup>Absence</sup> of Genomic Ikaros/IKZF1 Deletions in Pediatric B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Int J Mol Med Sci*. 2013 Jul 29;3(9):72-82.
1. Reyes-León A, Juárez-Velázquez R, Medrano-Hernández A, et al. Expression of Ik6 and Ik8 Isoforms and Their Association with Relapse and Death in Mexican Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *PLoS One*. 2015 Jul 1;10(7):e0130756.
1. Sun, L., Crotty, M. L., Sensel, M., Sather, H., Navara, C., Nachman, J., Steinherz, P. G., Gaynon, P. S., Seibel, N., Mao, C., Vassilev, A., Reaman, G. H., and Uckun, F. M. Expression of

*dominant-negative Ikaros isoforms in T-cell acute lymphoblastic leukemia. Clin. Cancer Res.*, 5: 2112–2120, 1999

1. Payne KJ, Dovat S. Ikaros and tumor suppression in acute lymphoblastic leukemia. *Crit Rev Oncog.* 2011;16(1-2):3-12.
1. Payne MA, Zinc finger structure-function in Ikaros *World J Biol Chem.* 2011 Jun 26;2(6):161-6.
1. Hahm K, Ernst P, Lo K, Kim GS, Turck C, Smale ST. The lymphoid transcription factor LyF-1 is encoded by specific, alternatively spliced mRNAs derived from the Ikaros gene. *Mol Cell Biol.* 1994; 14(11):7111–7123.
1. Olivero S, Maroc C, Beillard E, Gabert J, Nietfeld W, Chabanon C, et al. Detection of different Ikaros isoforms in human leukaemias using real-time quantitative polymerase chain reaction. *Br J Haematol.* 2000; 110:826–830.
1. Boer JM, van der Veer A, Rizopoulos D Prognostic value of rare IKZF1 deletion in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: an international collaborative study. *Leukemia.* 2016 Jan;30(1):32-8.
1. Brown KE, Guest SS, Smale ST, Hahm K, Merkenschlager M, Fisher AG. Association of transcriptionally silent genes with Ikaros complexes at centromeric heterochromatin. *Cell.* 1997;91(6):845–854.
1. Koipally J, Renold A, Kim J, Georgopoulos K. Repression by Ikaros and Aiolos is mediated through histone deacetylase complexes. *Embo J.* 1999; 18(11):3090–3100.
1. Koipally J, Georgopoulos K. Ikaros interactions with CtBP reveal a repression mechanism that is independent of histone deacetylase activity. *J Biol Chem.* 2000; 275(26):19594–19602.
1. Kim J, Sif S, Jones B, Jackson A, Koipally J, Heller E, Winandy S, Viel A, Sawyer A, Ikeda T, Kingston R, Georgopoulos K. Ikaros DNA-binding proteins direct formation of chromatin remodeling complexes in lymphocytes. *Immunity.* 1999; 10(3):345–355.
1. Sabbattini P, Lundgren M, Georgiou A, Chow C, Warnes G, Dillon N. Binding of Ikaros to the lambda5 promoter silences transcription through a mechanism that does not require heterochromatin formation. *Embo J.* 2001; 20(11):2812–2822
1. Trinh LA, Ferrini R, Cobb BS, Weinmann AS, Hahm K, Ernst P, Garraway IP, Merkenschlager M, Smale ST. Down-regulation of TdT transcription in CD4+CD8+ thymocytes by Ikaros proteins in direct competition with an Ets activator. *Genes and Development.* 2001; 15:1817–1832.
1. Harker N, Naito T, Cortes M, Hostert A, Hirschberg S, Tolaini M, Roderick K, Georgopoulos K, Kioussis D. The CD8alpha gene locus is regulated by the Ikaros family of proteins. *Mol Cell.* 2002; 10(6):1403–1415.
1. Mullighan CG, Su X, Zhang J, Radtke I, Philips LAA, Miller CB, Ma J, Liu W, Cheng C, Schulman BA, Harvey RC, Chen I-M, Clifford RJ, Carroll WL, reaman G, Bowman WP, Devidas M, Gerhard DS, Yang W, Relling MV, Shurtleff SA, Campana D, Borowitz SP, Willman CL, Downing JR. Deletion of IKZF1 and Prognosis in Acute Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med.* 2009; 360:470–480.
1. Arian van der Veer, Esm'e Waanders, Rob Pieters et al. Independent prognostic value of BCR-ABL1-like signature and IKZF1 deletion, but not high CRLF2 expression, in children with B-cell precursor ALL *Blood.* 2013 Oct 10;122(15):2622-9
1. Ilaria Iacobucci, Annalisa Lonetti, Francesca Messa et al. Expression of spliced oncogenic Ikaros isoforms in Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: implications for a new mechanism of resistance. *Blood.* 2008 Nov 1;112(9):3847-55.
1. Palmi C, Valsecchi MG, Longinotti G et al. What is the relevance of Ikaros gene deletions as a prognostic marker in pediatric Philadelphia-negative B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia? *Haematologica.* 2013 Aug;98(8):1226-31.
1. Martinelli G, Iacobucci I, Storlazzi CT et al. IKZF1 (Ikaros) deletions in BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia are associated with short disease-free survival and high rate of cumulative incidence of relapse: a GIMEMA AL WP report. *J Clin Oncol.* 2009 Nov 1;27(31):5202-7.
1. Yuan T, Zhao XL, Zhang LX et al. [Expression and clinical significance of IKZF1 gene IK6 isoform in adult acute lymphoblastic leukemia]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2013 Jun;21(3):539-43
1. Mitchell SM, Ross JP, Drew HR, et al. A panel of genes methylated with high frequency in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2014 Jan 31;14:54.
1. F Klein, N Feldhahn I, S Herzog et al. BCR-ABL1 induces aberrant splicing of IKAROS and lineage infidelity in pre-B lymphoblastic leukemia *cel Oncogene* (2006) 25, 1118–1124

#### Адрес за кореспонденция:

Стефан Стефанов Лозенов

Адрес: Бул. "Г. М. Скобелев" № 41,

София, България, ПК 1606

E-mail: dr\_lozenov@abv.bg

Gsm: +359879977735

# АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИТЕ ОТ АВТОЛОЖНА СТВОЛОВО КЛЕТЪЧНА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ С МУЛТИПЛЕН МИЕЛОМ ЗА ПЕРИОДА ЯНУАРИ 2009 Г. - ДЕКЕМВРИ 2013Г.

*П. Ганева, Г. Арnaudов, Я. Петров, С. Лозенов, Б. Спасов, М. Минчев, Ч. Ботев, И. Тонев, М. Генова, Л. Гърчева, А. Михова, Г. Балаценко, Г. Михайлов*  
СБАЛХЗ София

## ANALYSIS OF OUTCOMES FOLLOWING AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA FROM JANUARY 2009 - DECEMBER 2013

*P. Ganeva, G. Arnaudov, Y. Petrov, S. Lozenov, B. Spasov, M. Minchev, Ch. Botev, I. Tonev, M. Genova, L. Garcheva, A. Mihova, G. Balatzenko, G. Mihaylov*  
National Hospital of Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

### УВОД

Мултиплиеният миелом (ММ) е малигнено хематологично заболяване, което засяга най-често пациенти със средна възраст 65г. (1).

В последните 20 години високо дозовата терапия (ВДТ) с Мелфалан и последващата автоложна стволово клетъчна трансплантация (АСКТ) стана стандарт в лечението на тази група пациенти, базирайки се на резултатите от клинични проучвания на няколко големи европейски групи по ММ, показващи постигане на по- висок брой пълни ремисии (CR) и общ отговор (ОО), по- висока обща (OS) и свободна от прогресия преживяемост (PFS) (2,3,4,5,6,7). Тази процедура е безопасна дори при пациенти над 65г. възраст (4,5), поради използването на стволови клетки от периферна кръв, при което е съкратен периодът

на възстановяване на хемопоезата, които води до значително намалена смъртност, свързана с трансплантацията (6,7).

Въвеждането на нови антибиотични, антимикотични и противовирусни медикаменти в посттрансплантационния период също спомогна за намаляването на смъртността във фазата на цитопения.

В нашата страна, въвеждането на АСКТ като терапевтична процедура при възрастни пациенти започна след 2004г. Постепенно броят и видът на провежданите АСКТ нарастна от 24 до почти 100 годишно, с преобладаване на пациентите с ММ ( 49.27% от всичките ), което е световна и европейска тенденция. Според данни на EBMT за 2012г. са проведени общо 37818 автоложни трансплантации, като 8947 е броят на пациенти с

ММ ( 47%). В нашето трансплантационно отделение са забелязва същата тенденция.

**Таблица 1 - Тенденция за нарастване броя на АСКТ и броя на трансплантираните пациенти с ММ в СБАЛХЗ**

| Година | Автоложни трасплантации | Мултиплен миелом |      |
|--------|-------------------------|------------------|------|
|        |                         | Брой             | %    |
| 2009   | 30                      | 20               | 66   |
| 2010   | 57                      | 28               | 49   |
| 2011   | 65                      | 36               | 55.3 |
| 2012   | 69                      | 36               | 52.1 |

|      |    |    |      |
|------|----|----|------|
| 2013 | 78 | 37 | 47.4 |
| 2014 | 64 | 21 | 32.8 |
| 2015 | 77 | 33 | 42   |

## ЦЕЛ

За периода 2004-2015г. на територията на България съществуваше само едно отделение за трансплантация на хемопоеични стволови клетки при възрастни пациенти, в което бяха лекувани пациенти от цялата страна. Предвид това целта на нашето проучване беше да се представят и обобщят резултатите от проведените АСКТ за периода 2009-2014г., при пациенти с ММ. За посочения период са анализирани данните на 144 пациента с ММ. Оценени са показатели като време от диагнозата до АСКТ, възрастова група ( $< 55\text{г.}$  /  $\geq 55\text{г.}$ ), пол, стадий по ISS; отговор към АСКТ, с оглед тяхното прогностично значение спрямо OS и PFS.

## ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

Между януари 2009г. и декември 2013г. ( 5г. период ) в трансплантационното отделение на СБАЛХЗ са проведени общо 157 АСКТ при 144 пациента с ММ, със средна възраст 55.4г. ( 38-67г.), съотношение мъже / жени – 77/67. При 132 пациента е проведена една АСКТ, при 12 - две, като при 3 - ма от тях се касае за тандем авто-авто, а при 9, втората АСКТ е извършена, поради рецидив на заболяването.

Основните характеристики на пациентите са показани в таблица 2

**Таблица 2 - Клинични характеристики на пациентите**

| Характеристики                                                                                                          | Брой пациенти<br>n= 144        | %                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Възраст в години<br>Възраст $\leq 55\text{г.}$<br>Възраст $\geq 56\text{г.}$                                            | 55.4г. ( 38-67г. )<br>82<br>62 | 56.9<br>43.1                 |
| Пол<br>м/ж                                                                                                              | 77/67                          | 53.4/ 46.5                   |
| Тип ММ:<br>IgG ( $\lambda + \kappa$ )<br>IgA ( $\lambda + \kappa$ )<br>non secretory<br>леки вериги (FLC) + комбинирани | 80<br>26<br>22<br>16           | 55.5<br>18<br>15.2<br>11.1   |
| Стадий :<br>ISS1<br>ISS2<br>ISS3                                                                                        | 42<br>38<br>64                 | 29.1<br>26.3<br>44.4         |
| Индукционна терапия:<br>• С ПИ (Velcade)<br>• без ПИ<br><br>Брой линии:<br>• 1 линия<br>• над 1 линии                   | 103<br>41<br><br>90<br>54      | 73<br>27<br><br>62.5<br>37.5 |
| Време до АСКТ :<br>$< 12\text{м.}$ / $\geq 12\text{м.}$                                                                 | 99/ 45                         | 69/31                        |

Условията за провеждане на АСКТ са: възраст под 70г., адекватна сърдечна функция (  $FI \geq 40\%$  ), нормални белодробни показатели ( $FEV_1 > 70\%$ ), чернодробна (билирубин и трансаминази  $< 2x$  норма ) и бъбречна (креатининов клирънс  $\geq 50$  мл/мин ) функции в норма. Всички пациенти са разгледани предварително на трансплантационен комитет към СБАЛХЗ и са подписали информирано съгласие.

Преди АСКТ при всички пациенти е провеждана индукционна терапия, състояща се от 1 до 2 или повече линии терапии. При 90 (62.5%) е прилагана само една линия химиотерапия. Пациентите са разделени според индукционната терапия на такива, при които схемите химиотерапия са с протеазомен инхибитор (ПИ) – Velcade и такива без ПИ (103/41). Режимите с ПИ са дву- или трикомпонентни : Vel –Dex или C- Vel/Dex. При тези без ПИ е използвана схемата VAD или Al-keran -базирани режими. При 99 (69%) пациента АСКТ е проведена до 12м. след диагнозата, а при 45 (31%) след 12м. от поставяне на диагнозата.

Мобилизацията е провеждана според стандартните протоколи: с растежен фактор при 120 (83%), с химиотерапия + растежен фактор при 15 (10.3%) или добавяне на Мозобил при т. нар. „лоши мобилизатори” - 9 (6,2%). Средният добив на стволови клетки ( CD34+ ) при отделните групи е съответно :  $3.66 \times 10^6$  кг тегло;  $4.84 \times 10^6$  кг тегло;  $2.72 \times 10^6$  кг тегло.

Кондиционирацият режим при всички пациенти е стандартен и се състои от Мелфалан в доза 200мг/м<sup>2</sup> при 119 пациента ( 82.6%), а при 25 пациента ( 17.4%) дозата е редуцирана на 140мг/м<sup>2</sup>, поради различни причини ( намалена бъбречна функция, сърдечни проблеми и др.). Не

сме използвали тотално целотелесно облъчване (TBI) в кондициониращите режими.

В последващия посттрансплантационен период пациентите са наблюдавани и лекувани според стандартни протоколи на отделението, включващи приложение на растежен фактор от ден + 5ти, антибиотична, антимикотична терапия, заместителна терапия при ежедневен контрол на кръвни показатели, биохимични и микробиологични показатели.

#### КРИТЕРИИ ЗА ОТГОВОР

Използвани са критериите за отговор на EBMT от 1998 г. и новите критерии на Интернационалната работна група по миеломи ( IMWG ) от 2006г. (8,9).

#### СТАТИСТИЧЕКИ АНАЛИЗ

Данните са анализирани към 12.2014г. Използвани са методите на Kaplan – Meier за анализиране на обща преживяемост ( OS) и свободна от прогресия преживяемост ( PFS). Обща преживяемост се дефинира като времето от АСКТ до съответен избран момент или смърт. Преживяемост свободна от прогресия се дефинира като времето от АСКТ до рецидив, прогресия / смърт или дата на последна оценка . Средно време за наблюдение ( follow up ) е 34 месеца ( интервал :12-69 месеца).

#### РЕЗУЛТАТИ

Тип мобилизация

**При оценка на резултатите от мобилизацията според типа протокол : само растежен фактор (120 пациента ) / химиотерапия + растежен фактор (15 пациента ) се установи следното : среден добив  $3.66 \times 10^6$  кг тегло/  $4.84 \times 10^6$  кг тегло. (таблица 3).**

| Мобилизационен режим | G-CSF +/- Mosobil           | HDEnd+ G-CSF                | Статистическа значимост |
|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Добив – СД 34+       | $3.66 \times 10^6$ кг тегло | $4.84 \times 10^6$ кг тегло | ( $p = 0.005$ )         |

**Наблюдава се тенденция за по-висок добив на стволови клетки след използване на химиотерапия + растежен фактор при мобилизация като резултатите показваха сигнификантна значимост; Въпреки това мобилизация с приложение на химиотерапия + растежен фактор все още не е стандарт в нашата клиника.**

Брой инфузирани клетки, хематологично възстановяване и свързана с трансплантацията смъртност (TRM).

При пациентите средно са инфузирани  $3.2 \times 10^6$  / кг тегло периферни стволови клетки (интервал :1.3-6.9), като при 22 пациента (14.9%) са вляти

$\geq 4 \times 10^6$  / кг тегло стволови клетки, а при 135 (85.1%)  $\leq 4 \times 10^6$  / кг тегло стволови клетки.

Оценявано е т.нар. хематологично възстановяване или „engraftment “, като при нашите пациенти възстановяването за неутрофили (над 0.5 G/l ) се наблюдаваше средно на ден +11.8 ти ( граници от +10 до +18ти ), а за тромбоцити (над 25Г/л) на ден + 12.2 ти( граници от ден +10 до ден +18ти ). Не сме наблюдавали случай на не възстановяване на хематологичните показатели или т. нар. „graft failure “. Тези данни отговарят на резултатите, представяни от други трансплантационни групи. (10,11)

По отношение на показателя свързана с

трансплантацията смъртност (TRM) нашите резултати са 5/144 или 3.5%. При един пациент причината за смърт беше белодробен оток на ден +16ти, при 1 - внезапна сърдечна смърт на ден +18ти, двустранна бронхопневмония и сепсис с *Enterococcus faecalis* при - 1, мозъчен кръвоизлив на ден +17ти – 1, тежка АИХА на ден +40ти при един пациент, развила се вторично след възстановяване на хематологичните показатели. Не сме наблюдавали тежка степен на сърдечна, белодробна или чернодробна недостатъчност ( II-IV степен по скалата на WHO); докато фебрилна неутропения имаше почти при всички пациенти, мукозит в различна овладяема степен при 2/3 то пациентите.

#### КЛИНИЧЕН ОТГОВОР

Средното време за наблюдение на пациентите е 34 месеца (интервал 12-69 месеца).

Към момента на АСКТ е наблюдаван следният отговор от общо (n-144) пациента : CR - 18 (12.5%); VGPR – 61(42.3%); PR+MR – 57(39.5%); прогресия - 8 ( 5.5%); или общ отговор (CR+VGPR+ PR + MR) - 81.8%.

При оценка на резултатите след АСКТ ( +3 ти месец ) са наблюдавани следните

данни от 139 пациента: CR - 31(22.3%); VGPR – 71(52.%); PR+MR – 35(25.1%); прогресия – само 1( 0.7%);

Настоящ статус на пациентите към 12.2014г. – от 139 болни, в CR са 54 пациента ( 50.4%), със стабилно заболяване 5 (4.5%); с рецидив 70 ( 50.3%), починали 37 (25.6%). Данните са оценявани към 31.12.2014г.

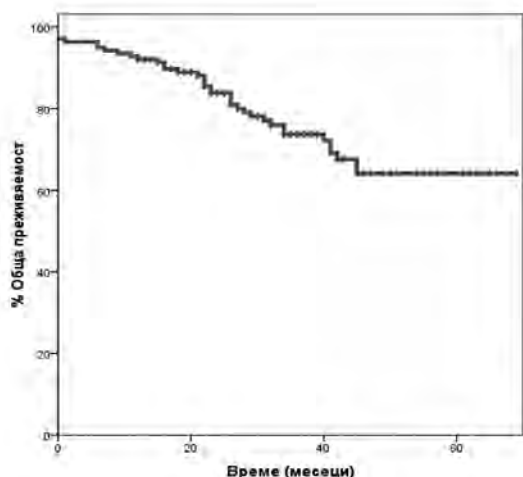
**Таблица 4 – Оценка на отговор преди АСКТ / след АСКТ**

|             | Статус преди АСКТ<br>N=144 | Статус след АСКТ (+100 ден)<br>N=139 |
|-------------|----------------------------|--------------------------------------|
| CR          | 18 (12.5%)                 | 31 (22.3%)                           |
| VGPR        | 61 (42.3%)                 | 71 (52%)                             |
| PR+MR       | 57 (39.5%)                 | 35 (25.1%)                           |
| PROGRESSION | 8 (5.5%)                   | 1 (0.7%)                             |
| RELAPSE     |                            |                                      |

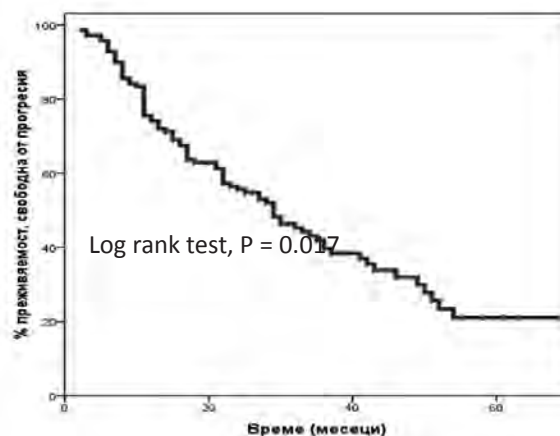
**Легенда:** CR- пълен отговор; VGPR – много добър частичен отговор; PR – частичен отговор; MR – минимален отговор; PROGRESSIN - прогресия; RELAPSE - рецидив;

#### ОЦЕНКА НА ОБЩА ПРЕЖИВЯЕМОСТ (OS) И СВОБОДНА ОТ ПРОГРЕСИЯ ПРЕЖИВЯЕМОСТ (PFS)

**Фигура 1** - OS на пациентите с MM след АСКТ  
4 годишна OS – 68% , средна OS -33.73мес.



**Фигура 2** - PFS на пациенти с MM след АСКТ



Средна PFS – 26.16 месец; 5 год. PFS - 18.5%.  
При сравнение на кривите според пол се

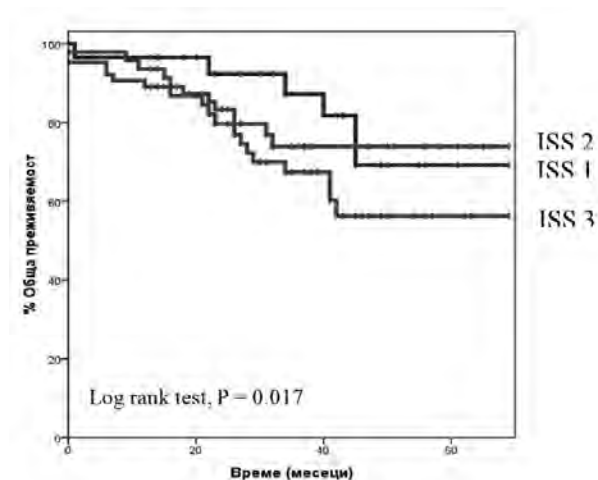
установи, че няма сигнификантна разлика ( $P = 0.580$ ) в OS.

Възрастта като прогностичен фактор - при определяне на OS при двете групи пациенти: под 55г. и над 55г. не намерихме сигнификантна разлика в OS ( $p=0.626$ )

Сравнение според времето до провеждане на АСКТ: до 12 м / след 12м. – в нашата популация от пациенти не установихме сигнификантна разлика по отношение на OS ( $p=0.876$ ) според времето на провеждане на АСКТ.

Сравнение според ISS - установява се сигнификантна разлика между групите с ISS1 / ISS3 ( $p=0.017$ )

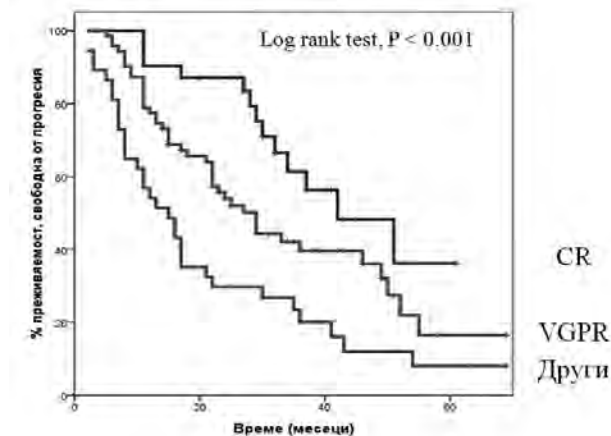
**Фигура 3 - OS според ISS**



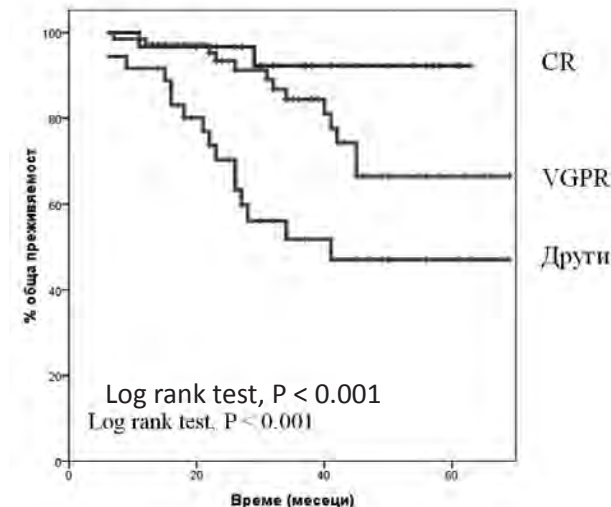
### ОЦЕНКА НА ОТГОВОР ПРЕДИ АСКТ И СЛЕД АСКТ

При оценка на резултатите по отношение на връзката на терапевтичния отговор (CR, VGPR / друг по-слаб отговор) след АСКТ беше установено, че 5-годишната PFS при пациенти с постигната CR е значително по-продължителна в сравнение с останалите пациенти - VGPR и по-слаб терапевтичен отговор (36.2% vs 16.5% vs 8.0%; Log rank test  $P<0.001$ ) – Фиг. 4.

**Фигура 4 - PFS според терапевтичния отговор (CR/ VGPR/ друг по-слаб отговор)**



**Фигура 5 - OS според терапевтичния отговор (CR / VGPR / друг по-слаб отговор)**



Според данните, представени на фиг. 5 се вижда, че 5-годишната OS при пациенти с постигната CR след проведена АСКТ е значително по-продължителна в сравнение с болните, при които е постигнат следтрансплантационен VGPR и по-слаб терапевтичен отговор (92,3% vs 66.5% vs 47%; Log rank test  $P<0.001$ ).

### ДИСКУСИЯ

Представихме резултатите от ретроспективния анализ на кохорта от пациенти с ММ, които са трансплантирани в нашия център между 2009г. - 2013г. Всички пациенти получиха периферни стволови клетки след ВДТ с Мелфалан. Показателят TRM е 3.5%, което отговаря на европейските данни от други проучвания, където варира между 3-20%. Този сравнително нисък и приемлив показател може би е свързан и с това, че в нашата група пациенти, както и в по-новите трансплантационни протоколи, се преливат само периферни стволови клетки, което е свързано

с по-кратък период на цитопения и по-бързо хематологично възстановяване. Също така в кондициониращите режими не сме използвали TBI, което дава по-лоши резултати (17).

Средната OS и PFS след АСКТ е 33.73 мес. и 26.16 мес. респективно, като това е сравнимо с резултатите от регистрите на EBMT и данните на други отделни центрове (10,11,12,13). Въпреки, че резултатите са относително добри, пациентите продължават да прогресират / рецидивират и загиват няколко години след АСКТ, което се вижда от OS и PFS кривите, показващи стабилно плато. Даже и при провеждане на втора планирана АСКТ има много малко дълго преживяли пациенти, което предполага, че АСКТ не ерадикира изцяло заболяването (14). Поради това основните цели в лечението на тези пациенти е постигането на продължителни CR и/или поддържане на заболяването без прогресия. Все още въпросът за поддържащата терапия след АСКТ е спорен и няма стандарт в тази насока.

Постигането на CR е най-важният момент в лечението на MM и представлява съществен маркер за продължителна OS и PFS (20,21,22,23). В редица проучвания, статусът на заболяването към АСКТ/ след АСКТ се явява прогностичен фактор за OS и PFS (18,19, 20, 21,22, 23, 24). Нашите данни показват, че пациентите с CR преди АСКТ имат значително по-дълга OS и PFS (фигури 4 и 5). Нашите пациенти в 74.5% са постигнали CR+VGPR след АСКТ. Постигането на CR след АСКТ е свързано и със статуса на заболяването преди АСКТ. Очевидно е и от нашите данни в таблица 4, нарастването броя на пациентите с CR след АСКТ, т.е. подобряване статуса на заболяването след проведената ВДТ и последваща трансплантация. Това доказва, че АСКТ има положителен ефект при пациенти, които не са постигнали CR преди процедурата и са били химиорезистентни в началото на лечението. При 8 пациенти с прогресия преди АСКТ се отчита подобряване на заболяването, като само при 1 не е постигнат никакъв терапевтичен ефект. Постигането на терапевтичен отговор (CR, VGPR) е с фундаментално прогностично значение за подобряване на общата преживяемост. В това отношение значение има както приложението на нови медикаменти в индукционната фаза, така също и ВДТ като част от трансплантационната програма. Общият отговор след АСКТ е 91.8 %, което е подобно на резултатите от други центрове и проучвания.

Според проучване на Италианска група по MM върху 290 пациенти, възрастта се явява важен прогностичен фактор при група под 55г. / над 55г., въпреки че възраст над 65г. и даже 70г. не е изключващ фактор за провеждане на АСКТ (15,16,17,18).

В нашата група пациенти, възрастта под 55г./ над 55г. не се явява от съществено значение за прогнозата по отношение на общата преживяемост. От всички 144 пациента много малко бяха на възраст над 65г. (n=6), така че, не сме определяли значението на тази възрастова група спрямо преживяемостта им.

Оптималното време за провеждане на АСКТ все още остава дискусатилен въпрос. Съществуват множество рандомизирани проучвания, които не показват разлика в OS при пациенти трансплантирани рано или по-късно към рецидив, въпреки че ранната АСКТ е свързана с по-кратък период на предходна химиотерапия и по-добро качество на живот (25,26,27). Интересно е, че няма значима разлика в 5 годишната OS в двете групи пациенти. В ерата на новите медикаменти, които също постигат дълбок първоначален отговор, особено при пациенти, които не предпочитат АСКТ, въпросът за отложената АСКТ към момент на рецидив остава доста дискуссионен в много трансплантационни центрове.

В нашата група пациенти не наблюдавахме сигнификантна разлика при двете групи под 12м / над 12м. Недостатъците от изчаквателната политика по отношение на АСКТ и приложението и към момент на евентуален рецидив са свързани с възможна органна дисфункция – бъбречна и/или евентуален риск от развитие на миелодиспластичен синдром след по-продължителното приложение на алкилиращи агенти в индукционната терапия.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данните от нашето едноцентрово проучване показват, че ВДТ с последваща АСКТ е ефективна и безопасна терапевтична опция за пациенти с MM за съответната възраст. Резултатите по отношение на OS и PFS са независими от възрастта, пола, интервала от диагнозата и последващата АСКТ, докато само при ISS наблюдавахме сигнификантна разлика между групите с 1 и 2 стадий. Индукционната терапия с новите медикаменти води до резултати сравними с тези от АСКТ и индуциране на пълна ремисия в голям брой пациенти. Последващата ВДТ и АСКТ, води до по-дълга OS и PFS и по този начин консолидира и подобрява терапевтичния отговор и качеството на живот при по-голяма част от пациентите.

## БИБЛИОГРАФИЯ :

1. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. et al; Cancer statistics.2000. *CACancer J.Clin*; 2000;50; 7-33;
1. Attal M, Harrousseau JL, Stopa AM et al. A prospective randomised trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multi[ple myeloma. *Intergrroupe Francais du Myelome. N.Eng. J. Med.*1996; 335; 91-97;
1. Palumbo A., Triolo S,Argentino C et al. Dose - intensive mel-

phalan with stem cell support (MEL100) is superior to standard treatment in elderly myeloma patients. *Blood* 1999; 94:1248-1253;

1. Lenhoff S, Hjorth M, Holmbert E et al. Impact of survival of high dose therapy with autologous stem cell support in patients younger than 60 years with newly diagnosed multiple myeloma; a population based study. Nordic Myeloma Study group. *Blood* 2000;95;7-11;
1. Siegel DS, Desikan KR, Mehta J, Singhal S, Fassas A, Munshi N et al. Age is not a prognostic variable with autotransplants for multiple myeloma. *Blood* 1999; 93: 51-54.
1. Child JA, Morgan GJ, Davies FE et al. High- dose chemotherapy with hematopoietic stem cell rescue for multiple myeloma. *N.Eng.J.Med.* 2003;348;1875-1883;
1. Blade J, Rosinol L, Gibeira MT, Rovira M, Carreras E. Hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma beyond ; *Blood*. 2010;115:3655-3663.
1. Blade J, Samson D, Reece Det al. Criteria for evaluating diseases response and progressiohn in patients with multiple myeloma reated by high- dose therapy and haematopoietic stem cell transplantation. *Myeloma Subcommittee of the EBMT. Br.J.Hematol.* 1998.102;1115-1123
1. Durie BG, Harousseau JL, Migel JS, Blade J, Barlogie B et al ; *International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia ;* 2006 Sep;20(9):1467-73
1. Koren J; Spichka I; Straub J; Vackova B et al Retrospective analysis of the results of high- dose chemotherapy with the support of autologous blood stem cells in patients with multiple myeloma. The experience of a single center . *Prague Medical Report* 2010. Vol 111.; 3, 207-218
1. Harousseau JL, Moreau P; Autologous hematopoietic stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med* 360: 2645-2654, 2009.
1. O Shea D.; Giles C, Terpos E.; Predictive factors for survival in myeloma patients who undergo autologous stem cell transplantation: a single-centre experience in 211 patients.; *Bone Marrow Transplantation*; 2006 Apr;37(8):731-7.
1. Palumbo A, Rajkumar SV; Multiple myeloma: chemotherapy or transplantation in the era of new drugs. *Eur J Haematol* 84: 379-390, 2010.
1. San-Miguel JF, Mateos MV. Can multiple myeloma become a curable disease? *Haematologica*. 2011;96:1246-1248
1. Femand JP, Katsahian S, Divine M, Leblond V, Dreyfus F, Macro M et al High-dose therapy and autologous stem cell compared with conventional treatment in myeloma patients aged 55 to 65 years: long term results of a randomized control trial from the Group Myelome-Autogreffe. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9227-9233
1. Badros A, Barlogie B, Siegel E et al. Autologous stem cell transplantation in elderly multiple myeloma patients over the age of 70 years. *Br. J. Hematol.* 2001;114; 600-608;
1. Mehta J.; Singhal S.; High-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation in myeloma patients under the age of 65 years; *Bone Marrow Transplantation* (2007) **40**, 1101-1114;
1. Moreau P, Rajkumar SV. Should all eligible patients with multiple myeloma receive autologous stem-cell transplant as part of initial treatment? *Leuk Res.* 2012;36:677-681
1. Bjorkstrand B. European Group for Blood and Marrow Transplantation Registry studies in multiple myeloma. *Semin*

*Hematol* 2001; 38: 219-225.

1. Kumar L.; Igbal N.; Mookerejee A . et all. Complete response after autologous stem cell transplant in multiple myeloma; *Cancer Med.* 2014 Aug; 3(4): 939-946
1. Harousseau JL, Attal M, Avet-Loiseau H. The role of complete response in multiple myeloma. *Blood*. 2009;114:3139-3146
1. Rajkumar SV, Fonseca R, Dispenzieri A, Lacy MQ, Lust JA, Witzig TE et al. Effect of complete response on outcome following autologous stem cell transplantation for myeloma. *Bone Marrow Transplant* 2000; 26: 979-983.
1. Kim JS, Kim K, Cheong JW, et al. Complete remission status before autologous stem cell transplantation is an important prognostic factor in patients with multiple myeloma undergoing upfront single autologous transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2009;15:463-470.
1. Gay F, Larocca A, Wijermans P, Cavallo F, Rossi D, Schaafsma R, et al. Complete response correlates with long-term progression-free and overall survival in elderly myeloma treated with novel agents: analysis of 1175 patients. *Blood*. 2011;117:3025-3031
1. Kumar SK, Lacy MQ, Dispenzieri A, Buadi FK, Hayman SR, Dingli D, Gay F, Sinha S, Leung N, Hogan W, Rajkumar SV, Gertz MA. Early versus delayed autologous transplantation after immunomodulatory agents-based induction therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Cancer*. 2012;118:1585-1592
1. Dunavin NC', Wei L, Elder P, Phillips GS, Benson DM Jr, Hofmeister CC, Penza S, Greenfield C, Rose KS, Rieser G, Merritt L, Ketcham J, Heerema N, Byrd JC, Devine SM, Efebera YA.; Early versus delayed autologous stem cell transplant in patients receiving novel therapies for multiple myeloma. *leukemia Lymphoma* 2013;Aug;54(8) 1658- 1664
1. Morris C, Iacobelli S, Brand R, Bjorkstrand B, Drake M, Niederwieser D et al. Benefit and timing of second transplantations in multiple myeloma: clinical findings and methodological limitations in a European Group for Blood and Marrow Transplantation registry study. *J Clin Oncol* 2004; 22: 1674-1681.

#### Адрес за кореспонденция:

П. Ганева

СБАЛХЗ, София,

ул. Пловдивско поле №6,

Отделение по трансплантация на стволови клетки

e-mail: ganevapenka@yahoo.com

# СРАВНЕНИЕ НА ПРОГНОСТИЧНОТО ЗНАЧЕНИЕ НА МИНИМАЛНАТА РЕЗИДУАЛНА БОЛЕСТ И КОНВЕНЦИОНАЛНИТЕ ПРОГНОСТИЧНИ ФАКТОРИ ПРИ ЛЕЧЕНИЕТО НА ОСТРАТА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ ПРИ ВЪЗРАСТНИ

С. Лозенов<sup>1</sup>, Б. Спасов<sup>1</sup>, Я. Петров<sup>1</sup>, В. Стоева<sup>1</sup>, Т. Янкова<sup>1</sup>, К. Игнатова<sup>1</sup>, Ю. Жечев<sup>1</sup>, М. Станева<sup>1</sup>, Т. Михайлова<sup>1</sup>, Д. Пейчев<sup>1</sup>, М. Стойчов<sup>1</sup>, М. Генова<sup>2</sup>, Г. Балаценко<sup>3</sup>, М. Дончев<sup>1</sup>, Г. Арnaudов<sup>1</sup>, Г. Михайлов<sup>1</sup>

1. Национална специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания – София (НСБАЛХЗ), София, България, Отделение по хематология, Клиника по хематология
2. Национална специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания – София (НСБАЛХЗ), София, България, Лаборатория по хематопатология
3. Национална специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания – София (НСБАЛХЗ), София, България, Лаборатория по молекулярна биология и цитогенетика

## COMPARISON OF THE PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE MINIMAL RESIDUAL DISEASE AND THE CONVENTIONAL PROGNOSTIC FACTORS IN ADULT ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

Lozenov S.<sup>1</sup>, Spassov B.<sup>1</sup>, Petrov Y.<sup>1</sup>, Stoeva V.<sup>1</sup>, Yankova T.<sup>1</sup>, Ignatova K.<sup>1</sup>, Zhechev Y.<sup>1</sup>, Staneva M.<sup>1</sup>, Mihailova T.<sup>1</sup>, Peichev D.<sup>1</sup>, Stoichov M.<sup>1</sup>, Guenova M.<sup>2</sup>, Balatzenko G.<sup>3</sup>, Donchev M.<sup>1</sup>, Arnaudov G.<sup>1</sup>, Mihaylov G.<sup>1</sup>

National Hospital of Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

---

### Резюме

**Цел:** С настоящия ретроспективен анализ целим да сравним влиянието на минималната резидуална болест и на група конвенционални прогностични фактори върху общата преживяемост на пациентите с ОЛЛ.

**Методи:** Анализирахме ретроспективно 81 възрастни пациента с ОЛЛ, като от тях 53 са постигнали пълна цитологична ремисия (CR). Минималната резидуална болест (МРБ) на пациентите е измерена чрез 8-цветна флоуцитометрия и чрез полуколичествен RT-PCR за пациентите с MLL-AF4 или BCR-ABL фузионни транскрипти. МРБ негативност или молекулярна пълна ремисия (moCR) са дефинирани като ниво на ОЛЛ клетки под  $10^{-4}$  или липса на експресия на молекулярен маркер при PCR изследване.

**Резултати:** moCR има статистически значимо влияние върху OS 70,3% спрямо 10,7% при пациентите, които не постигат moCR. Конвенционалните прогностични фактори с рискова стратификация по конвенционални рискови групи не изглежда да носят по-високо прогностично значение, като стратификацията по конвенционална рискова група не достига статистически значимо влияние върху OS, а мултивариационния анализ демонстрира прогностично значение само за статуса по отношение на МРБ, броят на левкоцитите към диагнозата и статуса по ECOG с коефициенти на риска от съответно 5,241; 3,070; 2,061.

**Заключение:** Влиянието на moCR върху преживяемостта ще доведе до нови стратегии за рискова стратификация, които са базирани в по-голяма степен или изцяло на статуса по отношение на МРБ. Оптималното време за стратифициране според МРБ статуса предстои да бъде изяснено.

**Ключови думи:** минимална резидуална болест, остра лимфобластна левкемия, прогностични фактори

## Abstract

**Objectives:** With the present retrospective assessment we aimed to compare the impact of minimal residual disease and a group of conventional prognostic factors on the overall survival of ALL patients.

**Methods:** We analyzed retrospectively 83 patients with adult ALL, 53 of them were CR achievers. The minimal residual disease (MRD) levels of the patients were measured through 8-color flow cytometry and through semiquantitative RT-PCR for the patients with MLL-AF4 or BCR-ABL fusion transcripts. MRD negativity or molecular complete remission (molCR) was defined as a level of less than  $10^{-4}$  ALL cells or no expression of the molecular marker through PCR.

**Results:** molCR had a statistically significant impact on OS 70.3% vs. 10.7% for the molCR non-achievers. The conventional risk factors did not seem to convey greater prognostic significance with conventional risk group stratification not reaching statistical significance on OS, and the multivariate analysis demonstrating significance only of MRD status, WBC and PSECOG with hazard ratios of 5.241; 3.070; 2.061, respectively.

**Conclusion:** The impact of molCR status on survival will lead to new risk stratification strategies based to a greater extent or even exclusively on the MRD status. The optimal time for MRD risk stratification remains to be established.

## ВЪВЕДЕНИЕ

През последните няколко десетилетия, нивата на терапевтичен отговор, преживяемостта без левкемия и 5-годишната обща преживяемост (OS) при възрастните пациенти с остра лимфобластна левкемия (ОЛЛ) се подобряват значително, като някои групи съобщават OS в порядъка на 30 – 50 % и нива на CR 78 – 93%.<sup>1-6</sup> Съвременните протоколи за лечение разчитат на агресивни „педиатрично-въдъхновени“ режими на химиотерапия и приложение на педиатрични протоколи за лечение на ОЛЛ за групите на юноши и млади възрастни (AYA) и базирани на риска решения за интензивността на лечението. Съществува тенденция за подобряване на дългосрочните резултати чрез по-добра рисковата стратификация. Рисковата стратификация в различните терапевтични протоколи обикновено се основава на групи от конвенционални прогностични фактори, като - левкоцитен брой към диагноза (WBC), имунофенотип, цитогенетични и молекулярно биологични отклонения, постигане на CR и време за постигане на CR, възраст, като съществуват известни вариации сред отделните изследователски групи.<sup>1,3,6,7,8</sup> За да се подобрят допълнително резултатите от рисковата стратификация на пациентите, някои педиатрични групи по ОЛЛ въвеждат оценката на нивото на минимална резидуална болест (МРБ) като прогностичен маркер. Това по-късно е направено и в последните изпитвания в полето на ОЛЛ на Германската многоцентрова група по остра лимфобластна левкемия при възрастни (GMALL)<sup>3,4,8</sup>.

Измерването на MRD оценява дълбочината на

молекулярната ремисия с чувствителност много по-голяма от тази на уптоморфологията (10-2) и е от порядъка на 10-4 - 10-5, 8, 9. Няколко проучвания диктуват ролята на MRD в прогнозиране на релапс продължителна пълна ремисия при пациенти с ALL.

Има няколко различни техники за изследване на МРБ при ОЛЛ. Те включват имунофенотипния подход, който използва флуоцитометрия с осем цвята, полимеразна верижна реакция в реално време (RT-PCR) по отношение на специфични молекулярни маркери при ОЛЛ и от най-скоро количествен PCR по отношение на пренареждания на имуноглобулиновите гени и TCR рецептора, като последната техника се предпочита от все повече групи.<sup>10</sup> Въпреки нарастващото участие на оценката на МРБ за рисковата стратификация при възрастните пациенти с ОЛЛ, има продължаваща нужда да се отговори по-добре на специфичната роля, която оценката на МРБ трябва да има сред останалите прогностични фактори при ОЛЛ и е необходимо да се уточни най-добрата точка във времето за оценка на МРБ.

С настоящия анализ на резултатите от лечението на пациенти, лекувани в Националната специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания – София (НСБАЛХЗ) целим да оценим прогностичното значение на молекулярната пълна ремисия (molCR), прогностичното значение на времето до постигане на molCR и да съпоставим тяхното влияние върху OS с това на конвенционалните прогностични фактори при ОЛЛ.

## ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

Пациентска група и стратификация на риска според конвенционалните рискови фактори

Настоящият анализ включва ретроспективна оценка на резултатите при възрастни пациенти с ОЛЛ (над 18-годишна възраст към диагноза), лекувани в НСБАЛХЗ в периода от 1.01.2009 г. до 01.01.2016 г. Това е група от 81 пациента с медиана на възрастта от 38 години, като 19,75% от пациентите са с Филаделфия позитивна ОЛЛ. Пациентите са лекувани на първа линия с педиатрично-въдъхновени протоколи (GMALL 07/03, BFM 2000, HOVON ALL, Hyper-CVAD и др.) и са провеждали костномозъчни изследвания според съответните протоколи, като е проведен флуоцитометричен анализ на всяка представителна проба. Пациентите с високо рисков или свръхвисоко рисков профил са приети за кандидати за алогенна трансплантация на хематопоеични стволови клетки (ало-ТХСК). Дяловете на отделните рискови групи в съответствие с критериите за рискова стратификация, използвани в изпитването GMALL 07/03 са показани в таблица 1. Свръх високият риск (VHR) е дефиниран като наличие на t (9;22), високият риск (HR) – при В-ОЛЛ се дефинира, като постигане CR на ден 46, WBC > 30 G/L към диагноза, про-В фенотип или наличие на t (4;11), HR при Т-ОЛЛ се дефинира като зрял или ранен имунофенотип, стандартният риск (SR) – при В-ОЛЛ се дефинира, като постигане на CR на ден 26, WBC < 30 G/L към диагноза, отсъствие на про-В фенотип и отсъствие на t (4;11), стандартен риск (SR) при Т-ОЛЛ се дефинира, като наличие на тимусен имунофенотип.

## ОЦЕНКА НА МРБ

Минималната резидуална болест е оценявана, като е използвана флуоцитометрия с 8 цвята, система BD FACSCanto™ II и полуколичествен RT-PCR за BCR-ABL и MLL-AF4 фузионни транскрипти. Флуоцитометричните маркери, използвани за проследяване на МРБ, включват стандартни панели от маркери: (slg M, CD13, Cd34, CD19, CD22, CD3, CD45, Cd38, CD33, CD10, CD20, CD21, nuTdT, Cd5, CD123, Cd9, CD15, CD117, CD81, CD14, CD2, CD56, CD5, cyCD3, CD1a, CD117, CD8, CD4, TCRab, TCRgd, CD33, CD7, HLA DR. Изследването чрез RT-PCR, използва протокола на програмата BIOMED-1<sup>11</sup>. Прагът за дефиниране на МРБ негативност е (МРБ/-)  $10^{-4}$  клетки при флуоцитометричното изследване или липса на експресия на bcr-abl или mll-af4 фузионни транскрипти при оценката чрез полуколичествен RT-PCR. Използван е стандартната морфологична дефиниция за цитологична пълна ремисия (CR) – по-малко от 5% бласти в костния мозък.

## СЪБИРАНЕ НА ДАННИ И СТАТИСТИЧЕСКИ АНАЛИЗ

Първичният източник на ретроспективните данни е болничната информационна система на НСБАЛХЗ и базата данни на хематопатологичната лаборатория. Статистическата обработка на данните е извършена с програмен продукт SPSS версия 18.0. Анализите на преживяемостта са проведени по метода на Каплан-Майер, като статистическата значимостта на разликата между кривите е оценявана чрез рангови тест. Общата преживяемост е оценявана като периода от диагноза до смърт или край на проследяване (1.01.2016). Пациентите отпаднали от проследяване са цензурирани към последната си визита. Използван е линеарен регресионен модел на Cox със стъпаловидно моделиране напред, за да се сравни влиянието на конвенционалните прогностични фактори спрямо МРБ статуса върху OS, сред пациентите постигнали CR.

## РЕЗУЛТАТИ

### Общ терапевтичен отговор и обща преживяемост:

Нивото на постигане на CR в групата е 65.43 %, а пет годишната OS е 26.9%, а за групата постигнала CR - 31.9% (Табл. 1). Наблюдават се лекостепенно по-високи нива на CR в SR групата спрямо HR групата съответно 75 спрямо 60% ( $p=0.243$ ). Пет годишната преживяемост според рисковата група според конвенционалните фактори е както следва: за SR групата 40,4%, за HR групата 27,6% за VHR групата 21%, като разликата по отношение на OS не достига статистическа значимост (Фиг.1). Общо 15 пациента от 53-мата постигнали CR са били трансплантирани алогенно. 15 пациента от 53-мата пациенти постигнали CR постигат molCR в хода на първа линия терапия (28,30 %), 8 от тях постигат molCR преди ден 71 от лечението (53,33% от постигналите molCR).

### Влияние на статуса по МРБ върху OS:

Постигането на molCR демонстрира значителен ефект върху OS на пациентите, които постигат CR, OS при пациентите, които са негативни за МРБ е 70,3%, а това на пациентите, които не постигат molCR статус е 10,7% ( $p=0,002$ ) (Фиг.2). Постигането на МРБ негативност преди ден 71 в малката подгрупа от пациенти, които са с постигнат molCR, демонстрира тенденция към статистически значима разлика в медианата на преживяемостта, съответно 59,34 месеца за пациентите постигнали ранна МРБ негативност срещу 46,77 за пациентите с по-късен отговор. Алогенната ТХСК демонстрира потенциал да подобри статистически значимо OS при пациенти, които не са постигнали molCR статус. 3-годишната OS за МРБ позитивните пациенти, които са получили ало.ТХСК е 38,9%, а медианата на

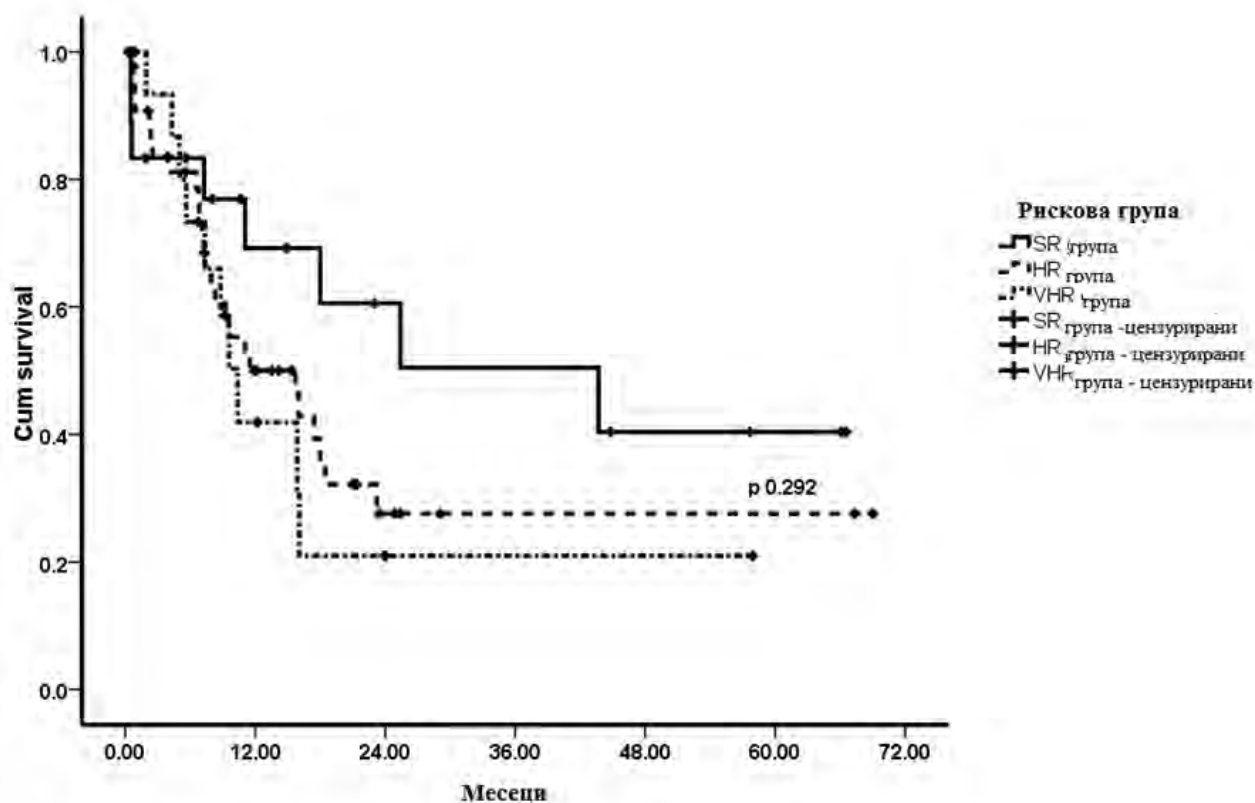
преживяемостта 23,2 месеца срещу 17,7% и 11.500 месеца за МРБ-позитивните пациенти, които не са трансплантирани, като няма пациенти с дългосрочна преживяемост в рамките на МРБ позитивни пациенти, които не са трансплантирани алогенно (Фиг. 3). Средната OS на пациентите достигнали CR, но не достигнали molCR от SR групата (n=6), спрямо тази на пациентите от HR групата, които са постигнали molCR статус (n=7) (реципиентите на ТХСК са цензурирани към момента на трансплантацията) е по-лоша без разликата да достига статистическа значимост -26,8 месеца срещу 57,4 месеца съответно.

#### Мултивариационен анализ на влиянието на прогностичните фактори и МРБ статуса върху OS:

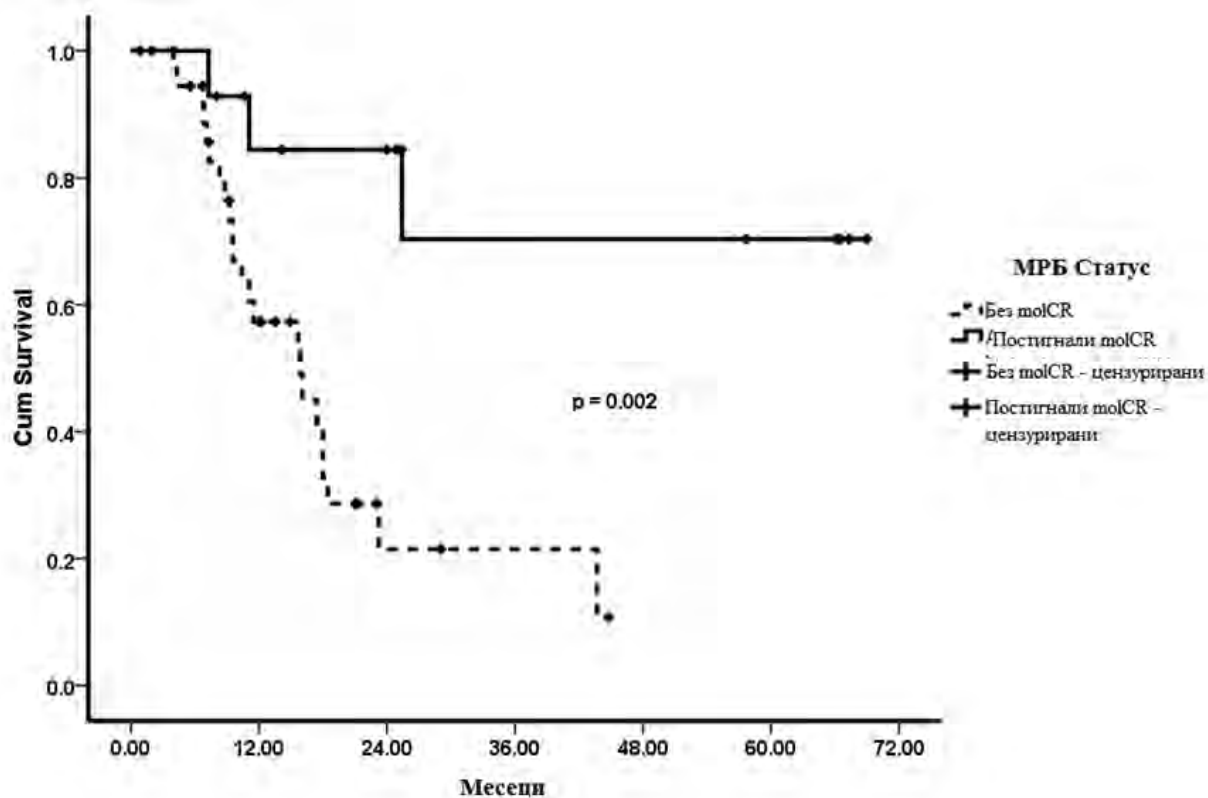
Мултивариационният анализ утвърждава МРБ статуса, като фактора с най-голямо влияние върху преживяемостта с Коефициент на риска (HR) за пациентите, които не постигат molCR от 4.739 с доверителен интервал (ДИ) от 1.257 – 5.235,  $p = 0.020$ . Мултивариационният модел също така потвърждава значимостта на WBC над 30 G/L към диагнозата, с HR 3.325, ДИ 1.184 – 9.337  $p = 0.023$ , и ECOG статуса към диагнозата HR 1.946 ДИ 0.999 – 3.792  $p = 0.050$

|                                       | Пациенти |       | Постигната CR |       |
|---------------------------------------|----------|-------|---------------|-------|
|                                       | N        | %     | N             | %     |
| <b>Линия</b>                          |          |       |               |       |
| B                                     | 57       | 70.37 | 35            | 66.04 |
| T                                     | 24       | 29.63 | 18            | 33.96 |
| <b>Пол</b>                            |          |       |               |       |
| мъже                                  | 51       | 62.96 | 31            | 58.49 |
| жени                                  | 48       | 27.04 | 26            | 41.51 |
| <b>Рискова група</b>                  |          |       |               |       |
| SR                                    | 20       | 24.69 | 15            | 28.30 |
| HR                                    | 45       | 55.56 | 27            | 50.94 |
| VHR                                   | 16       | 19.75 | 11            | 20.76 |
| <b>Медиана на възрастта / години/</b> | 38       |       | 33            |       |
| <b>PSECOG</b>                         |          |       |               |       |
| 0,1                                   | 50       | 61.72 | 40            | 75.47 |
| 2                                     | 16       | 19.75 | 10            | 18.87 |
| 3,4                                   | 15       | 18.52 | 3             | 5.66  |
| <b>WBC</b>                            |          |       |               |       |
| WBC > 30 G/L                          | 25       | 30.86 | 16            | 30.19 |
| WBC < 30 G/L                          | 56       | 69.14 | 37            | 60.81 |
| 5 - OS                                |          | 26.90 |               | 31.90 |
| Общо                                  | 81       |       | 53            |       |

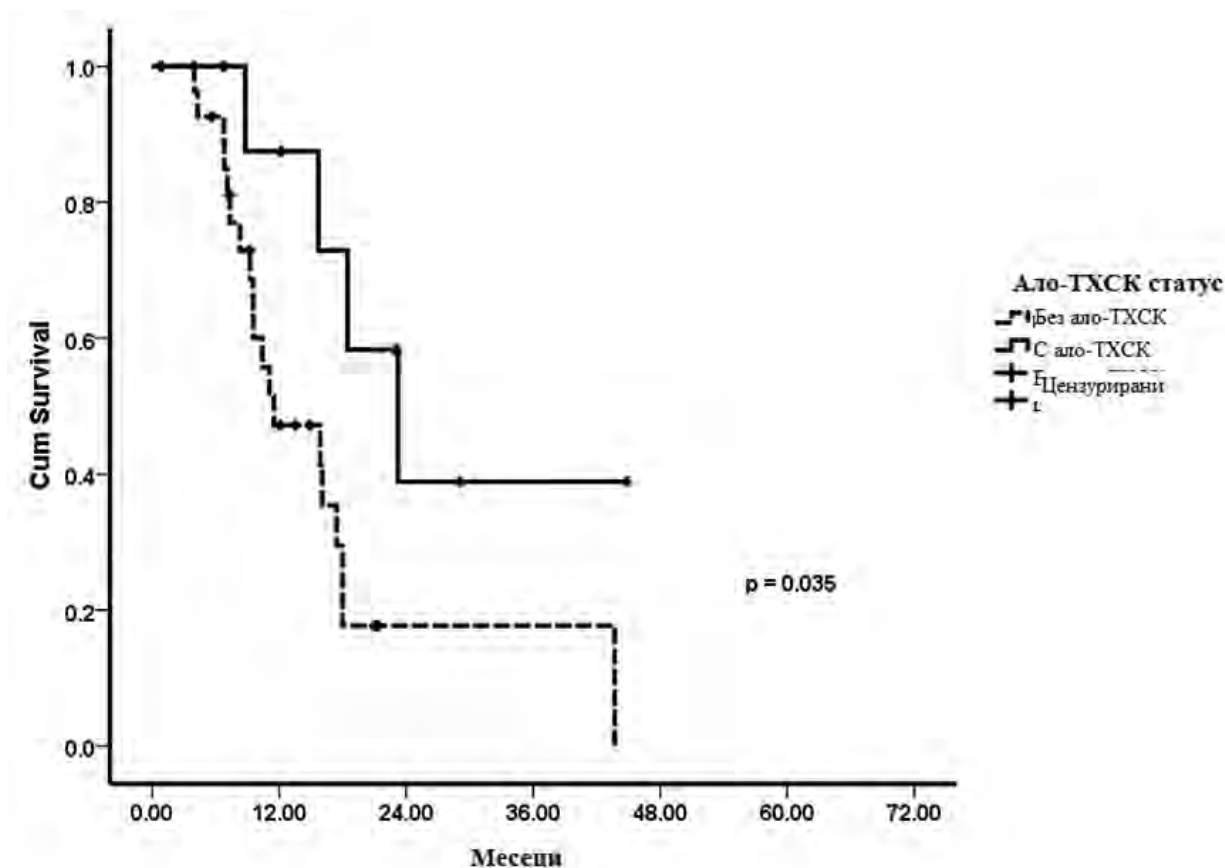
Таблица 1. Структура на популацията по изпитването



Фигура 1. Обща преживяемост според конвенционална рискова група за цялата популация (n=81)



Фигура 2. Обща преживяемост на пациентите, постигнали molCR статус



**Фигура 3. Обща преживяемост на пациенти, които не постигат molCR, според провеждането на ало-ТХСК**

## ОБСЪЖДАНЕ

Нашите резултати са съпоставими с резултатите на други групи, които демонстрират силното прогностично значение на molCR статуса върху OS<sup>8, 12,13,14</sup>. Резултатите за значението на конвенционалните рискови фактори по отношение на OS може да бъде отдадено на размера на групата на пациентите, но също така могат да бъдат отдадени на влиянието на по-агресивните схеми за лечение, повишената роля на ало-ТХСК при високо рисковите пациенти и подобрената OS за пациентите, които са позитивни за Филаделфийска хромозома верата на ТКИ. С оглед на новите подходи за лечение на първа линия, конвенционалната рискова стратификация, по отношение на SR и HR групите изглежда запазва значението си за постигането на CR, но изглежда има намаляващо влияние върху OS. В допълнение към това, резултатите от мултивариационния анализ и високия коефициент на риска за пациентите, които са позитивни за МРБ по наше мнение повдига въпроса за ново дефиниране на конвенционалните рискови групи. Постигането на molCr статус дава основания за деескалация

на рисковия статус до по-благоприятен такъв, докато невъзможността да се постигне molCR дава основания за ескалация на рисковия статус до по-неблагоприятен такъв. Когато добавим към това ефекта на постигането на molCR върху OS на пациентите в конвенционалната HR рискова група е много вероятно в близкото бъдеще да станем свидетели на нови подходи за ескалация и деескалация на терапевтичните стратегии на базата на МРБ статуса.

Прогнозата при пациентите, които не постигат molCR и не получат ало-ТХСК е неблагоприятна, като няма преживели такива пациенти на петата година в нашата група. Това поставя все още открития въпрос за оптималната терапия при пациенти, които не успяват да постигнат molCR. Нашите резултати потвърждават, че алогенната трансплантация на хематопоеични стволови клетки е реална възможност за подобряване на OS в кохортата от пациенти, които не постигат molCR статус.<sup>8</sup> Съществуват също така нови агенти при лечението на ОЛЛ при възрастни, които установяват в момента мястото си при лечението на ОЛЛ при възрастни, като биспецифичните анти-CD19 ангажиращи Т-клетките антитела, анти-CD22

антителата, конюгирани с химиотерапевтични агенти и Т-клетките с химерен антигенен рецептор (CAR T-cells), които могат да бъдат подходящи възможности за ескалиране на лечението при пациенти, които не постигат МРБ негативен статус, приложени както като самостоятелна терапия така и преди ало-ТХСК.<sup>15,16,17</sup> Като самостоятелно приложение тези стратегии могат да бъдат от особена полза за центрове, които не могат да увеличат допълнително нивата на осъществяване на ало-ТХСК поради логистични причини. Когато се използват в ало-ТХСК среда тези агенти могат да се използват, за да се конвертира МРБ положителния статус в МРБ негативен преди или след трансплантация. Известни са данни, които предполагат, че ало-ТХСК при пациенти в molCR осигуряват по-добри резултати по отношение на OS, спрямо МРБ позитивните пациенти, така че новите агенти могат да бъдат използвани като предтрансплантационна терапия, за да се подобрят посттрансплантационните резултати.<sup>18,19</sup>

Въпросът за оптимален момент за оценка на статуса на МРБ остава открит. Има данни, които предполагат, че по-ранното постигане на molCR носи по-добра прогноза в сравнение с по-късното постигане на МРБ негативност.<sup>20</sup> До колкото ни е известно няма големи изпитвания, които да сравняват ефекта от постигането на molCR в различни времеви точки от лечението върху OS. Необходими са допълнителни по-големи изпитвания, за да се отговори на въпроса дали съществува специфичен момент за постигане на molCR с достатъчно влияние върху OS, за да обоснове решения за терапията. По наше мнение оценката на постигането на molCR преди ден 71 от лечението изглежда разумно поне в логистичния контекст на модулиране на терапевтичните решения, и въпреки това резултатите ни демонстрират, че голям дял от пациентите, постигат molCR, по-късно в хода на терапията (46,66% от постигналите molCR). Тази група все още изглежда, че имат по-добра прогноза по отношение на OS, от колкото МРБ позитивната група пациенти. По отношение на изследователската работа, стандартизацията на времеви точки за базираните на оценката на МРБ терапевтични решения е точно толкова важна, колкото е важна и стандартизацията на техниките за оценка на МРБ, за получаването на последователни, възпроизводими резултати между отделните колективи и изпитвания.

## БИБЛИОГРАФИЯ:

1. Fielding AK, Richards SM, Chopra R, et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood*. 2007;109(3):944-950.
2. Kantarjian H, Thomas D, O'Brien S, et al. Longterm follow-up results of

- hyperfractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone (Hyper-CVAD), a dose-intensive regimen, in adult acute lymphocytic leukemia. *Cancer*. 2004;101:2788-2801.
3. Gökbuget N, Hoelzer D. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol*. 2009;46(1):64-75.
4. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2011;29(5): 532-543.
5. de Bont JM, Holt BV, Dekker AW. Significant difference in outcome for adolescents with acute lymphoblastic leukemia treated on pediatric vs adult protocols in the Netherlands. *Leukemia*. 2004 Dec;18(12):2032-5.
6. Takeuchi J, Kyo T, Naito K, et al. Induction therapy by frequent administration of doxorubicin with four other drugs, followed by intensive consolidation and maintenance therapy for adult acute lymphoblastic leukemia: the JALSG-ALL93 study. *Leukemia*. 2002;16:1259-1266.
7. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*. 2010 Apr 22;115(16):3206-14
8. Gökbuget N, Kneba M, Raff T, Trautmann H, et al. Adult patients with acute lymphoblastic leukemia and molecular failure display a poor prognosis and are candidates for stem cell transplantation and targeted therapies. *Blood*. 2012;120(9):1868-76.
9. Campana D. Role of minimal residual disease monitoring in adult and pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2009;23(5):1083-1098.
10. Brüggemann M, Schrauder A, Raff T, et al. Standardized MRD quantification in European ALL trials: proceedings of the Second International Symposium on MRD assessment in Kiel, Germany, 18-20 September 2008. *Leukemia*. 2010; 24(3):521-535
11. JJM van Dongen, EA Macintyre, JA Gabert et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. *Leukemia*. 1999 Dec;13(12):1901-28.
12. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. *Blood*. 2010; 115(16):3206-14.
13. Ravandi F, Jorgensen JL, O'Brien SM, Kantarjian HM, et al. Minimal residual disease assessed by multi-parameter flow cytometry is highly prognostic in adult patients with acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. ;172(3):392-400.
14. Spinelli O, Tosi M., Peruta B. et al. Prognostic significance and treatment implications of minimal residual disease studies in Philadelphia-negative adult acute lymphoblastic leukaemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2014;6(1):e2014062
15. Topp M, Kufer P, Gökbuget N, et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol*. 2011;29(18):2493-2498.
16. Jabbour E, O'Brien S, Huang X, Kantarjian H. et al. Prognostic factors for outcome in patients with refractory and relapsed acute lymphocytic leukemia treated with inotuzumab ozogamicin, a CD22 monoclonal antibody. *Am J Hematol*. 2015; 90(3):193-6.
17. Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2015;125(26):4017-23.
18. Bassan R, Spinelli O, Oldani E, et al. Different molecular levels of post-induction minimal residual disease may predict hematopoietic stem cell transplantation outcome in adult Philadelphia-negative acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer J*. 2014; 4:e225.
19. Chamseddine AN, Willekens C, De Botton S, Bourhis JH. Retrospective Study of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Philadelphia Chromosome-Positive Leukemia: 25 Years' Experi-

ence at Gustave Roussy Cancer Campus. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2015;15 Suppl:S129-40.

20. Šálek C, Folber F, Froňková E et al. Early MRD response as a prognostic factor in adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *Eur J Haematol.* 2016;96(3):276-84.

**Адрес за кореспонденция:**

Стефан Стефанов Лозенов

Адрес: Бул. "Г. М. Скобелев" № 41,

София, България, ПК 1606

E-mail: dr\_lozenov@abv.bg

Gsm: +359879977735

# МАНТЕЛНОКЛЕТЪЧЕН ЛИМФОМ – АНАЛИЗ НА РЕЗУЛТАТИТЕ НА ПРОСЛЕДЯВАНИТЕ И ЛЕКУВАНИ В НСБАЛХЗ ПАЦИЕНТИ/ MANTELCELL

**В. Стоева, М. Дончев, П. Ганева, Бр. Спасов, Т. Янкова, Я. Петров, Ст. Лозенов, К. Игнатова, М. Генова, Т. Диков, Г. Арnaudов, Г. Михайлов.**

НСБАЛХЗ

## LYMPHOMA - ANALYSIS OF RESULTS OF PATIENTS DIAGNOSED AND TREATED IN NSHATHD

**V. Stoeva, M. Donchev, P. Ganeva, Br. Spasov, T. Yankova, Y. Petrov, St. Lozenov, K. Ignatova, M. Genova, T. Dikov, G. Arnaudov, G. Mihaylov.**

NSHATHD

---

### Резюме

Целта на настоящия анализ е да се представят резултати от проследяването и лечението на болните с Мантелноклетъчен лимфом в НСБАЛХЗ за 5 години. Използвайки данните от натрупания клиничен опит е направен анализ на демографската структура на популацията, преживяемостта им според възрастта, MIPI score, левкемизация при диагностициране, използвания терапевтичен режим. Оценена е три годишната преживяемост и общата преживяемост при тези пациенти. Оценени са резултатите от проследяването и лечението в НСБАЛХЗ на 56 пациента за периода 01.2010г. до 12.2014г.

### Summary

The purpose of this analysis is to present the results of the monitoring and treatment of patients with mantle cell lymphoma in NSHATHD for five years. Using data from past clinical experience provides an analysis of the demographic structure of the population, their survival according to age, MIPI score, leukemisation in diagnosis, treatment regimen used. Estimated three year survival and overall survival in these patients. Evaluated the results of follow-up and treatment of 56 patients of NSHATHD for the period 01.2010 to 12.2014.

---

### УВОД

Мантелноклетъчният лимфом (МКЛ) е зрял В-клетъчен неходжкинов лимфом (НХЛ) според класификацията на СЗО 2008. Представяват 2-10% от всички НХЛ. Средната заболеваемост е около 0.5 случая/100 000 човека годишно. Съотношението мъже:жени е 2.3-2.5:1; средната възраст при поставяне на диагнозата е около 70год. Диагнозата се базира на: 1) имунофенотипизиране: ИХХ:CD20+/CD5+/CD10-/CD23-/CyclinD1+/BCL6-/BCL2+/Ki-67; ФЦМ: CD19+/CD20+/CD5+/CD10-/FMC7+/CD23-; 2) Цитогенетика или FISH: t(11;14)(q13;q32). При поставяне на диагнозата >90% от пациентите са III-IVКС – генерализирана лимфаденомегалия, спленомегалия, костномозъчна инфилтрация, левкемизация. Лечението на МКЛ изисква индивидуален подход. Заболяването по-често има агресивен ход. Обикновено се използват СНОР-подобни режими с/без Ритуксимаб или

по-интензивна химиотерапия. При напреднал стадий на заболяването влиза в съображение и автоложна трансплантация на ХСК. Прилагането на Ритуксимаб в комбинация с вискодозови Цитозар-съдържащи режими последвани от АСКТ е най-подходящият подход при млади и показани за АСКТ пациенти с 5-годишна OS 75%.

### ЦЕЛ

Целта на проучването е да се разгледа демографската структура на пациентите с МКЛ, лекувани в НСБАЛХЗ за периода 2010-2014г; тяхното разпределение по пол и възраст; разпределението на популацията според MIPI. Да се разгледат най-често използваните терапевтични режими, както и полученият отговор. Да се оцени общата преживяемост на пациентите и връзката ѝ с възрастта, MIPI score, терапевтичен режим.

## МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

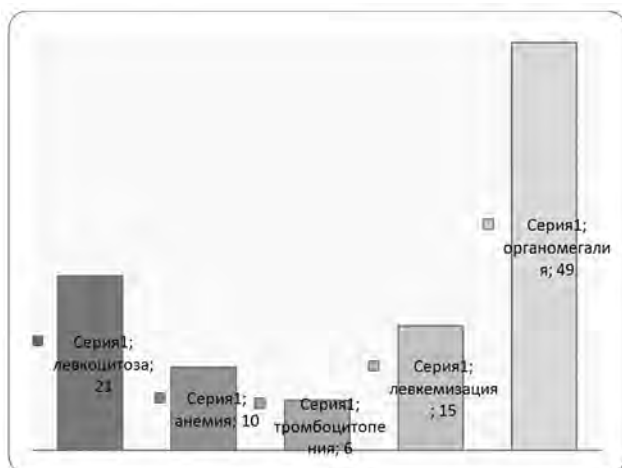
Проучени са 56 болни с МКЛ. Демографското разпределение е представено на **Таблица 1**.

|                 | Брой пациенти         | %           |
|-----------------|-----------------------|-------------|
| Мъже/жени       | 40 / 16               | 71,4 / 25,6 |
| Възраст         | 62,4 (43 / 77)<br>год |             |
| Възраст (≥65г.) | 25                    | 44,6        |
| Мъже (≥65г.)    | 18                    | 72          |
| Жени (≥65г.)    | 7                     | 28          |

В съответствие с публикуваните данни броят на мъжете преобладава над този на жените (71,4/25,6%). Средната възраст на пациентите е 62,4 год. Най-младият е на 43 години, а най-възрастният пациент е на 77 години. 44,6% от болните са на възраст ≥65год. Преобладават мъжете.

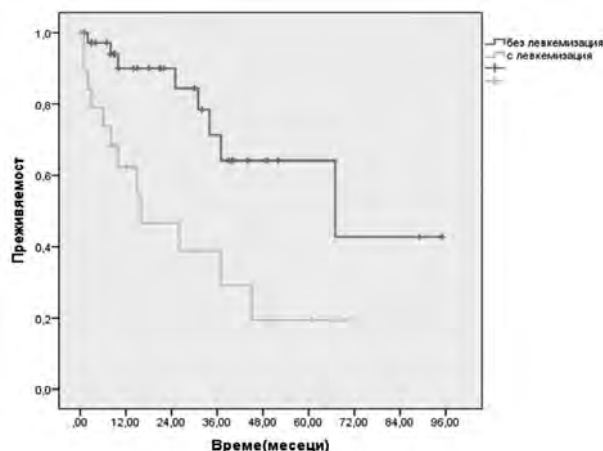
Диагнозата е поставена на базата на: биопсия, имунофенотипизация (имунохистохимия; флоуцитометрия); цитогенетика/FISH за търсене на пренареждане t(11;14)(q13;q32).

Клинично пациентите се изявяват най-често с левкоцитоза, анемия, тромбоцитопения, лимфаденомегалия/органомегалия; екстранодуларно ангажиране, левкемизация (**Фигура 1**).



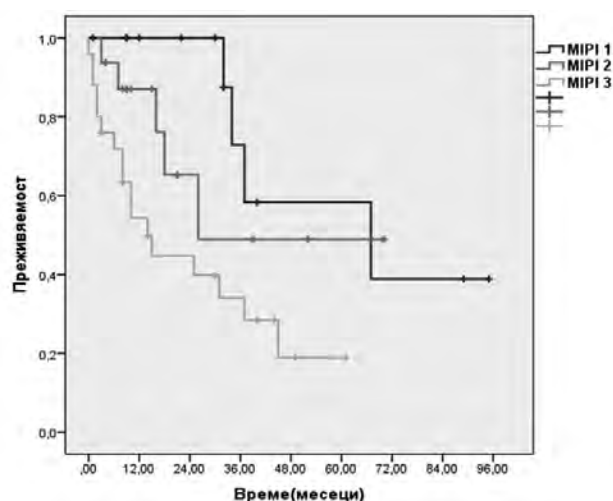
Най-честата клинична проява е лимфаденомегалия/органомегалия (49%), левкоцитоза (21%). При поставяне на диагнозата 15% от пациентите са с данни за левкемизация в периферната кръв. Левкемизацията при поставяне на диагнозата

е свързана с по-ниска обща преживяемост (ОП) (**Фигура 2**).



ОП на тези без левкемизация на 3-та година е 70%, а на тези с левкемизация е 39% (p 0.003).

Болните с МКЛ се поставят в различни рискови групи според MIPI score (The Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index). Според този международен прогностичен индекс пациентите се разделят в групи с нисък, интермедиерен и висок риск. При проучваната популация в групата с нисък риск са 27%, тези с интермедиерен риск са 28%, най-голям брой са тези с висок риск 45%. Изследвана е ОП при пациентите в наблюдаваната група според прогностичния индекс MIPI. Потвърдена е връзката между принадлежността към определена рискова група и ОП. (**Фигура 3**) ОП на групата с MIPI 1 на 3-тата година е 73%, тази на пациентите с MIPI 2 е 49%. ОП на пациентите с MIPI 3 на 3-та година е 35% (p 0.01).

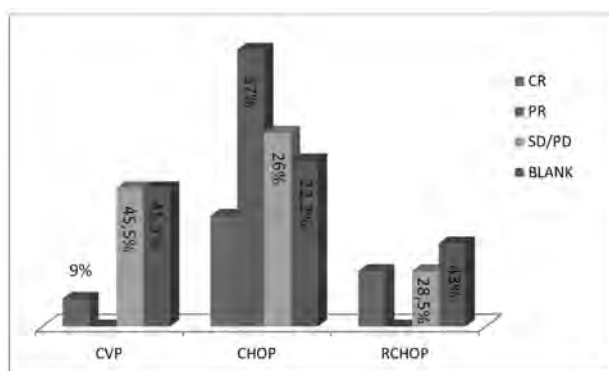


Терапевтичните режими за първа линия терапия

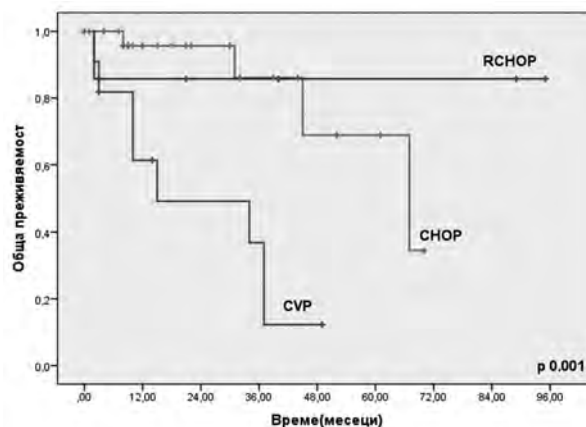
са определяни според възрастта, ECOG, левкемизация при диагнозата и др. фактори. Използваните режими като първа линия терапия са показани в **Таблица 2**.

|           | Брой<br>(56) | %    |
|-----------|--------------|------|
| CVP       | 11           | 19.6 |
| CHOP      | 27           | 48.2 |
| RCHOP     | 7            | 12.5 |
| CHOEP     | 2            | 3.6  |
| FC/FCM    | 3            | 5.4  |
| HyperCVAD | 3            | 5.4  |
| MINE      | 1            | 1.8  |
| R+B       | 2            | 3.6  |

Най-често прилагани са CVP, CHOP, RCHOP. Ритуксимаб е използван при малък брой пациенти, съобразено с нормативната уредба за приложение на Ритуксимаб в този период. Най-много пациенти са получили CR или PR в групата лекувана по схема CHOP (**Фигура 4**).



ОП при пациентите лекувани по схема CVP на 3-та година е 36%, по схема CHOP - 83%, по схема RCHOP 83%. На 5-та година ОП на пациентите лекувани по схема CHOP и RCHOP са съответно 70% и 83%. (**Фигура 5**) (p 0.001).



## ОБСЪЖДАНЕ

За 5 годишен период на проучване са разгледани 56 болни. Потвърдена е зависимостта между ОП

и MIPI score. ОП на групата с MIPI 1 на 3-тата година е 73%, тази на пациентите с MIPI 2 е 49%. ОП на пациентите с MIPI 3 на 3-та година е 35% (p

0.01). Според публикуваните данни за ОП според MIPI score : нисък риск – средна преживяемост на 5-та година 60%, среден риск - средна преживяемост 51 месеца и висок риск - средна преживяемост от 29 месеца. Най-използваните терапевтични режими са CVP, CHOP и RCHOP. С по-голяма ОП са пациентите лекувани с RCHOP и CHOP. ОП при пациентите лекувани по схема CVP на 3-та година е 36%, по схема CHOP - 83%, по схема RCHOP 83%. На 5-та година ОП на пациентите лекувани по схема CHOP и RCHOP са съответно 70% и 83%. (**Фигура 5**) (p 0.001). Обща преживяемост(ОП) на 3-та година-60%, ОП на 5-та година-40% (**Фигура 6**). Очакваната ОП е по-малка с нарастване на възрастта. В публикувани данни средната свободна от прогресия преживяемост е 20 месеца, а средната обща преживяемост е между 5 и 7 години. Левкемизацията е свързана с намалена ОП. ОП на пациентите без лекемизация на 3-та година е 70%, а на тези с левкемизация е 39%.

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. Elias Campo, Steven H. Swerdlow, Nancy L. Harris et al.
2. Epidemiology and etiology of mantle cell lymphoma and other non-Hodgkin lymphoma subtypes. Smedby KE, Hjalgrim H.
3. Report of the committee on Hodgkin's disease staging classification. Carbone P P, Kaplan H S, Musshoff K et al. Cancer Res. 31:1860-1, 1971.
4. Intensive treatment strategies may not provide superior outcomes in mantle cell lymphoma: overall survival exceeding 7 years with standard therapies. Martin P, Chadburn A, Christos P et al.
5. A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma, Eva Hoster, Martin Dreyling, Wolfram Klapper. January 15, 2008; Blood: 111

6. *Transplantation for mantle cell lymphoma: is it the right thing to do?*  
Michael E. Williams
7. *Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. M. Dreyling, C. Geisler, O. Hermin et al, on behalf of the ESMO Guidelines Working Group*
8. *Transplantation for mantle cell lymphoma: is it the right thing to do?*  
Michael E. Williams

**Адрес за кореспонденция:**

Вера Стоева

НСБАЛХЗ, София

ул. Пловдивско поле 6,

E-mail: vera.stoeva@gmail.com

# ЕФЕКТ НА СЪВРЕМЕННАТА ХЕЛАТИРАЩАТА ТЕРАПИЯ ВЪРХУ СЪРДЕЧНАТА ФУНКЦИЯ ПРИ ВЪЗРАСТНИ ПАЦИЕНТИ С ТРАНСФУЗИОННО ЗАВИСИМА В-ТАЛАСЕМИЯ

П. Георгиев, В. Горанова-Маринова, К. Сапунарова, В. Гръкланов, Д. Костова, Ст. Горанов

Клиника по клинична хематология  
Регионален център за вродени коагулопатии и хемолитични анемии  
Медицински Университет-Пловдив, УМБАЛ „Св. Георги“ - Пловдив

## EFFICACY OF MODERN CHELATION THERAPY ON CARDIAC FUNCTION IN ADULT PATIENTS WITH TRANSFUSION-DEPENDENT B – THALASSEMIA

P. Georgiev, V. Goranova-Marinova, K. Sapunarova, V. Graklanov, D. Kostova, St. Goranov

Department of Clinical Hematology, Regional Center for congenital coagulopathies and hemolytic anaemias  
Faculty of medicine, Medical University-Plovdiv and UMHAT “St. George” - Plovdiv

### Резюме

**Въведение:** Патологичната хемолiza и трансфузионни програми при пациентите с Таласемия майор (ТМ) водят до значително желязно свръхнатоварване (ЖСН). Сърдечният мускул показва най-ниска толерантност към натрупване на свободно желязо, а преминаването на критичния праг води до различни сърдечни дисфункции – доскоро основна причина за фатален изход още в 2-3 десетилетие от живота на пациентите. Съвременната хелатираща терапия е основна опция в терапевтичната стратегия при пациенти с таласемия. Освен биохимичните показатели за ЖСН и ехокардиографията (Ехо Кг), най-прецизна оценка дори на субклиничното сърдечно отлагане на желязо се получава чрез специфичен метод на софтуерна обработка на ядрено-магнитен резонанс (ЯМР T2\*).

**Цел на проучването:** Да се оцени ефекта на съвременната пероралната хелатираща терапия върху ЖСН върху сърцето при пациенти с ТМ за периода 2011-2014г.

**Пациенти и методи:** Оценени са 46 (23 М и 23 Ж) пациента на средна възраст  $33,2 \pm 10,9$ г. с доказана ТМ в хипертрансфузионен режим от ранно детство. През анализирания период от 4 г (2011 – 2014г) при тях са прилагани следните хелатори: Deferasirox (DFX) – 21 пациента, Deferiprone (DFP) – 17 пациента, Deferiprone + Deferoxamine (DFP+DFA) – 8 пациента. При всички освен рутинния биохимичен панел са изследвани едновременно серумнен феритин, ЕКГ, ЕхоКг и ЖСН на сърдечния мускул чрез ЯМР T2\*. Статистическият анализ е извършен чрез SPSS 19.0.

**Резултати:** За наблюдавания период и в трите стратифицирани според изходните стойности на феритина групи се получи понижение на феритина, както като брой пациенти, така и в неговите абсолютни стойности: през 2011 изходните стойности на феритина при лечение с DFX са  $1601 \mu\text{mol/l}$  (SD 1717; Cof. Int 95% 854-2388) срещу  $1284 \mu\text{mol/l}$  (SD 1284; Cof. Int 95% 606-1962) през 2014 ( $p < 0,33$ ), с DFP съответно  $1374.90 \mu\text{mol/l}$  (SD 1717; Cof. Int 95% 274.6-2475.2) vs  $744.64 \mu\text{mol/l}$  (SD 1489; Cof. Int 95% 396.0-1093.1,  $p = 0.019$ ), а при комбинираната терапия DFA+DFP -  $1986 \mu\text{mol/l}$  (SD 1506; Cof. Int 95% 406-3566) vs  $1642 \mu\text{mol/l}$  (SD 1399; Cof. Int 95% 173-3110,  $p = 0.035$ ). Данните от ЯМР T2\* доказаха достоверен спад на тежкостепенната миокардна сидероза – липсват през 2014г. срещу 5 пациенти за 2011г. В 80% от болните на перорална хелатираща терапия се регистрира понижение на ЖСН на миокарда с нарастване на T2\* с над 10 ms. Средните стойности на левокамерната фракция на изтласкване не показват сигнификантна динамика 2011: 2012: 2013: 2014 = 64.23: 63.54: 62.69: 64.06 % ( $p > 0.05$ ).

**Заключение:** През последните години се постигнаха окуражаващи резултати от пероралната хелатираща терапия и адекватните възможности за оценка на ЖСН при пациенти с  $\beta$ -ТМ. Методът ЯМР T2\* е „златен стандарт“ и възпроизводим значим прогностичен фактор за развитието на сърдечни дисфункции при ЖСН. Новата терапевтична опция в областта на хелатирането е гаранция за повишаване качеството и продължителността на живота на пациентите с  $\beta$ -ТМ.

**Ключови думи:**  $\beta$ -таласемия, желязно свърхнатоварване, сърце, ЯМР T2\*, феритин.

## Summary.

**Introduction:** Pathological hemolysis and transfusion programs for patients with Talasemiya Major (TM) lead to a significant iron overload (IO). Heart muscle shows the lowest tolerance to accumulation of free iron, and the passage of the threshold capacity leads to various heart dysfunctions- until recently the major cause of death even in the 2<sup>nd</sup>-3<sup>rd</sup> decade of life.

Modern chelation therapy is the main option in the therapeutic strategy for patients with thalassemia. Besides biochemical indicators for IO and echocardiography (ECHO), the most precise assessment of subclinical cardiac iron deposition can be obtained by a specific software for magnetic resonance imaging (MRI T2 \*).

**Objective:** To evaluate the efficacy of modern oral iron chelation therapy on cardiac iron overload in patients with thalassemia major for the period 2011-2014y.

**Patients and methods:** The study included 46 patients with proven severe transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia, 23 men and 23 women, mean age  $33.2 \pm 10.9$  that were on regular blood transfusions from early childhood. The distribution according to the chelating agent during the analyzed period of 4 years (2011 - 2014) was: Deferasirox - 21 patients, Deferiprone - 17 patients and the combination Deferiprone + Deferoxamine - 8 patients. The main assessments were: serum ferritin, MRI T2 \* of heart, 12 lead ECG and echocardiography. Statistical analysis was performed using SPSS 19.0.

**Results:** For the observation period in all three groups stratified according to baseline ferritin there is a decrease in ferritin, both in the number of patients, and its absolute value: in 2011 baseline ferritin in the DFX group is  $1601 \mu\text{mol/l}$  (SD 1717; Cof. Int 95% 854-2388) vs  $1284 \mu\text{mol/l}$  (SD 1284; Cof. Int 95% 606-1962) in 2014 ( $p < 0.33$ ), in the DFP group -  $1374.90 \mu\text{mol/l}$  (SD 1717; Cof. Int 95% 274.6-2475.2) vs  $744.64 \mu\text{mol/l}$  (SD 1489; Cof. Int 396.0-1093.1 95%) ( $p = 0.019$ ) and in combination therapy DFA + DFP -  $1986 \mu\text{mol/l}$  (SD 1506; Cof. Int 95 % 406-3566) vs  $1642 \mu\text{mol/l}$  (SD 1399; Cof. Int 173-3110 95%) ( $p = 0.035$ );

Data from MRI T2 \* proved reliable drop of severe myocardial siderosis - 5 patients for 2011 vs 0 in 2014. In 80% of patients on oral chelation there is a significant decrease in myocardial iron overload with increase in T2 \* of more than 10 ms. Mean left ventricular ejection fraction showed no significant dynamics 2011: 2012: 2013: 2014 = 64.23: 63.54: 62.69: 64.06% ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** In recent years encouraging results of oral chelation therapy were reached and adequate opportunity emerged to assess the IO in patients with  $\beta$ -TM. The method MRI T2 \* is the "gold standard" and a reproducible significant prognostic factor for heart dysfunction in IO. The new therapeutic option in the field of chelation is a guarantee for improving the quality and length of life of patients with  $\beta$ -TM.

## ВЪВЕДЕНИЕ

Нарушеният синтез на  $\beta$ -глобулинови вериги е патогенетичният механизъм за патологичната хемолiza при пациентите с  $\beta$ -thalassemia. Хемолитичният процес обуславя широк спектър от анемични синдроми, вариращи от клинично лекостепенно или безсимптомно протичане при  $\beta$ -thalassemia minor, до тежка хемолитична анемия при  $\beta$ -thalassemia major или Cooley's anemia (1). За да се осигури нормално физическо развитие и по-добро качество на живот при пациентите с таласемия майор (ТМ) се прилагат трансфузионни програми, чиято цел е поддържане на хемоглобиновото ниво над 90-105 g/l преди следващата трансфузия (2). Патологичната хемолiza и честите трансфузии са сред основните механизми на желязното свърхнатоварване (ЖСН) в организма. Известно е, че разнообразните тъкани имат различна чувствителност и приспособимост към ЖСН. Най-податливи на отлагане на желязо са черния дроб, миокарда и ендокринната система

(3). По различни причини сърдечният мускул показва най-ниска степен на толерантност към натрупване на свободно желязо. Преминаването на критичния праг води до различни ритъмни/проводни нарушения, систолна или диастолна дисфункция. Прогресиращо във времето се развива разностепенна, най-често дилатативна/рестриктивна сърдечна недостатъчност. Последната е трудно терапевтично коригируема и в 75% от болните е causa mortis още през 2-3 десетилетие от живота им при конвенционалното лечение с Deferoxamin (Desferal). (4)

Откритата през 70-те години на XX век хелатираща терапия е неотменима част от цялостната лечебна тактика при пациентите с ТМ. През последното десетилетие терапевтичните възможности се обогатиха с нови мощни перорални хелатиращи лекарствени продукти. Чрез тях се редуцираха органните дисфункции, а качеството на живот на пациентите се промени изцяло. Въпреки това, вторичната сърдечна сидероза остава сред основните причини за болестност и смъртност при

$\beta$ -thalassemia major (5). Доскоро основните методи за контрол на сърдечното ЖСН бяха нивото на феритина успоредно с ехокардиографска оценка. В последните години ефикасна алтернатива за прецизно мониториране на терапията и сърдечното ЖСН е т. нар. ЯМР T2\* методика.

### ЦЕЛ НА ПРОУЧВАНЕТО

Настоящата работа има за цел да оцени ефекта на съвременната перорална хелатираща терапия върху желязното свърхнатоварване върху сърцето при пациенти с  $\beta$ -thalassemia major за периода 2011-2014г.

### ПАЦИЕНТИ И МЕТОДИ

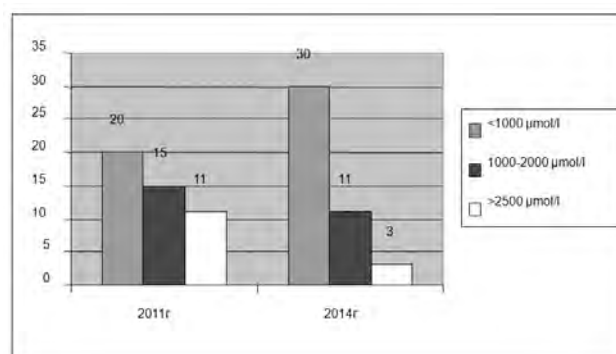
Анализирани са 46 болни с  $\beta$ -thalassemia major, диагностицирани по общоприети критерии от детска възраст, лекувани и наблюдавани в университетска клиника. Всичките пациенти са били на редовна хипертрансфузионна терапия от детството си. Като хелатор е използван Desferal в стандартна дозировка и начин на приложение. След 18г. възраст пациентите преминават на диспансерен контрол в Регионалния център за вродени коагулопатии и хемолитични анемии към клиниката по Хематология на УМБАЛ „Св. Георги“ Пловдив. През анализирания период от 2011 до 2014г групата е представена от 23 мъже и 23 жени на средна възраст  $33.2 \pm 10.9$  год. За 4 годишния интервал на лечение с Deferasirox (DFX) са били 21 пациенти, с Deferiprone (DFP) – 17 и с комбинацията Deferiprone+Deferoxamin (DFP+DFA) – 8 в стандартна дозировка. При всички пациенти освен рутинен биохимичен панел са изследвани едновременно серумния феритин, 12-канална ЕКГ, ЕхоКг с динамична оценка на фракцията на изтласкване (EF), левокамерна помпена и съкратителна функция, систолно и/или диастолно обременяване на двете камери, кинетика на левокамерната стена, а така също и желязното натоварване на сърдечния мускул чрез специален софтуер за ЯМР T2\*. Според стойностите на феритина пациентите са разпределени в следните групи: феритин < 1000  $\mu\text{mol/l}$ ; феритин м/у 1000 – 2500  $\mu\text{mol/l}$ ; феритин > 2500  $\mu\text{mol/l}$ ; Сърдечното ЖСН, определено чрез

ЯМР T2\* бе класифицирано спрямо общоприетата скала: норма >20 ms; леко обременяване 10-20 ms; средно по степен обременяване 6-10 ms; тежко обременяване < 6 ms. Статистическият анализ на резултатите е извършен чрез SPSS19.0.

### РЕЗУЛТАТИ

Разпределението на пациентите по групи според средните стойности на феритина през 2011 и 2014 е представена на фиг. 1. Видно е, че положителната динамика на феритиновото ниво е налице и в трите сравняеми групи. Най-изразено подобрение е регистрирано при пациентите с тежкостепенно феритиново натоварване, където броят им е намалял значимо с 72,7%, а групата с феритин под 1000  $\mu\text{mol/l}$  се е увеличила с 21,7%. Като цяло тенденцията за подобрение на феритиновото ниво след съвременното перорално хелаторно лечение е статистическа достоверна -  $p < 0,03$ .

**Фиг.1 Динамика в разпределението на пациенти с  $\beta$ -thalassemia major в зависимост от нивото на феритина след перорално хелаторно лечение**



Промяна във феритиновото ниво е регистрирана във всички групи, стратифицирани в зависимост от използвания лекарствен хелатиращ продукт (табл. 1):

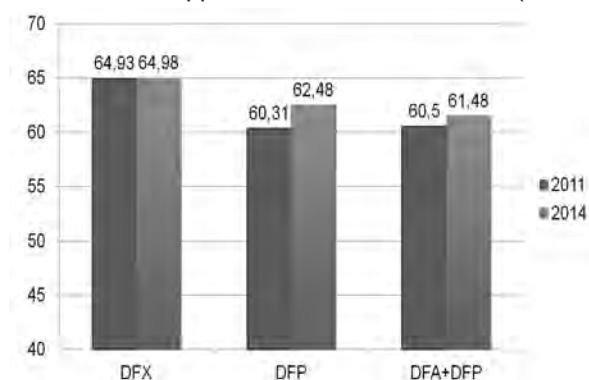
**Табл.1** Динамика в нивото на феритина в зависимост от използвания хелатиращ лекарствен продукт

| Хелатор | 2011г -начало на анализирания период |      |              | 2014 г -край на анализирания период |      |              |
|---------|--------------------------------------|------|--------------|-------------------------------------|------|--------------|
|         | феритин<br>–<br>X $\mu\text{mol/l}$  | SD   | Conf.Int 95% | феритин<br>–<br>X $\mu\text{mol/l}$ | SD   | Conf.Int 95% |
| DFX*    | 1601,33                              | 717  | 854 - 2388   | 1284,51                             | 789  | 606 - 1962   |
| DFP **  | 1374,90                              | 971  | 274 - 2475   | 744,64                              | 884  | 396 - 1093   |
|         | 1986,11                              | 1506 | 406 - 3566   | 1642,55                             | 1399 | 173 - 3110   |

\*  $p < 0,033$  \*\*  $p < 0,019$  \*\*\*  $p < 0,035$

Получените резултати доказват с висока статистическа значимост понижението на феритина и след двата хелаторни медикамента, което показва сравнимата им ефикасност и ефективност. Видно е също така, че при пациентите с най-високо феритиново ниво е приложена, съгласно консенсусно приетите guidelines, комбинацията DFP+DFA, която по литературни данни има най-мощна хелаторна активност (табл.1). В тази група има пациенти, както без ефект от монотерапия с единия от двата перорални хелатори, така и с изразено ЖСН и органни дисфункции. Понижението на феритина след приложение на комбинацията е с повече от 30% от изходното ниво.

Като първа стъпка бе оценено индиректно влиянието на ЖСН върху сърдечния мускул чрез конвенционална ЕхоКг. На фиг. 2 са представени данните от сравнителния анализ на средните стойности на фракцията на изтласкване (LVEF%):

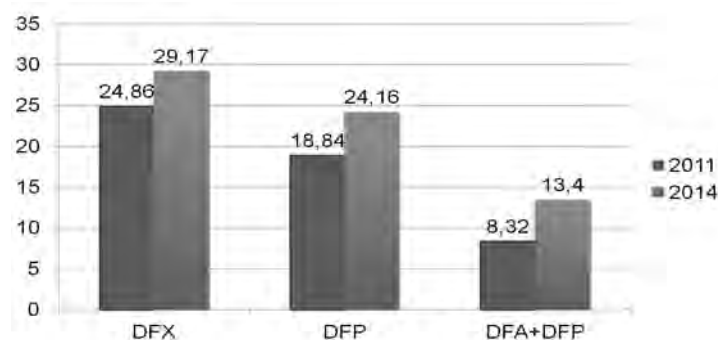


**Фиг. 2** Динамика на левокамерната фракция на изтласкване (LVEF%) в зависимост от хелатиращия продукт в %.

Получените резултати показват отсъствието на промяна в LVEF. За 4-те години на проследяване стойностите и в трите сравняеми групи са подобни ( $p > 0.05$ ).

Оценка на сърдечното ЖСН бе извършена и чрез методиката ЯМР T2\* в същите сравняеми групи. Получените резултати показват спад на тежкостепенната миокардна сидероза: от 5 пациента през 2011 год. до липса на подобна степен през 2014. В групата със средностепенна миокардна сидероза динамиката е също позитивна – от 3 през 2011г на 2 през 2014г. Общо за цялата група в рамките на 4 годишния период на проследяване при 80 % от пациентите с тежък и среднотежък свръхтовар се отчита нарастване на T2\* с над 10 ms (фиг. 3):

**Фиг. 3** Стойности на ЯМР T2\* в ms след лечение с перорални хелатори



Бе потърсена корелационна зависимост между понижението на феритина и нарастването на T2\*. Изчисленият тест на Pearson  $\chi^2$  показва гранична достоверност ( $p = 0.055$ ), т.е. липсата на строго линейна зависимост между показателите.

## ОБСЪЖДАНЕ

Желязното свръхнатрупване при пациентите с трансфузионно зависима  $\beta$ -thalassemia major е причината за различни органни дисфункции. Практически няма орган или система, при която в еволюцията на заболяването, респективно патологичната хемолиза и хипертрансфузионния режим, да не се регистрират от безсимптомно протичащи до непосредствена причина за летален изход функционални отклонения. Единствено изключение прави ЦНС, където подобни феномени са само казуистична възможност. Както вече бе отбелязано, доскоро в 75% от болните преждевременна *causa mortis* са сърдечните нарушения. Куриозното в случая е фактът, че конвенционалното лечение с Deferoxamin (Desferal) притежава все още ненадмината хелаторна способност, дори на фона на съвременните перорални лекарствени продукти. Причината е неудобството от инфузионните помпи, изискващи 24-часов режим на приложение. За-ради нарушеното качество на живот, постепенно пациентите се отказват от подобна медикация, разреждат употребата и преминават на субоптимална дозировка на медикамента с предсказуеми последици.

В настоящето проучване бе анализиран терапевтичният отговор към съвременните лекарствени хелатори: Deferasirox, Deferiprone и комбинацията на последния с Deferoxamin. Успоредно бе направена оценка на ЖСН, измерено индиректно със серумния феритин, рутинните ехокардиографски показатели и чрез най-съвременния метод за мониториране – ЯМР T2\*. Получените резултати показват 3 основни момента: 1) Достоверно значима ефикасност на новите пероралните форми по отношение на феритина, независимо от хелатора; 2) Значимо подобрение на стойностите на T2 в 80% от болните и намаление броя пациенти с тежкостепенно ЖСН в сърцето; 3) Липса на строга корелационна зависимост между феритиновото ниво, данните от ЯМР T2\* и EhoKг. Подобни резултати са отбелязани и от други автори. За тяхната правилна интерпретация е необходим преглед върху основните моменти от патофизиологията на сърдечната функция при хиперсидероза.

При анемични състояния организмът реагира с три компенсаторни механизма (Aessopos A Farmakis 2004). Доставка на кислород до тъканите е резултат от сърдечната функция, нивото на хемоглобин и хемоглобиновата сатурация (обикновено 95%, без значение от анемията). Въпреки ниския хемоглобин при ТМ се осъществява относително нормална доставка на кислород в сърдечния мускул/тъканите, което е резултат от повишаването на сърдечния индекс (сърдечната функция към телесната повърхност). Тази компенсаторна реакция се осъществява не чрез повишение на сърдечната честота, а чрез

увеличение на ударния обем. „Нормалното“ сърце при ТМ изпомпва по-големи количества кръв (preload) при по-ниско периферно съдово съпротивление (afterload) в сравнение с функцията при здрави (4). Това обуславя развитието на високодебитна сърдечна дисфункция, която се предотвратява чрез плановите хемотрансфузии.

Натрупването на желязо в миокарда се осъществява преди всичко от несвързаното с трансферин желязо (non-transferin bound iron, NTBI). Нивото на NTBI и продължителността на експозицията към него са двата основни фактора, определящи ЖСН. След навлизането в миоцита NTBI се свързва с феритина, който ограничава редуциращия потенциал на желязните йони. В рамките на часове комплексите на феритина с желязото се появяват като вътреклетъчни сидерозоми, които се съхраняват продължително време. След преминаване на капацитета на буферните системи нивата на свободното желязо се повишават в клетката. Чрез реакцията на Haber-Weiss желязото катализира продукцията на свободни радикали, което предизвиква оксидативни увреди на всички мембрани в клетката, вкл. и на сидерозомите, които освобождават допълнително свободно желязо. Митохондриите и системите за окислително фосфорилиране също се засягат. Хроничната липса на адекватна енергийна продукция в клетката причинява дилатативна кардиомиопатия и е механизмът, отговорен за асимптоматичните нарушения, наблюдавани при ранна желязна кардиомиопатия.

По отношение на ядрено-магнитната теория свободните желязни йони имат слаб ефект върху ЯМР T2 и T2\* във физиологични концентрации. Свързани в комплекс с феритина желязните йони, обаче причиняват манифестна нехомогенност в магнитното поле, водещи до значими промени в сигналите T2 и T2\*. Клъстерите от желязо-феритинови молекули в сидерозомите предизвикват до 6 пъти по-силни промени в T2 и T2\* в сравнение със същите количества свободни желязни йони (8). Следователно ЯМР отчита преди всичко дългосрочните и трайно свързани желязни натрупвания и значително по-малко функционалното желязо.

В анализираната от нас група първоначалните данни от ЯМР T2\* са използвани не само като показател за ЖСН в сърцето, но преди всичко като основа за избор на правилната терапевтична стратегия и честота на контролните изследвания. Въпреки разнообразните патогенетични фактори за ЖСН в организма при ТМ, понастоящем изборът на хелатора е в зависимост от стойностите на ЯМР T2\* на миокарда и черния дроб. В съгласие с литературните данни за известна разлика в хелатиращата мощ и според националните методични указания изборът приложен от нас е бил следния: при пациенти със стойности на ЯМР

T2\* > 20 ms хелатирането е осъществявано чрез DFX, при стойности м/у 10 и 20 ms – чрез DFP, а при стойности около и под 10 ms е прилагана "salvage" комбинацията от DFP и DFA. От 2011г методът се използва рутинно и в България. Стойностите му имат и прогностично значение: сърдечно T2\* по-ниско от 20 ms говори за ЖСТ, а под 10 ms корелира със значим риск за сърдечна дисфункция (8, 9).

След получаване на изходните стойности на ЯМР T2\*, контролните изследвания са били планирани също според приетите консенсуси (11): при стойности T2\*>20 ms - на всеки 2 години, при T2\* 10-20 ms – ежегодно, при T2\*< 10 ms - през 6 месеца, а при T2\*< 10 ms и/или клинични данни за сърдечно увреждане - на 3 месеца. Макар да липсва пълно единомислие по отношение на периода за оценка чрез ЯМР T2\* в литературата са застъпени същите подходи (7). ЯМР T2\* е настоящия „златен стандарт“ за ЖСН при ТМ, като международно възпроизводим и значим прогностичен фактор за развитието на сърдечно заболяване и други дисфункции на таргетните органи и системи. (12). Точността на техниката е валидирана и чрез post mortem измервания на желязното натрупване в сърдечна мускулатура (13).

В хода на диспансерния контрол в Регионалния център установихме и известна нехомогенност в изследванията, с които обясняваме високите стойности на стандартното отклонение на феритина (SD). С голяма вероятност това се дължи на т.нар. „замъгляващи“ фактори, произтичащи от влияние на хелатирането върху ЖСН в черния дроб, панкреаса, ендокринума и не на последно място от липсата на комплайнс от страна на отделни пациенти включени в проучването (11).

Анализът на хелаторния ефект върху сърдечната сидероза обхваща и рутинните ехокардографски показатели, изследвани в динамика. Представяме данните от LVEF, където не отчитаме сигнификантна промяна на стойностите в рамките на обхванатия период. Същата тенденция се потвърждава и от студии на други автори (14,15). Това може да се обясни с посочените по-горе особености на сърдечната патофизиология при заболяването: при пациентите с ТМ вследствие на анемичния синдром компенсаторно се увеличават минутният обем на сърцето и сърдечният индекс (16). Тази хипердинамична циркулация, която се наблюдава и при хемоглобинозите, според Westwood MA, Shah F и Anderson LJ обуславя относително „повишените“ стойности на LVEF при ТМ (17). Въпреки това ЕхоКГ остава най-лесния метод за оценка на левокамерната функция при ТМ (18).

Поглеждайки към цялостната картина на ефекта от хелатиране върху миокарда в кохортата за 4

годишния период на проследяване при 80% от пациентите с тежка и средно тежка миокардна сидероза се отчита нарастване на ЯМР T2\* над 10ms, което ще се асоциира с нисък риск от появата на аритмии и развитието на сърдечна недостатъчност. Подобни данни се съобщават и от Pennell за 3 годишен период на проследяване (19). Наблюдаваните задоволителни промени в показателите на ЖСН и напредъка в хелатирането дават основание да се мисли, че в бъдеще наред с подобряването качеството и продължителността на живот на пациентите с ТМ би се наблюдавало изместване на причините за смъртност. Така например, в проучването си Modell B изтъква като водещи причини за смъртност при пациенти с ТМ инфекциите и усложненията на хепатит С вирусната трансмисивна инфекция в сравнение с данни от 1970–2003г, където в над 70% от случаите подобна причина са били усложненията от ЖСН, преди всичко върху сърцето (20). В коментираната от нас пациентска група единственият екзитус за 4-годишния период е също вследствие на сепсис. Все пак, за по-прецизни изводи биха били необходими по-продължителни наблюдения и върху по-голям контингент болни.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Правилното менажиране на еволюцията на  $\beta$ -thalassemia major и нейните усложнения е единствената възможност на пациентите за удължена преживяемост с оптимално качеството на живот. За годините на своето структуриране и откриване Регионалния център за вродени коагулопатии и хемолитични анемии към клиниката по хематология показва, че най-подходящия подход за терапевтичното манипулиране на пациентите с ТМ е чрез активно съкоординирано участие на интердисциплинарен екип от медицински специалисти: хематолози, трансфузионни хематолози, кардиолози, ендокринолози, гастроентеролози. За постигането на тази цел през последните години съществено значение имат и редица здравно-организационни фактори: наличието на мощна перорална и комбинирана хелатираща терапия, възможности за съвременна и високоинформативна оценка на желязната свръхтовар в таргетните органи чрез ЯМР T2\*, разработката на консенсусни приети методични указания за диагностициране, лечение и проследяване на пациенти с трансфузионно зависима  $\beta$ -thalassemia major. Тези комплексни възможности са в състояние да елиминират отчайващите за терапевтично повлияване сърдечни дисфункции и рестриктивната недостатъчност като доскорошна първопричина за преждевременен фатален изход.

## БИБЛИОГРАФИЯ:

1. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2010 May 21;5:11. doi: 10.1186/1750-1172-5-11
2. Cappellini MD, Cohen A, Eleftheriou A, et al. Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia. 2nd Revised edition Nicosia (CY): Thalassaemia International Federation; 2008.
3. Porter JB, Witte T, Cappellini MD, et al. New insights into transfusion-related iron toxicity Implications for the oncologist. *Crit Rev Oncol/Hematol* (2016) 1934-1936
4. Wood JC, Enriquez C, Ghugre N et al. Physiology and pathophysiology of iron cardiomyopathy in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1054:386-95
5. Borgna-Pignatti C1, Rugolotto S, De Stefano et al. P Survival and complications in patients with thalassemia major treated with transfusion and deferoxamine. *Haematologica* 2004 Oct;89(10):1187-93
6. Leonardi B, Margossian R, Colan SD et al. Relationship of magnetic resonance imaging estimation of myocardial iron to left ventricular systolic and diastolic function in thalassemia. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2008 Sep;1(5):572-8.
7. Piga A, Longo F, Musallam KM et al. Assessment and management of iron overload in  $\beta$ -thalassaemia major patients during the 21st century: a real-life experience from the Italian WEBTHAL project. *Br J Haematol*. 2013 Jun;161(6):872-83
8. Wood JC, Tyszkaj JM, Ghugre N, et al. Myocardial iron loading in transfusion-dependent thalassaemia and sickle-cell disease. *Blood* 2004; 103; 1934-1936
9. Димитрова К. Стоянова Д. Желязохелатираща терапия при пациенти с бета-таласемия майор. МД, септември 2009, бр. 6
10. Калева В. Методични указания за диагностициране, лечение и проследяване на пациенти със заболявания на кръвта и кръвоотворните органи. Версия 2, май 2011 Българско научно дружество по клинична и трансфузионна хематология.
11. Wood JC Cardiac iron across different transfusion-dependent diseases *Blood Rev*. 2008 Dec; 22(Suppl 2): S14-S21
12. Anderson LJ, Holden S, Davis B et al. Cardiovascular T2-star (T2\*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *Eur Heart J*. 2001 Dec;22(23):2171-9
13. Carpenter JP, He T, Kirk P et al. On T2\* magnetic resonance and cardiac iron. *Circulation*. 2011 Apr 12;123(14):1519-28
14. Porter JB, Wood J, Olivieri N et al. Treatment of heart failure in adults with thalassemia major: response in patients randomised to deferoxamine with or without deferiprone. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2013 May 20;15:38
15. Fernandes JL, Silveira MA, Fertrin K et al. Left and right ventricular function and volume assessment in young thalassemia major patients with no related myocardial iron overload. *Ann Hematol*. 2012 Dec;91(12):1839-44
16. Aessopos A, Farmakis D, Hatziliami A et al. Cardiac status in well-treated patients with thalassemia major, *European Journal of Haematology*, (2004) 73: 359-366
17. Westwood MA, Shah F, Anderson LJ, et al. Myocardial tissue characterization and the role of chronic anemia in sickle cell cardiomyopathy. *Magn Reson Imaging*. 2007 Sep;26(3):564-8.
18. Nagueh SF, Appleton CP, Gillebert TC et al. Recommendations for the evaluation of left ventricular diastolic function by echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2009 Feb;22(2):107-33
19. Pennell DJ, Udelson JE, Arai AE, et al. Cardiovascular function and treatment in  $\beta$ -thalassaemia major: a consensus statement from the American Heart Association. American Heart Association Committee on Heart Failure and Transplantation of the Council on Clinical Cardiology and Council on Cardiovascular Radiology and Imaging. *Circulation*. 2013 Jul 16;128(3):281-308
20. Modell B, Khan M, Darlison M et al. Improved survival of thalassaemia major in the UK and relation to T2\* cardiovascular magnetic resonance. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance* 2008;10:42

## Адрес за кореспонденция:

Пенчо Георгиев

Клиника по клинична Хематология,

УМБАЛ "Св. Георги" ЕАД

Пловдив, бул. Васил Априлов 15А

Тел: 032 602 481

E-mail: penchogeorgiev@yahoo.com

## ИЗОХРОМОЗОМА НА ДЪЛГОТО РАМО НА ХРОМОЗОМА 14 КАТО ЕДИНИЧНА АНОМАЛИЯ ПРИ СЛУЧАЙ С МИЕЛОДИСПАСТИЧЕН СИНДОМ

Л. Митев<sup>1</sup>, А. Асенова<sup>1</sup>, Л. Грахльова<sup>1</sup>, К. Милчева<sup>2</sup>, Р. Станчев<sup>2</sup>, И. Гигов<sup>2</sup>, Ю. Райнов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория по цитогенетика, молекулярна биология и електрофоретични изследвания,

<sup>2</sup>Клиника по хематология, ВМА-София

## ISOCHROMOSOME OF THE LONG ARM OF THE CHROMOSOME 14 AS ISOLATED ANOMALY IN THE CASE WITH MYELODISPLASTIC SYNDROME

L. Mitev<sup>1</sup>, A. Asenova<sup>1</sup>, L. Grahlyova<sup>1</sup>, K. Milcheva<sup>2</sup>, R. Stanchev<sup>2</sup>, I. Gigov<sup>2</sup>, J. Raynov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Cytogenetic and Molecular Biology – Military Medical Academy

<sup>2</sup> Clinic of Hematology – Military Medical Academy

**Резюме:** Най-честите клонални хромозомни нарушения при миелодиспластичния синдром (МДС) са +8, 5q- и 7q-. Наред с тях се откриват и различни редки хромозомни аномалии, които са асоциирани с определени клинично-патологични особености. Познанието за тях е от важно значение за правилната интерпретация на лабораторните находки при МДС. Ние описваме за първи път у нас случай с МДС с изохромозома на дългото рамо на хромозома 14 като единична аномалия. Тази хромозомна аберация е много рядка и се възприема като вариант на тризомията на хромозома 14. Двете нарушения +14/+14q се срещат в по-малко от 0.5% от всички случаи с клонални аберации при МДС. За тях е характерно, че възникват рано в хода на заболяването и се откриват при възрастни пациенти най-често с МДС и хроничната миеломоноцитна левкемия. Характеризират се с относително добра прогноза, слаба склонност за трансформация на заболяването, нормален или повишен брой на тромбоцитите и левкоцитите и лекостепенна анемия. Все още не са проучени молекулярните механизми, които са свързани с патогенезата на +14/+14q.

**Ключови думи:** Миелодиспластичен синдром, хромозомна аберация, хромозома № 14

**Summary:** The most frequent clonal chromosomal abnormalities in MDS are +8, 5q-, and 7q-. Different rare chromosomal anomalies associated with certain clinical pathological features, are also described in MDS. The knowledge of them is essential for correct interpretation of the laboratory findings. Here we reported for the first time in our country the rare chromosome abnormality isochromosome of 14q as sole anomaly in case of MDS. This aberration is very rare and is accepted as variant of trisomy of chromosome 14. Both disorders +14/+14q are found in less than 0.5% of the cases with MDS. They occur in the early stage of the disease and are found in adult patients with MDS and chronic myelomonocytic leukemia. +14/+14q are associated with relatively good prognosis, low tendency for transformation of the disease, normal or increased number of platelets, leukocytes and mild anemia. The molecular mechanisms related with the pathogenesis of +14/+14q are unknown.

**Key words:** Myelodysplastic syndrome, chromosome aberration, chromosome № 14

### УВОД

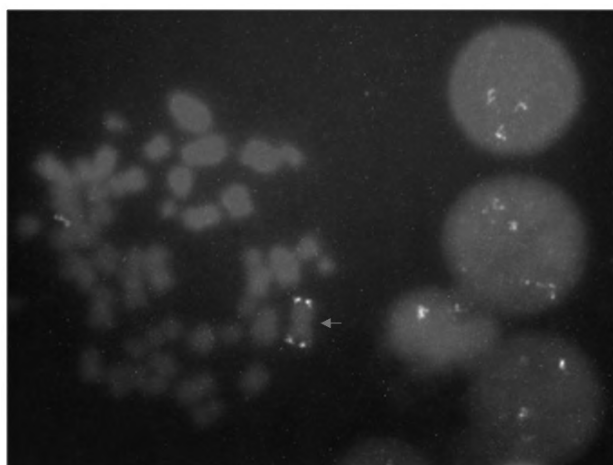
Най – честите хромозомни аномалии, които се откриват като единични нарушения при МДС са +8, del(5q) и -7/del(7q). Техният дял като изолирани

нарушения е около 30% [1]. Останалите клонални аномалии при МДС включват редки хромозомни аберации като del(20q), del(11q), del(12p), del(13q), +21, +1q и др., чиято честота за всяка една от тях варира между 1.1 и 3.9% [1]. При МДС се откриват

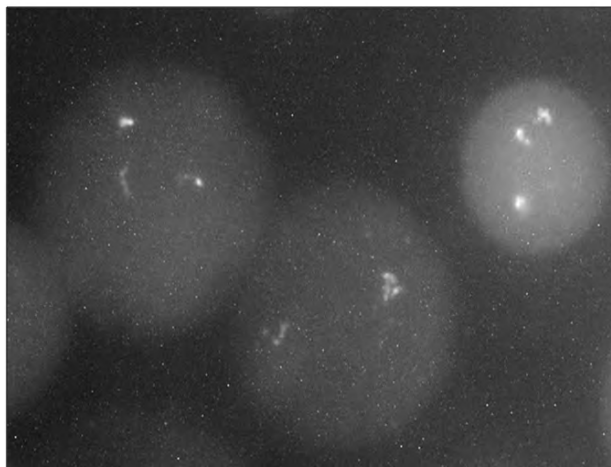
и много редки аномалии с честота под 1% [1,2]. Те също се характеризират с определени клинично-патологични особености и описването им е важно за клиничната практика. Ние представяме за първи път у нас едно от много редките хромозомни нарушения при МДС - изохромозома на дългото рамо на хромозома 14 като единична аномалия в кариотипа.

### СЪОБЩЕНИЕ НА СЛУЧАЯ

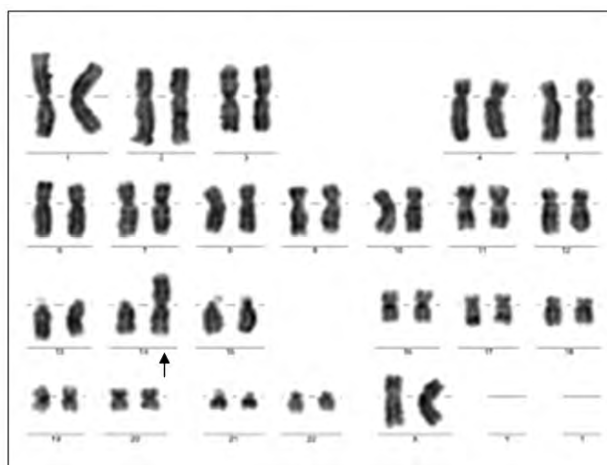
Болната В. Г. С., жена на 64 г., е приета в клиниката през март 2011 г. с оплаквания от обща отпадналост и лесна уморяемост. Лабораторните изследвания установиха Hb 97 г/л, WBC  $4.4 \times 10^9/\text{л}$  и PLT  $129 \times 10^9/\text{л}$ . Диференциалното броене показва щабове 20%, сегментоядрени неутрофили 17%, лимфоцити 48%, моноцити 9%, еозинофили 5% и базофили 1%. Фолиевата киселина и витамин B12 бяха нормални, а еритропоетина двукратно повишен (40.8 mIU/ml). Миелограмата се характеризираше с нормоцелуларен костен мозък и диспластични елементи и в трите редици. Броят на миелобластите бе 2%. Цитогенетичният анализ на костния мозък доказва наличието на патологичен клон с кариотип 46, XX, iso(14)(q10)[20] (**фиг. №2**). Флуоресцентната „ин ситу“ хибридизация с двуцветна, локус специфична сплит проба за 14q32 потвърди изохромозомата на дългото рамо на хромозома 14 (**фиг. №1,3**). Бе поставена диагнозата рефрактерна анемия с мултилинейна дисплазия и бе проведено лечение с хемотрансфузии. Медианата на преживяемостта на пациента беше определена на 5.3 г. според R-IPSS (2т.). През март 2014 г. заболяването трансформира в остра миелоидна левкемия M5a. Болната почина четири месеца по-късно от сърдечно съдови усложнения.



**Фиг.1.** FISH анализ със локус специфична проба за 14q32(IGH) показваща метафазна пластинка и интерфазни ядра за IGH локуса. Изохромозомата е посочена.



**Фиг.2.** FISH анализ със локус специфична проба за 14q32(IGH) показваща интерфазни ядра за IGH локуса.



**Фиг.3** G-лентуван кариотип на пациента В.С., показващ изохромозома 14. Изохромозомата обозначена със стрелка.

### ДИСКУСИЯ

Изохромозома на дългото рамо се възприема за вариант на тризомията на хромозома 14. Двете нарушения се обозначават като +14/14q и се срещат много рядко при онко-хематологичните неоплазии. За тях е характерно, че възникват рано в хода на заболяването и се откриват при възрастни пациенти, предимно с МДС или хронична миеломоноцитна левкемия. Тяхната честота като единични аномалии при „de novo“ МДС е 0.28% [2]. Случаите с миелоидни нарушения (МДС, ХММЛ) и +14/q14 се характеризират с относително добра прогноза, слаба склонност за трансформация на заболяването, нормален или повишен брой на тромбоцитите и левкоцитите и лекостепенна анемия. В най-голямата серия на пациенти съобщавана с МДС и изолирана +14/q14 стойността, на хемоглобина варира

между 81 и 112 г/л (средна стойност 97 г/л), броя на левкоцитите между 1.6 и  $8.8 \times 10^9/\text{л}$  (средна стойност  $4.6 \times 10^9/\text{л}$ ) и броя на тромбоцитите между 23 и  $465 \times 10^9/\text{л}$  (средна стойност  $170 \times 10^9/\text{л}$ ). Пациентите са на средна възраст 72 год., всичките имат мултилинейна дисплазия и са със среден IPSS индекс 1,4 [3]. Нашият пациент в значителна степен показва сходни клинично-патологични особености с тези на горепосочените пациенти с МДС. В заключение, миелоидните неоплазии с изолирана +14/q14 представляват рядко генетично заболяване, на които предстои да бъде установена молекулярната патогенеза.

#### БИБЛИОГРАФИЯ:

1. Bacher U, Schnittger S, Kern W, Weiss T, Haferlach T, Haferlach C. Distribution of cytogenetic abnormalities in myelodysplastic syndrome, philadelphia negative myeloproliferative neoplasms, and the overlap MDS/MPN category. *Annals of Hematology*, 2009, 88 (12), 1207-1213.
2. Bacher U, Schwanz J, Bräulke F, Haase D. Rare cytogenetic abnormalities in Myelodysplastic syndrome. *Mediterranean Journal of Hematology and Infection diseases* 2015, 7(1): e2015034, DOI 10.4084/MJHID.2015.034
3. Cui W, Buesso-Ramos CE, Yin CC, Sun J, Muddasani R. Trisomy 14 as a sole chromosome abnormality associated with older age at a heterogeneous group of myeloid neoplasms with dysplasia, and a wide spectrum of progression. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2010; 2010:365318. <http://dx.doi.org/10.1155/2010/3PMid:21331167> PMCID:PMC3034993.

#### Адрес за кореспонденция:

Любомир Митев

ВМА, София

ул. "Св. Георги Софийски" № 3

Тел.: 02 92 26 000

Клинична лаборатория и имунология

e-mail: [cytogen.vma@abv.bg](mailto:cytogen.vma@abv.bg)

# СЛУЧАЙ С ОСТРА МИЕЛОМИНОЦИТНА ЛЕВКИМИЯ И ПРИСЪСТВИЯ НА ДОПЪЛНИТЕЛНИ КОПИЯ НА MLL ОНКОГЕНА

Л. Митев<sup>1</sup>, А. Асенова<sup>1</sup>, Л. Грахльова<sup>1</sup>, А. Недева<sup>2</sup>, И. Гигов<sup>2</sup>, Ю. Райнов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория по цитогенетика, молекулярна биология и имунология, <sup>2</sup>Клиника по хематология, ВМА-София

## CASE OF ACUTE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA ASSOCIATED WITH ADDITIONAL COPIES OF MLL ONCOGENE

L. Mitev<sup>1</sup>, A. Asenova<sup>1</sup>, L. Grahlyova<sup>1</sup>, A. Nedeva<sup>2</sup>, I. Gigov<sup>2</sup>, J. Raynov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Cytogenetic and Molecular Biology – Military Medical Academy

<sup>2</sup> Clinic of Hematology – Military Medical Academy

**Резюме.** В човешкия геном MLL онкогена е локализиран в хромозомната лента 11q23, която често се засяга от хромозомни транслокации при острите миелоидни левкемии, предимно от миеломоноцитен или моноцитен тип (M4 и M5). Вследствие на тях, MLL се прехвърля до промоторните ДНК секвенции на различни генни партньори, което довежда до неговата активация. Ние описваме случай с остра миеломоноцитна левкемия, при който не бе установена транслокация въвличаща MLL локуса. Цитогенетичният анализ показва комплексен кариотип с наличието на бройни и структурни аномалии в това число и тризомия на хромозома 11 и изохромозома на дългото рамо на хромозома 11. В конкретния случай е налице предпоставка за наличието на общо 5 копия на MLL, три от които са допълнителни. Флуоресцентната „ин ситу“ хибридизация с ДНК специфична проба за MLL потвърди описаната находка и установи три допълнителни копия на MLL. На основа на нашите находки и данните от литературата демонстрираме, че е възможен и друг механизъм за активация на MLL, който е различен от транслокационния. При него решаващ за малигнената пролиферация на бластите е експресията на допълнителните копия на MLL онкогена, които са извън регулативен контрол.

**Ключови думи:** Остра миелоидна левкемия, хромозомна аберация, MLL онкоген, хромозома №11

**Summary.** The MLL oncogene in human genome is located in the chromosome band 11q23, which is mostly affected by chromosome translocation in acute myeloid or myelomonocytic leukemia. These translocations lead to the activation of MLL as a result of the juxtaposition of MLL to the promoter sequences of the partner genes. Here we describe a case of acute myelomonocytic leukemia lacking translocation involving MLL, but with more than two copies of MLL. The cytogenetic analysis showed complex karyotype with many numerical and structural anomalies including trisomy of chromosome 11 and isochromosome 11q. Fluorescence in situ hybridization with DNA specific probe for MLL confirmed the result of G-banded karyotype and revealed 5 copies of MLL oncogene. On the bases of our findings and data from the literature we demonstrated another mechanism of MLL activation. In this case the malignant proliferation is related to the uncontrolled expression of the additional copies of MLL.

**Key words:** Acute myeloid leukemia, chromosome aberration, MLL oncogene, chromosome №11

### ВЪВЕДЕНИЕ

Локуса на MLL е едно от най-честите места на хромозомни преобразувания, които са специфични за острите миелоидни левкемии от миеломоноцитен и моноцитен тип (M4 и M5). По правило тези преобразувания представляват реципрочни транслокации на сегмента 11q23-

>11qter с други хромозомни сегменти. Вследствие на тях MLL попада до ДНК последователности, които усилват неговата експресия. Това довежда до бластната трансформация на клетките и изявата на левкемичния фенотип. В настоящето съобщение описваме клиничен случай с остра миеломоноцитна левкемия (M4), при който бяха установени повече от две копия на MLL, което

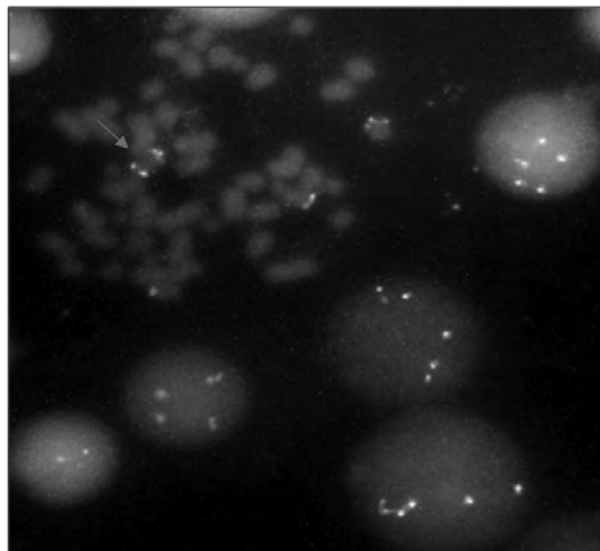
предполага друг възможен механизъм за неговата активация, различен от транслокационния.

### СЪОБЩЕНИЕ НА СЛУЧАЯ

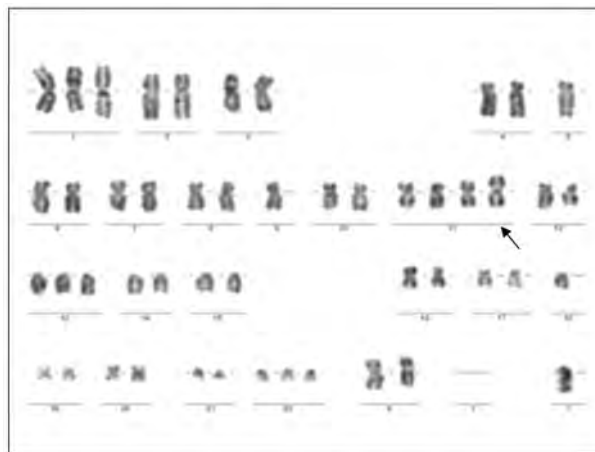
Пациентът М. С. К., жена на 84г., беше приет през март 2015 г. в клиниката с отпадналост и субфебрилна температура. Кръвната картина показва хемоглобин 79 г/л, левкоцити  $10.4 \times 10^9/\text{л}$  и тромбоцити  $32 \times 10^9/\text{л}$ . Диференциалната кръвна формула бе: миелобласти 22%, сегментоядрени клетки 9%, лимфоцити 20% и моноцити 49%. Миелограмата се характеризираше с миело-монобластна пролиферация на костния мозък (95%). Цитогенетичният анализ на костен мозък установи следният патологичен кариотип: 49, XX, +1, -5, -9, +i(11)(q10), +13, -18, +22, +mar[3]/50, XX, idem, +11[8]. Флуоресцентната „ин ситу“ хибридизация с локус специфична двуцветна сплит проба за MLL онкогена потвърди наличието на изохромоза 11 и откри две популации клетки – едната с 4(15%), а другата с 5(85%) допълнителни копия на MLL. Бе поставена диагнозата остра миеломоноцитна левкемия (M4) и бе проведена палиативна химиотерапия с ниски дози Алексан на фона на хематологична реанимация. Пациентът почина три месеца по-късно от сърдечно съдови и бъбречни усложнения.

### ДИСКУСИЯ

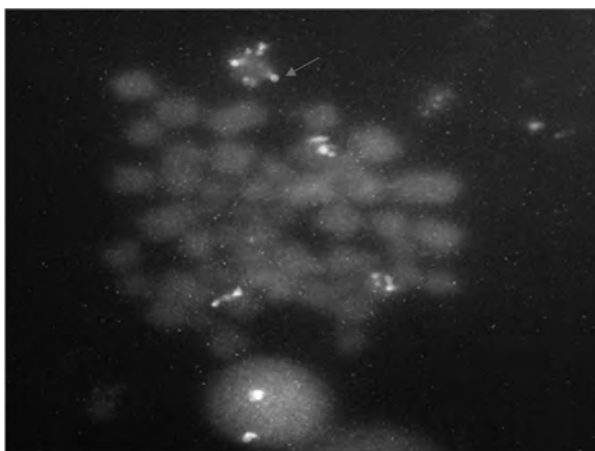
Представянето на един ген в множество копия в клетката се нарича амплификация. Най-често тя е интрахромозомна и цитогенетично се проявява чрез хомогенно оцветен хромозомен участък, маркерна хромозома, ринг хромозома, полизомия или изохромоза [1,2]. При нашият конкретен случай бе установена комбинация на допълнителна хромозома 11 (тризомия на №11) с изохромоза на 11q. Вследствие на това в 85% от клетките се наблюдават 5 флуоресцентни сигнала на MLL онкогена. Това ни дава основание да предположим, че амплификацията на MLL е свързана с патогенезата на заболяването и представлява друг механизъм за свръхекспресия на MLL, който е различен от транслокационния. Досега е доказано, че освен чрез транслокационно преобразуване MLL може да бъде активиран, макар и много по-рядко, и чрез тандемна дупликация [1]. Представеният случай показва, че е възможен и амплификационен механизъм за активация на MLL. Досега са описани малко на брой случаи с амплификация на MLL [1, 2]. Също като при нашия пациент, те са били асоциирани с липса на терапевтичен отговор и много кратка преживяемост (3-4 месеца) [1, 3]. Това потвърждава факта, че независимо от вида на неопластичното заболяване, амплификацията на съответния онкоген е лош прогностичен маркер.



**Фиг. 1.** Метафазна пластинка и интерфазни ядра с по пет флуоресцентни сигнала на MLL (изохромозомата е посочена със стрелка)



**Фиг.2** Хипердиплоиден кариотип с бройни и структурни аномалии, включително тризомия на хромозома 11 и изохромоза на 11q



**Фиг.3** Метафазна пластинка с пет флуоресцентни сигнала за MLL: два в изохромозома 11q и три във всяка една от останалите хромозоми №11 (изохромозомата е посочена със стрелка)

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Mohamed, A. MLL amplification in leukemia Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. 2011;15(2):220-222. <http://AtlasGeneticsOncology.org/Anomalies/MLLamplID1547>
2. Savova I, Brezinova J, Zemanova Z, Isakova S, Liscova L, Malinova E, Berkova A, Cermek J, Maaloufova J, Novatova L, Michalova K. Cytogenetic manifestation of chromosome 11 duplication/amplification in acute myeloid leukemia. Cancer genetics and Cytogenetics, (2010), 199, 121-127.
3. Maitta RW, Canizzaro LA, Ramesh KP. Association of MLL amplification with poor outcome in acute myeloid leukemia. Cancer Genetics and Cytogenetics. 2009, 192(1), 40-43.

### Адрес за кореспонденция:

Любомир Митев

ВМА, София

ул. "Св. Георги Софийски" № 3

Тел.: 02 92 26 000

Клинична лаборатория и имунология

e-mail: cytogen.vma@abv.bg

# ТРАНСЛОКАЦИЯ Т(1;3)(Р36;Q21) ПРИ СЛУЧАЙ С ОСТРА МИЕЛОМОНОЦИТНА ЛЕВКИМИЯ

Л. Митев<sup>1</sup>, А. Асенова<sup>1</sup>, Л. Грахльова<sup>1</sup>, Г. Иванов<sup>2</sup>, И. Гигов<sup>2</sup>, Ю. Райнов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория по цитогенетика и молекулярна биология, <sup>2</sup>Клиника по хематология, ВМА – София

## TRANSLOCATION T(1;3)(P36;Q21) IN CASE WITH ACUTE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA

L.Mitev<sup>1</sup>, A. Asenova<sup>1</sup>, L. Grahlyova<sup>1</sup>, G. Ivanov<sup>2</sup>, I. Gigov<sup>2</sup>, J. Raynov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Cytogenetic and Molecular Biology – Military Medical Academy

<sup>2</sup>Clinic of Hematology – Military Medical Academy

**Резюме:** Острите миелоидни левкемии (ОМЛ) са асоциирани с различни повтарящи се хромозомни аномалии, значителна част от които са срещат в много ниска честота. При повечето случаи те се съчетават с определени клиникопатологични особености, поради което могат да бъдат дефинирани като редки генетични заболявания. Едно от тях е т.нар. „q21q26” синдром. При този синдром се открива t(3;3)(q21;q26) или inv(3)(q21;q26). Той се характеризира с лоша прогноза, дисмегакариоцитопоеза с микромегакариоцити и нормален или повишен брой тромбоцити. Описани са и следните 3q21 варианти на t(3;3)/inv(3): t(3;5)(q21;q31), t(3;8)(q21;24) и t(1;3)(p36;q21), при които също се намират изброените по-горе клиникопатологични находки. Ние представяме първия случай у нас с t(1;3) при 57 годишна жена с остра миеломоноцитна левкемия (М4). Проведеният класически цитогенетичен анализ на костен мозък установи наличието на един основен клон с t(1;3)(p36;q21) като единична аномалия и произведен на него с комплексно нарушение: 46,XX, t(1;3)(p36;q21)[6]/51-54, XX, idem, +X[3], +2[14], 5q-[2], +8[2], +12[12], +13,+13[14],+21[14],+22[14],+mar[7] ср. Флуоресцентната „in situ” хибридизация с локус специфични проби потвърди транслокация (1;3), както и сублентовата локализация 1p36.3 на мястото на преобразуване на хромозома №1. Транслокация (1;3) е установена най-често при случаи с миелодиспластичен синдром и остра миелоидна левкемия (М1-М4) и по рядко при хронични миелопролиферативни неоплазии. Описани са находките на представения случай и са съпоставени със съобщените в научната литература случаи, с t(1;3).

**Ключови думи:** Остра миелоидна левкемия, хромозомна аберация, q21;q26 синдром

**Summary:** The acute myeloid leukemia (AML) are associated with a variety of recurring chromosomal abnormalities, most of which are found in very low frequency. In most cases, they are related with certain clinicopathological features and may defined as a rare genetic diseases. One of them is a so-called „q21q26” syndrome. This syndrome is associated with t(3;3)(q21;q26) or inv(3)(q21;q26) and is characterized with a poor prognosis, dismegakaryocytopoiesis with micromegakaryocytes and normal or elevated platelet count. Different 3q21 variants of t(3;3) /inv(3) as t(3;5)(q21;q31), t(3;8)(q21;24) and t(1;3)(p36;q21) are described. The anomalies were found in AML and are also associated with the above mentioned clinicopathological findings. Here we present the first case in our country with t(1;3) in 57 years old woman with myelomonocytic leukemia (M4). The classical cytogenetic analysis of bone marrow showed the existence of a stemline with 46,XX,t(1;3)(p36;q21)[6] as a sole anomaly and a sideline with the following complex disorder: 51-54,XX,t(1;3)(p36;q21)[6]/+X[3],+2[14],5q[2],+8[2],+12[12],+13,+13[14],+21 [14],+22[14],+mar[7]cp. Fluorescence “in situ” hybridization with locus specific probes confirmed translocation (1;3) and the subband location 1p36.3 in place of the conversion of chromosome 1. Translocation (1;3) was found most often in cases of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia (M1-M4) and less common in chronic myeloproliferative neoplasms. The findings of our case are presented and compared with the reported literature cases with t(1;3).

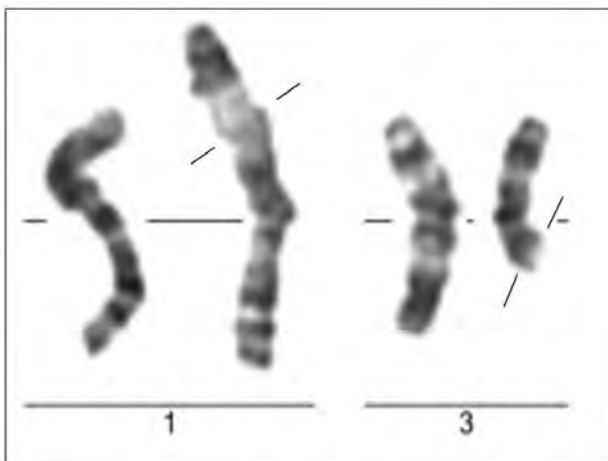
**Key words:** Acute myeloid leukemia, chromosome aberration, (q21;q26)syndrome

## ВЪВЕДЕНИЕ

В значителна част от случаите с ОМЛ наред с най-честите повтарящите се хромозомни аномалии, се откриват и редки хромозомни нарушения. При някои от тях се наблюдават определени клиникopatологични особености, поради което могат да се разглеждат като редки генетични заболявания. Едноот тях е т.нар. „3q21q26“ синдром който включва основното нарушение  $inv/t(3;3)(q21;q26)$  и неговите най-чести вариантни транслокации  $t(3;5)(q21;q31)$ ,  $t(3;8)(q21;q24)$ ,  $t(1;3)(p36;q21)$  [1-4]. Тези хромозомни аномалии са характерни за миелопролиферативните заболявания и са асоциирани с лоша прогноза, дисмегакариоцитопоеза с наличие на микромегакариоцити и нормален или повишен брой на тромбоцитите. Ние описваме за първи път у нас пациент с рядката транслокация  $(1;3)(p36;q21)$  и съпоставяме неговите клинични находки с публикуваните за тази аномалия.



**Фиг.1а** Хипердиплоиден кариотип  $t(1;3)(p36;q21)$  комбиниран с броини и структурни аномалии.



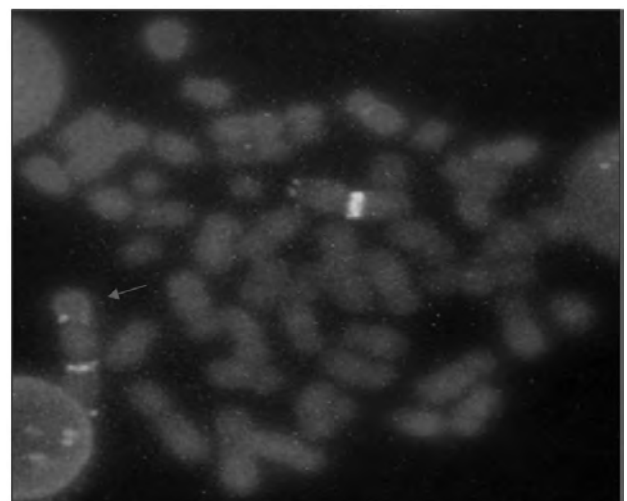
**Фиг.1б** Частичен G – лентуван кариотип показващ  $t(1;3)(p36;q21)$ . В деривативната хромозома №1 се наблюдава и  $del(1)(p11p13)$  местата на преобразуване са обозначени.

## СЪОБЩЕНИЕ НА СЛУЧАЯ

Пациентът С.Д.К., жена на 57 г. бе приет в клиниката през месец март 2015г. с отпадналост, висока температура и хепатомегалия. Хематологичните изследвания установиха хемоглобин 80 г/л, левкоцити  $116 \times 10^9/\text{л}$  и тромбоцити  $76 \times 10^9/\text{л}$ . Диференциалната кръвна картина показва миелобласти 9%, миелоцити 6%, метамиелоцити 1%, промиелоцити 56%, щабове 9% и сегментоядрени клетки 13%. Миелограмата се характеризираше с хипоцелуларен костен мозък, редуцирана мегакариоцитна редица и миеломонобластна пролиферация (миелобласти 15% и монобласти 20%). Цитогенетичният анализ установи следния патологичен кариотип:  $46,XX,t(1;3)(p36;q21)[6]/51-54,XX, idem, +X[3], +2[14], 5q-[2], +8[2], +12[12], +13,+13[14], +21[14], +22[14], +mar[7]cp$  (фиг. 1а и 1б). В деривативната хромозома №1 бе установена интерстициална делеция в късото и дългото рамо на –  $der(1)(qter \rightarrow cen \rightarrow p11::p13 \rightarrow p36::3q21 \rightarrow qter)$ . Флуоресцентната „ин ситу“ хибридизация (FISH) с локус специфична двуцветна сплит проба за BCL6 потвърди, че сегмента  $q21 \rightarrow 3qter$  е транслокиран на късото рамо на хромозома №1 (фиг 2).



**Фиг.2** FISH анализ показващ присъствието на BCL6 в късото рамо на деривативната хромозома №1 в следствие на  $t(1;3)$ .



**Фиг.3** FISH анализ с пробата SRD(1p36)/SE1(1qh), който показва, че пробата за 1p36 се хибридизира в късото рамо на деривативната хромозома №1 в лента 1p36.3, а след нея

дистално се наблюдава транслокирания сегмент от хромозома №3 (посочен със стрелка).

FISH изследването с SRD(1p36) специфична ДНК проба и центромерна проба за хромозома 1 показва, че сигнала на SRD пробата остава на късото рамо на хромозома 1 и не се транслокира в дългото рамо на хромозома 3 (фиг. 3). Бе поставена диагнозата остра миеломоноцитна левкемия (М4) и бе проведен индукционен курс химиотерапия по протокол „3+7“ и Митоксантрон / Цитарабин, без да бъде постигнат терапевтичен отговор. Пациентът почина три месеца по-късно от мозъчен кръвоизлив.

### ДИСКУСИЯ

t(1;3) е характерна аномалия за миелоидната линия. Най-много случаи са описани при миелодиспластичния синдром (МДС) и de novo АМЛ(М1-М4) [1]. Молекулярната патогенеза на t(1;3) се характеризира с активацията на MEL1 гена, вследствие на неговата транслокация от 1p36.3 до локализирания в лентата 3q21 ген на RPN1[5]. Нашето FISH проучване показва, че пробата SRD(1p36), хомоложна за ДНК участък в сублентата 1p36.3 не е транслокирана на 3q. От това следва, че мястото на преобразуване в късото рамо на хромозома 1 се намира дистално от секвенцията съответстваща на пробата SRD(1p36.3) и е локализирано в сублентата 1p36.3[5,6]. Както „3q21q26“ синдрома, така и транслокация (1;3) са асоциирани с нормален или повишен брой на тромбоцитите, мегакариоцитна хиперплазия с дисплазия и лоша прогноза. Повечето от пациентите с МДС и t(1;3) трансформират в ОМЛ, която е рефрактерна на лечение и е с кратка преживяемост. В част от случаите с МДС заболяването протича с моноцитна пролиферация, а при неговата трансформация преминава в М4 подтип на ОМЛ [1]. Нашия пациент може да се причисли към последната категория, защото при него е установена абсолютна моноцитоза в периферната кръв и М4 подвид на ОМЛ.

### БИБЛИОГРАФИЯ

1. Hess JL, t(1;3)(p36;q21), *Atlas Genet. Cytogenet. Oncol. Haematol.* 2002, 6(3),227-228.
2. Huret, JL t(3;5)(q21;q31) *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2014;18(3), 200-202.
3. Huret, JL t(3;8)(q21;q24) in myeloid malignancies *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2009;13(6):444-444.
4. Smol T inv(3)(q21q26) RPN1/MECOM; t(3;3)(q21;q26) RPN1/MECOM; ins(3;3)(q26;q21q26) RPN1/MECOM; *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol. in press*

5. Mochizuki N, Shimizu S, Nagasawa T, Tanaka H, Taniwaki M, Yokota J, Morishita K. A novel gene, MEL1, mapped to 1p36.3 is highly homologous to the MDS1/EVI1 gene and is transcriptionally activated in t(1;3)(p36;q21)-positive leukemia cells. *Blood*, 96(9),3209-3214.
6. Shimizu S, Zuzukava K, Kadera T, Nagasawa T, Abe T, Janawaki W, Yagasaki F, Tanaka K, Fuisawa S, Johansson B, Ahlgren T, Yokota J, Morishita K. Identification of breakpoint cluster region at 1p36.3 and 3q21 in hematologic malignancies with t(1;3)(p36;q21). *Genes, Chromosomes Cancer* 2000, 27(3),229-238.

### Адрес за кореспонденция:

Любомир Митев

ВМА, София

ул. "Св. Георги Софийски" № 3

Тел.: 02 92 26 000

Клинична лаборатория и имунология

e-mail: cytogen.vma@abv.bg

# ГЕНЕРАЛИЗИРАНА ЛИМФАНГИОХЕМАНГИОМАТОЗА С ВОДЕЩА БЕЛОДРОБНА ЛОКАЛИЗАЦИЯ- СЪОБЩЕНИЕ НА КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ И ПРЕГЛЕД НА ЛИТЕРАТУРАТА.

**К. Сапунарова\*, М. Спасова\*\*, А. Учиков \*\*\* Б. Анави\*\*\*\* В. Горанова-Маринова \*, Х. Иванова\*, П. Георгиев\*, В. Гръкланов\*, С. Горанов\***

Медицински университет, Пловдив, България,  
Университетска многопрофилна болница "Св. Георги", Пловдив, България

\* Клиника по клинична хематология,

\*\*Клиника по педиатрия и медицинска генетика

\*\*\*Клиника по гръдно- коремна хирургия

\*\*\*\*Катедра по патологична анатомия

## PULMONARY LYMPHANGIOHEMANGIOMATOSIS WITH LEADING PULMONARY INVOLVEMENT: CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW

**K. Sapunarova\*, M. Spassova\*\*, A. Uchikov\*\*\*, V. Goranova-Marinova\*, B. Anavi\*\*\*\*, H. Ivanova\*, P. Georgiev\*, V. Graklanov\*, S. Goranov\***

Medical University ,Plovdiv, Bulgaria,  
University Hospital "Sv. Georgi", Plovdiv, Bulgaria

\* Clinic of Clinical Hematology

\*\* Clinic of Pediatrics and Medical Genetics

\*\*\* Clinic of thoraco-abdominal surgery

\*\*\*\* Department of Pathology

**Резюме.** Лимфангиохемангиоматозата е рядка съдова аномалия , която клинично се представя с локализирано или генерализирано патологично разрастване на съдове с хистологични елементи на лимфна и венозна диференциация. Клиничният ход и прогнозата е идентична с тази на генерализираната лимфатична аномалия (ГЛА). Различаването на двете състояния е възможно само след патоморфологични и имуохистохимични изследвания. Генерализираната изява е с лоша прогноза, особено ако се диагностицира в детска или подрастваща възраст, налично белодробно ангажиране и често завършва фатално в още в млада възраст. Различни лечебни методи са изпробвани с цел повлияване на процеса. Сигурна лечебна стратегия, обаче не е установена при нито един от тях. Данните за системно медикаментозно лечение се основават на опити в единични случаи. Сред съобщените в литературата медикаменти с отчетливо положително действие, макар и в единични случаи, са пропранолол (инхибиция на Raf –киназния път), антиангиогенезни препарати (бевацизумаб, леналидомид), mTOR инхибиторни медикаменти (сиролимус), тирозин-киназни инхибитори (иматиниб)

Представяме случай на фатално протичане на лимфангиохемангиоматоза при 16- годишно момче с водеща белодробна локализация и отчетено временно клинично стабилизиране за периода на прием на mTOR инхибиторен препарат (сиролимус).

**Ключови думи:** Лимфангиохемангиоматоза, генерализирана лимфатична аномалия, сиरोлимус.

**Summary.** Lymphangiohemangiomatosis is a rare vascular anomaly , clinically presented with localized or generalized pathological growth of vessels with histological features of lymphatic and venous differentiation. Clinical course and prognosis is identical to that of generalized lymphatic (GLA). Distinguishing between the two states is possible only after histological and immunohistochemical examination. Generalized presentation has a poor prognosis, especially if diagnosed in childhood or teenage, pulmonary involvement and often is fatal even at a young age. Various treatment methods have been tried for the purpose of influencing the process. Safe treatment strategy, however, was not seen in any of them. The data for systemic medication is based on

*experiments in isolated cases. Among the reported drugs with positive effect, although in individual cases, are propranolol (with potential for inhibition of Raf –kinase pathway ), anti-angiogenesis agents (bevacizumab, lenalidomide), mTOR inhibitor drug (sirolimus), Tyrosine kinase inhibitors ( imatinib).*

*We present a case of fatal lymphangiohemangiomatosis in a 16-year-old boy with leading pulmonary involvement and beneficial effect for the period of treatment with mTOR inhibitor agent (sirolimus).*

**Key words:** *Lymphangiohemangiomatosis, generalized lymphatic anomaly (GLA), sirolimus.*

## УВОД

Лимфангиохемангиоматозата е рядко съдово заболяване, което може да се представя локализирано, или да ангажира повече органи и системи. Генерализираното представяне е с лоша прогноза, често завършва фатално в още в млада възраст, особено ако дебютира в детска или подрастваща възраст, и един от таргетните органи е белият дроб. В клиничен аспект, то не може да се различи от генерализираната лимфатична аномалия (стар термин лимфангиоматоза), с което показва еднакъв клиничен ход и прогноза. Различни лечебни методи са изпробвани с цел повлияване на патологичния процес на съдова пролиферация. Сред тях са хирургични методи, радиотерапия, опити за системно медикаментозно повлияване. Сигурна лечебна стратегия, обаче не е установена при нито един от тях. Рядката проява ограничава възможността за оценка на тези методи в рамките на клинични проучвания. На този етап, данните в литературата за ефект от едно или друго лечение се основават на съобщения за повлияване с успех при отделни случаи .(15, 16)

Представяме случай на лимфангиохемангиоматоза с водеща белодробна локализация и отчетен положителен ефект от прием на mTOR инхибиторен препарат (сиролимус).

## КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ

16- годишно момче се хоспитализира в отделение по детска онкохематология на Университетската педиатрична клиника, УМБАЛ "Св. Георги" Пловдив, през 02.2012 с анамнеза за суха кашлица, придружена от прогресиращ за няколко седмици задух. От амбулаторно проведените рентгенографии и компютърна томография се визуализира медиастинална туморна формация с придружаващ десностранен плеврален излив. От анамнезата за фамилност и минали заболявания- в ранна детска възраст в областта на тила е екстирпирана малка лезия с малиноподобен вид, като в други зони на тялото, също е имал "малиноподобни" образувания, лесно кървящи при допир, изчезнали спонтанно. Липсва наследственост. На 3-годишна възраст е пролежал в ортопедично заведение със съмнение за остеомиелит на дясна тибия, но документация от заболяването не е съхранена.

От клиничния преглед - нормално физическо развитие. Отчитат се отклонения, свързани с хронична пулмопатия-деформирана гръдна клетка с ретракция на дясната половина, хипертрофична остеоартропатия - нокти тип "часовниково стъкло", централен тип цианоза. В областта на дясна супраклавикуларна зона се палпира формация с плътна - еластична консистенция с размери 3/ 4 см. Аускултаторно за бял дроб - силно отслабено дишане вдясно от ниво на средна скапула към основата, вляво- емфизематозно променена половина, хиперсонорен тон, леко отслабено дишане. Сърдечно-съдова система - ускорена сърдечна честота - 120 / мин, с изместени наляво сърдечните тонове.

Не са регистрирани отклонения в хемограмата, биохимично - умерено завишени стойности на ЛДХ.

Осъществена е магнитно-резонансна томография на гръден кош(м. 02.2012), която показва ангажиране на медиастинума в предна, средна и задна част от нехомогенна хетероинтензна формация с неясни граници, пропагираща в поголемия си обем надясно. Същата се проследява през горната торакална апертура, като вдясно измененията обхващат артерия и вена субклавия. Измененията са разпространени паратрахеално, двустранно, субкаринално и бронхопулмонално, пропагиращо около съдособронхиалните снопове. Отчита се дифузно задебеляване на париеталната и висцералната плевра, както и промяна в сигнала от телата на прешлени Th 3,4,5,6 9 (нисък в T1 и висок в T2) без отклонение в тяхната форма и големина.

За хистологична верификация на процеса, пациентът се насочва към клиника по гръдно-коремна хирургия. На 22.02.2012 е осъществена десностранна торакотомия с декорткация на плеврата вдясно и биопсия на медиастиналната туморна формация, хистологичен резултат № 5723-24/- хистологични данни за лимфангиохемангиом. Имунохистохимичното изследване изключва евентуален лимфом ( CD45 пол., CD 3отр, CD 20отр.). Бял дроб-изразена фиброза, дисателектаза, наличие на доста сидерофаги. Участващи на хроничен бронхит и перибронхит. Плевра с фиброза и кръвоизливи.

Поради влошаващото се впоследствие четири месеца състояние, пациентът се хоспитализира в отделение по белодробни педиатрични

заболявания, Университетска детска болница–Австрия, Виена. На 25.07. 2012г. е осъществена ребиопсия на медиастиналната туморна формация. При оперативната процедура е с клинично значимо кървене от а. мамария в дясно, наложило нейната емболизация. След едноседмична реанимация, състоянието е стабилизирано. Хистологичният резултат показва материалот лимфна тъкан в съответствие с тимусна тъкан и части от лимфен възел. Наличие на неравни ендотелни лумени, които изграждат дендритни мрежи с неравномерно групиране на гладкомускулни клетки. Включени са малки артерии и вени, както и лумени, отчасти съдържащи гладкомускулни клетки, свързани с лимфатична тъкан. Описаните промени в съдовете са намерени също и в участъци вътре в тимусната тъкан. Имунохистохимичните изследвания показват ендотели от описаните съдови структури с позитивно свързване от антитела срещу CD 31 и подоплаин, отрицателна реакция за антитела срещу CD 34 и GLUT 1, което потвърждава първоначално поставената хистологична диагноза за лимфангиохемангиоматоза.

От 01 август 2012 година е започнато експериментално лечение с mTOR инхибиторен препарат - рапамун (сиролимус), основано на съобщения за добър ефект от лечението при няколко случая.(18) Стартова доза на препарата- 6 мг дневно с контрол на серумните терапевтични нива (5-8 ug/l).

Проследяването в следващите месеци показва стабилизиране на общото състояние, подобрение във физическата активност, връщане към предишни във времето физически дейности. Формацията в областта на шията вдясно, намалява видимо.

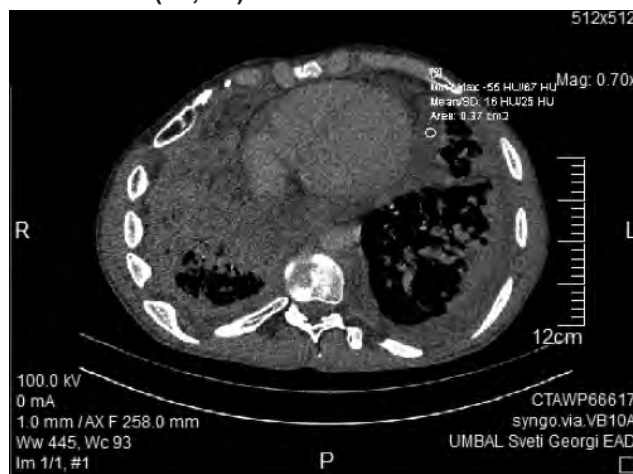
Периодичните контроли от образни изследвания показват стационаране на процеса, без ангажиране на нови зони.

С навършване на 18 годишна възраст, от м.август 2014 год., проследяването на пациента продължава в Университетската клиника по Клинична хематология – Пловдив . Физикалното състояние на белия дроб се оценява като стабилно, базирано на клиничните прегледи, оценката на показателите на газовия обмен и контролните образни изследвания. Формацията в областта над дясна клавикула е с намаление в размерите до 1/0,5 см. След започване на лечението с рапамун в динамика се регистрира гинекомастия, нарастваща от I ст. на III ст. развитие по Tanner .

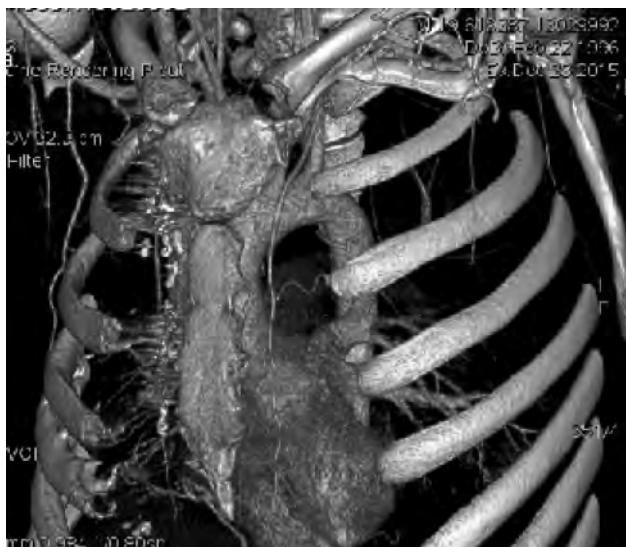
От м. май 2015 година пациентът преустановява посещенията си в клиниката. Четири месеца по-късно, м. септември 2015 год. е прегледан по спешност по повод прогресираща от около 2 седмици дихателна недостатъчност. Хоспитализиран е в специализирано пулмологично звено. Даден е съвет за възстановяване на приема на сиролимус, който самоволно е спрял от април 2015 година (емоционален проблем, провокиран от страничното събитие по време на приема на медикамента - гинекомастия). Пациентът отказва да възстанови приема на лекарството.

В периода октомври 2015- януари 2016 последват хоспитализации в няколко специализирани звена по гръдна хирургия и кардиохирургия. Клинично процесът се оценява като значително прогресирал с влошаване на белодробните функции до тежка дихателна недостатъчност, зависима от лечение с кислород в покой.

Контролното компютъртомографско изследване от м. декември 2015 (Фиг. 1) показва нарастване на формацията с масивно ангажиране на дясна половина на шията и медиастинума от процеса, инфилтриращ концентрично големите съдове, хранопровода и трахеята, и показващ значителна бронхопулмонална пропация. Регистриран е и плеврален излив с вероятно хеморагично съдържимо вляво. На представените срезове (Фиг.1б,1г ) се отчита и промяна в структурата на главичките на двете раменни кости, както и прешленните тела, което се дължи на костни поражения от основния процес, описани от Gorham и Stout(40, 41) .



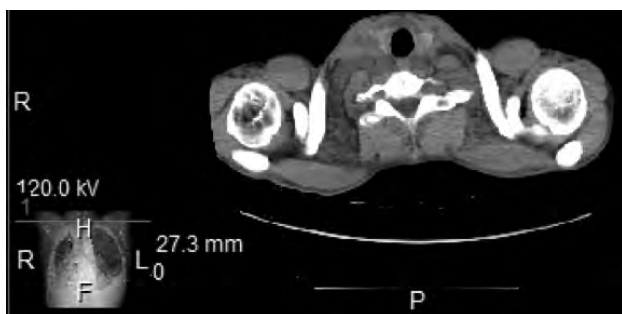
**Фиг1а.** Масивно ангажиране на медиастинума, белодробния паренхим и плеврата от дифузната съдова пролиферация.



**Фиг. 16** Ангиографска 3D реконструкция, показваща патологична пропация на процеса към съседни на медиастинума структури-пространството около големите съдове, паратрахеално, около хранопровода, както и бронхопулмонално.



**Фиг. 1в** Нарушена структура на прешленните тела, поразени от процеса на патологична съдова пролиферация.



**Фиг.1г** Костни промени в главичките на двете

раменни кости , каквито се описват при синдрома на Gorham- Stout

След кратки периоди на леко стабилизиране, в динамика състоянието на пациента се влошава драматично и с клиника на прогресираща хронична дихателна недостатъчност, пет месеца след регистрираното клинично влошаване, настъпва exitus letalis в клиниката по хематология на УМБАЛ “ Св. Георги”. Патологоанатомична аутопсия не е осъществена, поради отказ от родителите.

## ДИСКУСИЯ

Осъвременената класификация на съдовите аномалии от м. април 2014г. , Melbourne, Australia, поставя лимфангиохемангиоматозата в групата на комбинираните съдови малформации. (Табл.1)

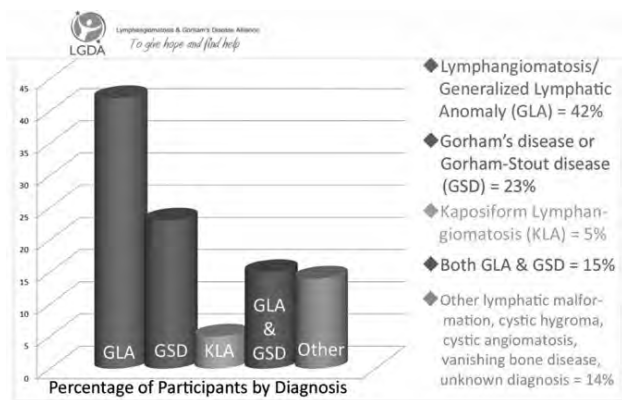
**Табл.1** Класификация на съдовите малформации, 2014

| Прости съдови малформации: |
|----------------------------|
| Капилярни малформации      |
| Венозни малформации        |
| Артериовенозни малформации |
| Лимфатични малформации     |
| Артериовенозна фистула     |

| Комбинирани съдови малформации     |
|------------------------------------|
| Капиляро- венозни                  |
| Капиляролимфатични                 |
| Капиляроартериовенозни малформации |
| Лимфатичновенозни малформации      |
| Капиляролимфатичновенозни          |
| Други                              |

Към януари 2016 година в регистъра на LGDA (lymphangiomathosis and Gorham disease Alliance) в световен мащаб са регистрирани около 200 случая на лимфангиоматоза и сродни състояния.

Разпределението по отделни нозологични единици, регистрирани към LGDA е представено на фиг. 2.



**Фиг. 2** Данни от регистъра на LGDA за ГЛА и сродни състояния към януари 2016 година.

Данните са представени на базата на интернет информация, предоставена от самите пациенти. Водещ дял заемат изолираните ГЛА и синдрома на Gorham- Stout. С подобрене на диагностичните методи, нарастващ дял придобиват и комбинирания състояния.

ГЛА се диагностицира предимно при деца и подрастващи. Няма полова предилекция. Патологичният процес може да бъде установен във всички органи, с изключение на мозъчни структури. (18, 21, 23, 25, 32). Въпреки че заболяването е бенигнено в патоморфологичен аспект, клиничното протичане показва тенденция към прогресивен ход и фатален край още в млада възраст, в случаите на локализация в жизнено важни зони (18, 23, 25, 26). Водеща рискова локализация е белодробната (42 % от регистрираните случаи), като с напредване на процеса се обхващат масивно зони от медиастина до плеврата (1, 2, 3, 10, 15). При тази локализация обичайни усложнения са плевралните изливи, които могат да бъдат хилозни или с хеморагично съдържимо. Описани са и случаи на рецидивиращ хеморагичен перикардит при лимфангиохемангиоматоза с медиастинална локализация (33). Често срещано е и самостоятелното костното ангажиране, описано в литературата за пръв път от Gorham (1954 год.) (37, 38, 39). В днешни дни, тези две заболявания се приемат по-скоро за различни органни изяви на един и същ патологичен процес, което се потвърждава от комбинираното клинично представяне в 15 % от регистрираните случаи.

## ЕТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕТИЧНИ ДАННИ

Заболяванията, свързани с аномалии в развитието на лимфно-съдовите структури са спорадични. Не се свързват с фактори на средата, имунологични или наследствени рискови фактори.

Причината за появата на лимфангиоматозата, понастоящем, се проучва. Приема се, че е

феномен на дисембриогенеза, показващ линеарен растеж постнатално. Това поставя заболяването в обновената класификация на съдовите аномалии от 2014 г. в групата на малформациите.

Проучванията показват, че VEGF е не само ангиогенен, но и лимфангиогенен фактор. (31) Различни изследвания показват и участието на VEGFR-3 (рецептор-3 на съдово-ендотелния растежен фактор) за развитието на аномалията. Тъкани, поразени от процеса, показват високи нива на VEGFR-3. Това дава основание той да се приема като ключов за патологичното разрастване на лимфните съдове, подобно на капилярния ендотел при хемангиоматозните лезии (RAF – mitogen activated protein kinase сигнален път) (30). Понастоящем, усъдрията са насочени към изследване и на други два пътя с потенциално значение за патологичната лимфангиогенна пролиферация. Първият от тях е mTOR, който е отговорен за формирането на лимфните канали, и в патологични условия се приема за значим, относно появата на аномалията в мекотъканни структури.

Вторият път, или по-скоро система, с важно значение за развитие на процеса, е RANKL. Тя отразява взаимоотношенията между костните клетъчни елементи, и в патологичен аспект, има пряка роля за поразяването на костта, което е водещо е при синдрома на Gorham- Stout.

## ЛЕЧЕНИЕ

На този етап няма сигурен лечебен метод, който трайно и успешно да повлиява патологичния процес. Различните методи целят, най-вече, временното му стопиране или управление на част от породените усложнения. Опитите се свеждат от консервативни до хирургични методи.

Консервативното лечение с медикаменти е метод на избор при дифузно разпространени процеси, както в един орган, така и при мултиорганна локализация - сърце, перикард, ребра, прешлени, медиастиnum и белодробни структури. Има единични съобщения в литературата за полза от прилагане на системни кортикостероиди, интерферон, тамоксифен (16, 36).

Съобщения за отчетлив успех от лечение с пропранолол, сиролимус и бевацизумаб (18) дават надежди, като показват редукция на лимфангио/хемангиопролиферацията и плевралните изливи при фаталната белодробна зона на ангажиране.

Хирургичните методи са приложими само при изолиран процес - резекция, париетална плевректомия или лигиране на ductus thoracicus.

В условия на мултифокално, значимо и прогресиращо белодробно ангажиране като спасяващо средство за лечение се обсъжда белодробната трансплантация (17).

## ИЗВОД

Патологичните съдови пролиферации трябва да влизат в съображение при диагностично уточняване на туморни процеси, ангажиращи медиастинума. Биопсичното изследване с ИХХ са без алтернатива при поставяне на точната диагноза, както е и в този клиничен случай. Клиничният ход често е прогресиращ и води до ранен фатален край, когато ангажира жизнено важни зони. Лечението при системно разпространен процес разчита единствено на опити за медикаментозно повлияване, и на този етап е с несигурен успех. Разкриването на патогенетичните механизми, стоящи в основата на този процес е от есенциално значение за установяване на лечение, повлияващо успешно патологичното разрастване на съдовите структури. Клиничната еволюция на заболяването в нашия случай покрива наблюденията за ранен фатален край в случаите на белодробно ангажиране. Отчетеното клинично стабилизиране по време на приема сиролимус (период от 3 години, от м. август 2012г. до м. май 2015г.) и бързият прогрес с фатален край за период от 8 месеца след неговото спиране, дава основание нашият клиничен случай да се обсъжда като положително повлиян от лечение с медикамент, инхибиращ пътя mTOR.

## ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

ГЛА (GLA)- генерализирана лимфатична аномалия, Generalized Lymphatic Anomaly  
ИХХ- имунохистохимия  
ЛДХ- лактатдехидрогеназа  
CD- Cluster of differentiation  
GLUT 1 - Glucose transporter 1  
GSD- Gorham – Stout disease  
mTOR- mammalian Target of Rapamycin  
KLA- Kaposiform lymphangiomatosis  
LGDA- Lymphangiomatosis and Gorham disease Alliance  
Raf kinase – Rapidly Accelerated Fibrosarcoma kinase  
VEGF- Vascular endothelium growth factor  
VEGFR- Vascular endothelial growth factor receptor  
RANKL- Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Tazelaar HD, Kerr D, Yousem SA, Saldana MJ, Langston C, Colby TV. Diffuse pulmonary lymphangiomatosis. *Hum Pathol* 1993;24:1313-22.
2. Faul JL, Berry GJ, Colby TV, et al. Thoracic lymphangiomas, lymphangiectasis, lymphangiomatosis, and lymphatic dysplasia syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1037-46.
3. Swensen SJ, Hartman TE, Mayo JR, et al. Diffuse pulmonary lymphangiomatosis: CT findings. *J Comput Assist Tomogr* 1995;19:348-352.
4. Alvarez OA, Kjellin I, Zuppan CW. Thoracic lymphangiomatosis in a child. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26:136-41.
5. Sanders JS, Rosenow EC III, Piehler JM, Glavitski P, Brown LR. Chylous sputum due to thoracic lymphangiectasis with successful surgical correction. *Arch Intern Med* 1988;148:1465-6.
6. Nair LG, Kurtz CP. Lymphangiomatosis presenting with bronchial cast formation. *Thorax* 1996;51:765-6.
7. Chen YL, Lee CC, Yeh ML, Lee JS, Sung TC. Generalized lymphangiomatosis presenting as cardiomegaly. *J Formos Med Assoc* 2007;106(3 Suppl):S10-14.
8. Fukahori S, Tsuru T, Asagiri K, et al. Thoracic lymphangiomatosis with massive chylothorax after a tumor biopsy and with disseminated intravenous coagulation – lymphoscintigraphy, an alternative minimally invasive imaging technique: Report of a case. *Surg Today* 2011;41:978-82.
9. Raman SP, Pipavath SN, Raghu G, Schmidt RA, Godwin JD. Imaging of thoracic lymphatic diseases. *Am J Roentgenol* 2009;193:1504-13.
10. Du MH, Ye RJ, Sun KK, et al. Diffuse pulmonary lymphangiomatosis: A case report with literature review. *Chin Med J (Engl)* 2011;124:797-800.
11. El Hajj L, Mazieres J, Rouquette I, et al. Diagnostic value of bronchoscopy, CT and transbronchial biopsies in diffuse pulmonary lymphangiomatosis: Case report and review of the literature. *Clin Radiol* 2005;60:921-5.
12. Takemura T, Watanabe M, Takagi K, Tanaka S, Aida S. Thoracoscopic resection of a solitary pulmonary lymphangioma: Report of a case. *Surg Today* 1995;25:651-3.
13. Browse NL, Allen DR, Wilson NM. Management of chylothorax. *Br J Surg* 1997;84:1711-6.
14. Rostom AY. Treatment of thoracic lymphangiomatosis. *Arch Dis Child* 2000;83:138-9.
15. Blei F. Lymphangiomatosis: clinical overview. *Lymphat Res Biol* 2011;9:185-90.
16. Ozeki M, Fukao T, Kondo N. Propranolol for intractable diffuse lymphangiomatosis. *N Engl J Med* 2011;364:1380-2.
17. Kinnier CV, Eu JP, Davis RD, Howell DN, Sheets J, Palmer SM. Successful bilateral lung transplantation for lymphangiomatosis. *Am J Transplant* 2008;8:1946-50.
18. Hammill AM, Wentzel M, Gupta A, Nelson S, Lucky A, Elluru R, Dasgupta R, Azizkhan RG, Adams DM. Sirolimus for the treatment of complicated vascular anomalies in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2011 Dec 1;57(6):1018-24. doi: 10.1002/pbc.23124.
19. Adma Silva de Lima, Mariane Gonçalves Martynychen, Roseni Tere-sinha Florencia, Leida Maria Rabello, Joao Adriano de Barros, Dante Luis Escussato. Pulmonary lymphangiomatosis: a report of two cases. *J Bras Pneumol*. 2007;33(2):229-33.
20. Tran D, Fallat ME, Buchino JJ. Lymphangiomatosis: a case report. *South*

Med J. 2005;98(6):669-71.

21. Ruo-Yang Lin, Hai Zou, Tan-Zhou Chen, Wei Wu, Jian-Hong Wang, Xiao-Lei Chen, et al. Abdominal lymphangiomatosis in a 38-year-old female: case report and literature review. *World J Gastroenterol*. 2014;20(25):8320-4.
22. Ensar Yekeler, Memduh Dursun, Abdurrahman Yildirim, Mehtap Tunaci. Diffuse pulmonary lymphangiomatosis: imaging findings. *Diagn Interv Radiol*. 2005;11:31-4. special reference to cardiovascular findings. *Arch Dis Child*. 1971;46(248):528-32.
23. Langston C, Colby TV. Diffuse pulmonary lymphangiomatosis. *Human Pathol*. 1993;24:1313-22.
24. Brown LR, Reiman HM, Rosenow EC III, Gloviczki PM, Divertie MB. Intrathoracic lymphangioma. *Mayo Clin Proc*. 1986;61:882-92.
25. Taylor JR, Ryu J, Colby TV, Raffin TA. Lymphangiomyomatosis: clinical course in 32 patients. *N Engl J Med*. 1990;323:1254-60. France NE, Brown JK. Congenital pulmonary lymphangiectasis: report of 11 examples
26. Bhatti MAK, Ferrante JW, Gielchinsky I, Norman JC. Pulmonary and skeletal lymphangiomatosis with chylothorax and chylopericardium. *Ann Thorac Surg*. 1985;40:398-401.
27. Kandil A, Rostom AY, Mourad WA, Khafaga Y, Gershuny AR. Successful control of thoracic lymphangiomatosis by irradiation. *Clin Oncol*. 1997;9:407-11.
28. Successful treatment of diffuse pulmonary lymphangiomatosis with bevacizumab. Aman J, Thunnissen E, Paul MA, van Nieuw Amerongen GP, Vonk-Noordegraaf A.
29. Hancock BJ, St-Vil D, Luks FI, Di Lorenzo M, Blanchard H. Complications of lymphangiomas in children. *J Pediatr Surg*. 1992;27:220-4.
30. D'Angelo G, Lee H, Weiner RI. cAMP-dependent protein kinase inhibits the mitogen action of VEGF and fibroblast growth factor in capillary endothelial cells by blocking Raf activation. *J Cell Biochem* 1997; 67:353-66
31. Ferrara N. 2004, Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocr.Rev*.2004; 25:581-611.
32. Khunte P. et al , Int. J. Res Med.Sci. 2015 Sep ; 3 (9 ): 2495-2498 , A rare case of pulmonary lymphangiomatosis from the tribal zone of central India.
33. Kothari et al. Recurrent hemorrhagic pericardial effusion in a child due to diffuse lymphangiohemangiomatosis: a case report, *Journal of Medical Case Reports* 2010, 4:62
34. Xu H, Edwards JR, Espinosa O, Banerji S, Jackson DG, Athanasou NA. Expression of a lymphatic endothelial cell marker in benign and malignant vascular tumours. *Hum Pathol*.
35. Jingxi Zhang, Hai Jin, Yang Wang, Chong Bai, and Yiping Han, A case of diffuse pulmonary lymphangiomatosis with unilateral lung invasion, *Oxford Medical Case Reports*, 2015 , 346–348
36. KC Kadakia, SM Patel, ES Yi, AH Limper. Diffuse pulmonary lymphangiomatosis. *Can Respir J* 2013;20(1):52-54.
37. Michael T. ,Nupur Garg b , Bjorn R. Olsen c, Viewpoints on vessels and vanishing bones in Gorham–Stout disease, *Bone* 63 (2014) 47–52
38. Gabriel El-Kouba , Romilton de Araújo Santos , Paulo César Pilluski , Antonio Severo , Osvandré Lech C. Gorham-Stout syndrome: phantom bone disease
39. Vasileios S Nikolaou, Dimitrios Chytas, Dimitrios Korres, Nicolas Efsthathopoulos , Vanishing bone disease (Gorham-Stout syndrome): A review of a rare entity, *World J Orthop* 2014 November 18; 5(5): 694-698
40. Alison M. Boyce, The Search for a Blood Test to Diagnose & Assess Effectiveness of Treatment in Vascular Malformations
41. Yerganyan, Body, N. De Saint Aubain , M. Gebhart Gorham–Stout disease of the proximal fibula treated with radiotherapy and zoledronic acid

#### Адрес за кореспонденция:

Катя Сапунарова

Клиника по клинична Хематология,

УМБАЛ “Св. Георги” ЕАД

Пловдив, бул. Васил Априлов 15А

Тел: 032 602 481

E-mail: [kasapunarova@mail.bg](mailto:kasapunarova@mail.bg)

# ХИБРИДНИ НУКЛЕАРНО-МЕДИЦИНСКИ МЕТОДИ ПРИ РЕСТАДИРАНЕ НА ПАЦИЕНТ С НЕХОДЖКИНОВ ЛИМФОМ – SUV-PET/CT СПРЯМО SUV-SPECT/CT - ПИЛОТНО ПРОУЧВАНЕ

Л. Чавдарова<sup>1</sup>, Е. Пиперкова<sup>1</sup>, М. Diemling<sup>2</sup>, В. Хаджийска<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Специализирана Болница за Активно Лечение по Онкология, Клиника по Нуклеарна медицина, София, България

<sup>2</sup> HERMES Medical Solutions, Стокхолм, Швеция

<sup>3</sup> Университетска Болница "Александровска", Клиника по Нуклеарна медицина, София, България

## HYBRID METHODS IN THE NUCLEAR MEDICINE RESTAGING OF A PATIENT WITH NON-HODGKIN LYMPHOMA - SUV PET/CT VS SUV SPECT/CT - A PILOT STUDY

L. Chavdarova<sup>1</sup>, E. Piperkova<sup>1</sup>, M. Diemling<sup>2</sup>, V. Hadjiiska<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Specialized Hospital for Active Treatment in Oncology, Sofia

<sup>2</sup> HERMES Medical Solutions, Stockholm, Sweden

<sup>3</sup> University Hospital "Aleksandrovskia", Sofia

**Резюме.** PET/CT е с призната роля в стадирането и рестадирането на редица 18F-FDG-авидни лимфоми. Хибридната SPECT/CT с туморотропни радиофармацевтици е по-слабо проучена при тези заболявания, но нейната по-ниска цена, по-голяма наличност и възможност за изчисляване на полуколичествени параметри повишават научния интерес и възможностите за въвеждането ѝ в клиничната практика като възможна алтернатива на PET/CT.

**Ключови думи:** лимфом, SUV-SPECT/CT, SUV-PET/CT.

**Summary.** PET/CT is the gold standard in staging and restaging FDG-avid lymphomas. SPECT/CT with tumor-seeking radiopharmaceuticals is much less studied for these diseases but its lower price, larger availability and possibility for semiquantitative analyses raise the scientific interest and its application as an alternative to PET/CT in routine clinical practice.

**Key words:** lymphoma, SUV SPECT/CT, SUV PET/CT

### ВЪВЕДЕНИЕ

Индивидуализирането на лечението въз основа на съвременните методи за диагностика доведе не само до по-добра преживяемост при малигнените лимфоми, но и намали свързаната с терапията токсичност.

18F-FDG-PET/CT вече е призната като „златен стандарт“ в онкологията и в частност, в изобразяването на натрупващите FDG лимфоми (1). Широко проучвани са нейната прогностична роля и способността да насочва терапевтичното поведение чрез полуколичествени параметри като стандартната стойност на натрупване (SUV)

(2,3).

Хибридната SPECT/CT се развива по-късно като образен метод, но също има голям потенциал в изобразяването на туморите (4). SPECT/CT с туморотропни радиофармацевтици (РФ) като 99mTc-MIBI или Tetrofosmin (TF) (5) може да бъде по-рентабилна алтернатива на PET/CT, особено при недостатъчна наличност на последната. Проучванията за употребата на 99mTc-MIBI/TF-SPECT/CT с определяне на количествени параметри при онкохематологични заболявания са дефицитни и обект на нарастващ научно-клиничен интерес (6).

## ЦЕЛ

Проучване на визуалната и полуколичествена сравнимост на резултатите от 99mTc-TF-SPECT/CT и 18F-FDG-PET/CT и оценка на ролята на SUV-SPECT при проследяването на пациент с НХЛ.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В настоящия клиничен случай сравнихме резултатите от 2 SPECT/CT- и 1 PET/CT-изследвания при пациент с първичен медиастинален В-едроклетъчен НХЛ. Пациентът е диагностициран през 2011г. в стадий IVB с ангажиране на медиастиnum, инфилтрация на перикард, vena cava superior и остеосклеротични лезии в Th3-4. Проведена е полихимиотерапия, АКМТ, лъчетерапия на медиастиnum и на Th2-4. След установен пълен метаболитен отговор на PET/CT, контролен скен от 09.07.2015г. показва патологично натрупване на маркираната глюкоза в известна остатъчна медиастинална формация, предполагащо рецидив. На 28.07.2015г. в нашата Клиника се проведе 99mTc-TF SPECT/CT(1) (без терапия между изследванията) за доуточняване и при суспекция за кардиотоксичност. След 1 курс ХТ и рентгенологична поява на белодробен инфилтрат и плеврален излив се проведе контролен SPECT/CT(2) скен (13.10.2015).

Изобразяването и полуколичествената оценка на всички хибридни изследвания е проведена чрез специализиран софтуер (Hybrid Recon-Oncology, HERMES Medical Solutions). За всички региони с патологично натрупване на 18F-FDG и 99mTc-TF се изчислиха SUVmax/min/mean, използвайки зони на интерес (VOI), базирани на прагова стойност на SUV 2,5 или сферична VOI с диаметър 2,5cm около най-силно фиксиращата точка. За двете последователни SPECT/CT-изследвания се изчисли  $\Delta$ SUVmax. PET/CT се приемаше като референтен метод.

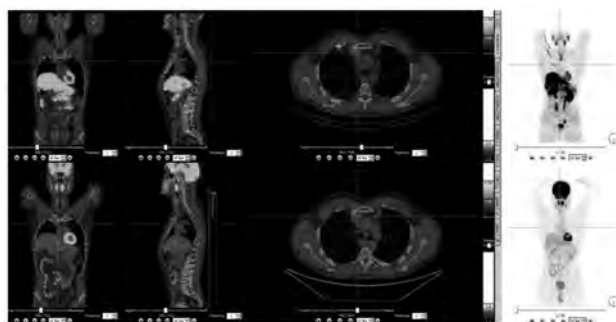
## РЕЗУЛТАТИ

Считаната за рецидив от PET/CT медиастинална лезия с SUVmax=3,76 показва патологично включване на TF с SUVmax-SPECT(1) = 3,01 (Фиг.1.) \*. Тази стойност се понижи до SUVmax-SPECT(2) = 1,20. Получената  $\Delta$ SUVmax беше 60,13% - съответстваща на визуалната оценка за добър частичен отговор (Фиг.2) \*. Установи се патологична 99mTc-TF-фиксация във 2<sup>ро</sup> дясно ребро и Th1-3 на SPECT(1), негативни на FDG-PET (Фиг.3.) \*. Тези находки показаха понижен интензитет на SPECT(2) с  $\Delta$ SUVmax 37,19%-80%. Едновременно проведената (без допълнително инжектиране на 99mTc-TF) миокардна скintiграфия установи ранна кардиотоксичност. На SPECT(2) се откриха нови хиперфиксиращи 99mTc-TF лезии в десния бял дроб – с възпалителен характер.

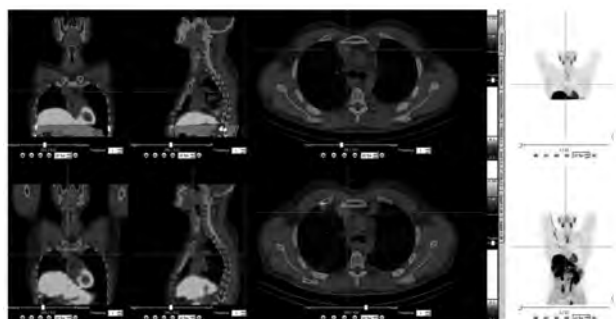
В хода на проследяването при пациента се проведе втора АКМТ след високодозова ХТ.

## ОБСЪЖДАНЕ

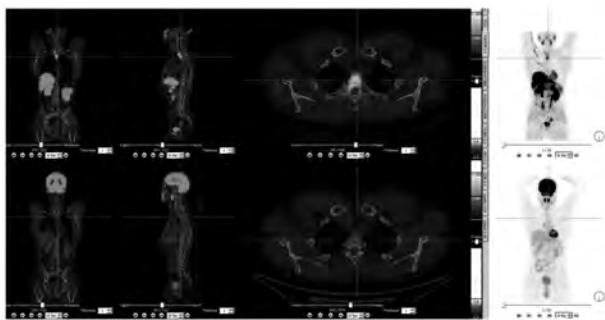
В настоящия клиничен случай 99mTc-TF-SPECT/CT показва конкордантна на PET/CT медиастинална лезия с характер на рецидив. Стойността на SUVmax-SPECT(1) беше сходна с SUVmax-PET и се понижи сигнификантно след ХТ на SPECT(2), съответно на визуалния частичен отговор на терапията. Дискордантните PET/SPECT-находки се дължат вероятно на пост-лъчетерапевтични промени в прешлените и на различния механизъм на натрупване на РФ. Считаме, че SPECT/CT с определяне на SUV има потенциал да стане алтернатива на PET/CT в стадирането и оценката на терапевтичния отговор при лимфоми и подлежи на допълнителни проучвания. В допълнение, наличието на фиксация на 99mTc-TF на SPECT(1) е маркер за липса на множествена лекарствена резистентност (7,8), което се доказва индиректно при проследяването с отчетения терапевтичен отговор. Паралелно оцененият статус на миокардната перфузия и кинетика може да даде насоки на клинициста за по-щадяща миокарда терапевтични схеми (8-10).



**Фиг.1.** PET/CT (долен ред) спрямо SPECT/CT (горен ред) – патологична фиксация на двата вида радиофармацевтици в медиастинална лезия.



**Фиг.2.** SPECT(1) (долен ред) спрямо SPECT(2) (горен ред) – значително понижена фиксация на радиомаркера в медиастиналната лезия и 2-ро дясно ребро



**Фиг. 3.** Хиперфиксация на  $^{99m}\text{Tc}$ -TF на SPECT/CT в Th2/3 (горен ред) и липса на фиксация на  $^{18}\text{F}$ -FDG на PET/CT (долен ред).

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Barrington SF, Mikhaeel NG, Kostakoglu L, et al. „Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International conference on malignant lymphomas Imaging working group.“ *J Clin Oncol* 32 (2014): 3048-3058.
2. Hutchings M, Loft A, Hansen M, et al. „FDG-PET after two cycles of chemotherapy predicts treatment failure and progression-free survival in Hodgkin lymphoma.“ *Blood* 107 (2006): 52-59.
3. Le Roux PY, Gastinne T, Le Gouill S, et al. „Prognostic value of interim FDG PET/CT in Hodgkin's lymphoma patients treated with interim response-adapted strategy: comparison of International Harmonization Project (IHP), Gallamini and London criteria.“ *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 38, № 6 (2011): 1064-1071.
4. Patel CN, Chowdhury FU, Scarsbrook AF. „Hybrid SPECT/CT: the end of „unclear“ medicine.“ *Postgrad Med J*. 85, № 1009 (2009): 606-613.
5. Schillaci O, Filippis AM, Anselmo AP, Monteleone F, Capocchetti F, Massa R, Maurizi Enrici R, Scopinaro F. „Technetium-99m tetrofosmin imaging in malignant lymphomas.“ *Tumori* 88, № 3 (2002): S24-5.

6. Bailey DL, Willowson KP. „An Evidence-Based Review of Quantitative SPECT Imaging and potential Clinical Applications.“ *J Nucl Med* 54 (2013): 83-89.
7. Е. Пиперкова, Тимчева К. „Диагностициране на множествена лекарствена резистентност чрез  $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI скintiграфия.“ *Рентенол и радиол.* 36, № 3 (1997): 28-31.
8. Van De Wiele C, Rottey S, Goethals I et al.  $^{99m}\text{Tc}$  Sestamibi and  $^{99m}\text{Tc}$  Tetrofosmin scintigraphy for predicting resistance to chemotherapy: a critical review of clinical data. *Nucl Med Commun* 2003; 24(9):945-50.
9. Tzonevska A, Chakarova A, Tzvetkov K. „GSPECT-CT myocardial scintigraphy plus calcium scores as screening tool for prevention of cardiac side effects in left-sided breast cancer radiotherapy.“ *JBUON* 19, № 3 (2014): 667-672.
10. Tzonevska A., Tzvetkov K., Vassileva D, Atanasova M., Piperkova E. „Myocardial washout of  $^{99m}\text{Tc}$ -tetrofosmin in breast cancer and lymphoma patients treated with anthracyclines.“ *Eur J Nuc Med* 38, Suppl.2 (2011): 388.

## Адрес за контакти:

Д-р Лидия Чавдарова

Клиника по Нуклеарна медицина

СБАЛ по Онкология-ЕАД

Ул. „Пловдивско поле“ 6

1756, София

e-mail: dr.lidia.chavdarova@gmail.com

Тел. 0886796014

**МАРГИНАЛНОЗОНОВИ ЛИМФОМИ – I ЧАСТ****Ю. Жечев**

Клиника по хематология, СБАЛХЗ – София

**MARGINAL ZONE LYMPHOMAS – PART I****Y. Zhechev**

Clinic of Hematology, SBALHZ – Sofia

**Резюме.** Маргиналнозоновите лимфоми (**MZL**) представляват група от различни заболявания, които имат някои общи морфологични особености и микрообкръжение и различни клинична картина, молекулярна патогенеза и лечение. MZL включват 3 подтипа: 1) екстранодален MZL или MALT лимфом, 2) спленален MZL и 3) нодален MZL. Освен общата родоначална клетка и подобията относно възможна антигенна стимулация от микробни патогени и/или автоантигени, клиничната картина е доста различна и със симптоми, свързани с локализацията на лимфома. Клиничните и биологични прогностични фактори при MZL са хетерогенни. В обзора ще бъде дефинирано оптималното лечение и общоприетите стратегии при всеки подтип MZL. Предмет на първата част на обзора е MALT лимфома.

**Ключови думи:** маргиналнозонови лимфоми, MALT лимфом, прогностични фактори, оптимално лечение

**Summary.** Marginal zone lymphomas (**MZL**) represent a group of different diseases with some common morphological features and environmental findings and different clinical presentation, molecular pathogenesis and treatment. MZL include 3 subtypes: 1) extranodal MZL (**EMZL**) or mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma (**MALT lymphoma**), 2) splenic MZL (**SMZL**), and 3) nodal MZL (**NMZL**). Beside a common cell-of-origin and similarities concerning a possible chronic antigenic stimulation by microbial pathogenes and/or autoantigens, the clinical presentation is very different with symptoms related to lymphoma location. Clinical and biological prognostic factors of MZL are heterogeneous. The optimal treatment has yet to be defined for the three subtypes of MZL, and current strategies will be described in this review. The topic of the first part is MALT lymphoma.

**Key words:** marginal zone lymphomas, MALT lymphoma, prognostic factors, optimal treatment

**ДЕФИНИЦИЯ**

Маргиналнозоновите лимфоми (MZL) са група заболявания, произхождащи от memory-B-лимфоцитите, които нормално се намират в различни микроанатомични участъци (съседни на външните участъци на мантелните зони)

на вторичните лимфоидни фоликули - т.н. **маргинална зона**. Маргиналната зона обгражда мантелната зона на герминативния център на лимфните възли и обикновено не се разпознава морфологично. В норма слезката, някои мезентериални лимфни възли и (понякога) други лимфни възли също показват маргинална зона.

## WHO КЛАСИФИКАЦИЯ НА MZL

Дефинират се три основни типа MZL:

**1. Екстранодален маргиналнозонов лимфом (EMZL или MALT лимфом).** При първична лезия на белодробни структури се използва термина **BALT** (bronchus associated lymphoid tissue) **лимфом**; при изолирано засягане на кожата – **първичен кожен MZL (PCMZL, primary cutaneous MZL или MZCL, marginal zone cutaneous lymphoma)**. **IPSID** = immunoproliferative small intestinal disease.

**2. Спленален маргиналнозонов лимфом (SMZL).**

**3. Нодален маргиналнозонов лимфом (NMZL).**

**ЕПИДЕМИОЛОГИЯ.** При възрастните MZL съставляват 5 до 17% от всички NHL. **MALT-лимфомите са трети по честота при В-клетъчните NHL** (7-8% от тях): съответно SMZL ~2% и NMZL ~1%. От всички MZL MALT-лимфомите представляват ~70%, SMZL - 20%, а NMZL – 10%. Възрастовата медиана за MALT-лимфомите е 60 години, за SMZL е 65 години, а за NMZL е 50-60 години. Леко преобладава женският пол. Има географски различия в разпространението на стомашния MALT-лимфом, например по-голяма честота в североизточна Италия. [1,2,3,4,5,6,7,8,9,10]

### MALT-ЛИМФОМ (EMZL)

**ЛОКАЛИЗАЦИЯ.** Обичайна е локализацията в гастроинтестиналният тракт – в 50%

от всички случаи (**най-често засегнат е стомаха** – в 85%). **Други чести локализации са:** слюнчни жлези (14%), глава и шия (14%), очни аднекси (12%), кожа (11%), щитовидна жлеза (4%) и млечна жлеза (4%).

**ПАТОГЕНЕЗА.** Асоциирана е с **хронична антигенна стимулация от аутоантигени и/или микробни патогени и интерферира с пътеката на апоптозата**. Хроничната инфекция привлича неутрофили и освобождава генотоксични активни свободни радикали. Първоначално се индуцира продължителна поликлонална В-клетъчна пролиферация и се повишава риска от увреждания на DNA. Настъпва акумулация на лимфоидна тъкан в типични за всеки подтип лимфом локализации в мукозата или органите, които не съдържат лимфоидна тъкан. **Таргетните гени при повечето аномалии са от пътеката, която води до активация на NF-κB, неконтролирана В-клетъчна пролиферация и неопластична трансформация.** При **аутоимунните заболявания има повишен риск от развитие на не-стомашен MALT-лимфом**. При синдром на Sjögren има 44 пъти по-висок риск от развитие на лимфом, а при тиреоидит на Hashimoto – 70 пъти по-висок риск от лимфом на тиреоидеята. [2,3,4,5]

**Микроорганизми, асоциирани с MALT-лимфом.** **Най-малко 6 микроорганизма са асоциирани с пролиферация на MALT: *Helicobacter pylori*, *Helicobacter heilmannii*, HCV, *Campylobacter jejuni*, *Borrelia burgdorferi* и *Chlamidophila psittaci*.** (Таблица №1)

**Таблица №1:** Синопис на връзките между специфичните микроорганизми и патогенезата на MALT-лимфомите при различните локализации

| Постулати на Koch<br>(1882 г.)                                     | <i>Helicobacter pylori</i><br>Стомашен EMZL | <i>Campylobacter jejuni</i><br>IPSID | <i>Borrelia burgdorferi</i><br>PCMZL | <i>Chlamidophila psittaci</i><br>очен EMZL |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>Наличие в лезията</b>                                           | почти винаги                                | някои случаи                         | различно                             | различно                                   |
| <b>Изолиране и растеж in vitro</b>                                 | да                                          | още не                               | още не                               | да                                         |
| <b>Инокулацията причинява лезии при животни</b>                    | да                                          | неизвестно                           | неизвестно                           | неизвестно                                 |
| <b>Организмът може да се възстанови от експериментални животни</b> | да                                          | неизвестно                           | неизвестно                           | неизвестно                                 |
| <b>Лимфомна регресия след ерадикация</b>                           | да                                          | да                                   | да                                   | да                                         |

**ПАТОГЕНЕЗА НА СВЪРЗАНИЯ С *H. pylori* СТОМАШЕН MALT-ЛИМФОМ.** Класическа е теорията за *H. pylori*-реактивните Т-клетки. **Доказани са поне 3 сигнала за пролиферация на *H. pylori*-зависимите лимфомни клетки:** 1) С Т-клетъчен произход; 2) С произход от *CagA*; 3) Медиатори от туморното микроокръжение.

**Индиректни ефекти на *H. pylori*-антигени и инфилтрация с *H. pylori*-специфични Т-клетки.** Първоначално пролиферативните отговори са частично зависими от стимулацията на *H. pylori*-специфичните интратуморни Т-клетки от антигени на *H. pylori*. Пролиферацията и диференциацията на клетките на MALT-лимфома изискват CD40-медирано сигнализиране и Th-2-тип цитокини. Т-клетките, които инфилтрират тумора, са дефектни по отношение на перфорин-медирана цитотоксичност и FAS-FAS-лигандмедирана апоптоза. За ефективната комуникация между Т-клетките и неопластичните В-клетки се изисква взаимодействие между 2 субсета костимулаторни молекули на неопластичните В-клетки: от една страна CD80(B7.1) и CD86(B7.2), а от друга – CD28 или CTLA4 от Т-клетките. Експресията на CD86 е значимо свързана с чувствителност към ерадикация на *H. pylori* (***Helicobacter pylori*-зависимост**), докато при CD80 и CD40 и техните лиганди няма такава зависимост. Тригер за растежът на MALT-лимфома е и стимулирането от автоантигени BCR-сигнализиране. Данните обясняват тенденцията за локален растеж и повлияването от ерадираща терапия.

**Роля на сигнализирането с рецептор-медиран хемокини.** BCA-1 (като хемокин) и неговият хемокинен рецептор CXCR5 са силно експресирани в *H. pylori*-асоциираните първични и вторични лимфоидни фоликули и в *H. pylori*-позитивните лимфомни клетки на стомашния MALT-лимфом. По време на инфекцията с *H. pylori* BCA-1 регулира хоуминга на В-лимфоцитите към клетките на MALT-лимфома чрез BCA-1 рецептор-медирано сигнализиране, а също подпомага продукцията на възпалителни цитокини като IL-8. CXCR3 експресията при MALT-лимфомите корелира с метастатичната миграция на неопластичните В-клетки към циркулацията и към други лимфоидни органи и е значително по-висока в тумори, които не отговарят на ерадираща терапия (***Helicobacter pylori*-независимост**). Експресията на CCR7, CXCR3 и CXCR7 е перманентно по-висока след малигнената трансформация на *H. pylori*-асоцииран гастрит, докато CXCR4-експресията е перманентно намалена.

**Роля на CD4+CD25+ регулаторните Т-клетки.** В микроокръжението на стомаха инфекцията с *H. pylori* стимулира отговора на CD4+CD25+ регулаторните Т-клетки (Tregs). Инфилтриращите тумора Tregs са тетра-Т-клетки, които често експресират вътреклетъчен FOXP3 – главен

регулаторен ген за развитието и функциите на натуралните Tregs. Повечето от инфилтриращите тумора Т-клетки са Tregs, които се рекрутират от туморните клетки чрез секреция на Treg-привличащите цитокини CCL17 и CCL22. Има данни, че Tregs-имуномодулацията повлиява отговора на лечение.

*H. pylori*-зависимите тумори имат повече FOXP3-клетки и по-високо клетъчно съотношение FOXP3/CD3+ от *H. pylori*-независимите тумори.

**Директен ефект на *H. pylori* върху пролиферацията на стомашния MALT-лимфом.** Вътреклетъчният *CagA* коимунореципитира с SHP-2 и стимулира пролиферацията на В-клетки чрез регулиране на вътреклетъчна сигнална пътека, също както активацията на ERK и p38 MAP-киназата и перманентно по-високата експресия на BCL2 и BCL-X<sub>L</sub>. ***CagA* действа като произлязъл от бактерия онкопротеин** при развитието на *H. pylori*-асоциирани гастроинтестинални и хематологични неоплазми чрез *Cag2*-медирана тирозин фосфорилация и последваща дерегулация на SHP-2.

Полиморфизмът на IL-22 играе важна роля при MALT-лимфома и експресията му е асоциирана с *H. pylori*-зависимост при стомашния MALT-лимфом. В допълнение към регулирането на имунния отговор от Tregs, инфекцията с *H. pylori* модулира експресията на Th17-хелпер свързаните цитокини.

**Асоциация на *H. pylori*-регулираните епигенетични промени и експресията на miRNA с туморигенезата на стомашния MALT-лимфом.** Епигенетичните и другите регулаторни процеси задвижват прогресията в ранните стадии на заболяването в по-голяма степен, отколкото генетичните процеси. Метилацията на циклин-зависимия киназен инхибитор p16 INK4a е ангажирана в прогресията на *H. pylori*-асоциирания стомашен MALT-лимфом. Тя се среща по-често при t(11;18)(q21;q21)-негативния стомашен MALT-лимфом. Метилацията на MAD2 е асоциирана с експресия на BCL10. Аномалната CpG-метилация на гените p16, MGMT и MINT31 е асоциирана с *H. pylori*-инфекция. Експресията на E2A, който предизвиква соматична хипермутация и блокира диференциацията на плазматичните клетки в MALT-лимфома, е асоциирана със значително по-високи нива на miRNA-223 експресия в туморните клетки. [3,4,9,10]

## ПАТОМОРФОЛОГИЯ

Морфологията е хетерогенна: центроцитоподобни клетки с неправилни ядра, моноцитоподобни клетки и малки В-лимфоцити. Доминираща може да е всяка от тях клетки или да има от всички клетки. Отличителна, но не патогномонична особеност на MALT-лимфома е наличието на променлив

брой лимфоепителиални лезии с данни за инвазия и частична деструкция на мукозните жлези от В-клетките на лимфома. Често има и немалигнени реактивни Т-клетки. Може да се намерят и пръснати трансформирани големи бластни клетки. [1,2,3,4,5]

## РЕКУРЕНТНИ ГЕНЕТИЧНИ АБЕРАЦИИ ПРИ MALT-ЛИМФОМ

1) **t(11;18)(q21;q21)** е най-честата структурна хромозомна аномалия. Среща се в 10 до 50% от случаите и резултира в реципрочна фузия на *BIRC3* на 11q21 с *MALT1* на 18q21. **Обичайна е при първичния стомашен MALT-лимфом, който отговаря слабо (<5%) на ерадираща антибиотична терапия и на алкилираща химиотерапия (но не и на ритуксимаб).** Среща се при по-напреднали случаи, както и при стомашния DLBCL-лимфом и е рядка при други локализации, с изключение на бял дроб.

2) **t(14;18)(q32;q21)** има в ~20% от случаите. **Асоциира се с MALT-лимфом на:** черен дроб, кожа, очни аднекси, бял дроб и слюнчни жлези. **Липсва при MALT-лимфом на:** стомах, черва, щитовидна жлеза и млечна жлеза. Изглежда цитогенетично идентична с транслокацията при фоликуларен лимфом, но дерегулира *MALT1*, вместо *BCL2*.

3) **t(1;14)(p22;q32)** има в под 5% от случаите. Детерминира свръхекспресия на *BCL10*.

4) **t(3;14)(p13;q32)** има в под 5% от случаите. Асоциирана е с MALT-лимфом на стомаха, слюнчните жлези и някои други локализации.

5) **3q+** се открива в 20-40%; не е намерена предпочитана локализация.

6) **18q+** се открива в 20-40%; не е намерена предпочитана локализация.

7) **del(6)(q23)** се открива в 15-30%; не е намерена предпочитана локализация. **Хомозиготни делеции на хромозомна лента 6q23**, ангажиращи *TNF-α*-индуцирания протеин 3 ген (*TNFAIP3*, *A20*), са описани при MZL (екстранодален, нодален или спленален) и при други лимфоми (първичен медиастинал В-клетъчен лимфом, болест на Hodgkin). *A20* като туморсупресорен ген е негативен регулатор на NF-κB-пътката, който се активира при транслокации t(11;18), t(1;14) и t(14;18). **Инактивацията на A20 от соматична мутация и/или делеция изглежда да е общата генетична аберация при всички субтипове MZL**, което е друг важен патогенетичен механизъм на лимфомагенезата чрез индуциране на NF-κB активация. *A20* делецията се среща преференциално при транслокация-негативните MALT-лимфоми на очните аднекси и слюнчните жлези. Описани са и други неслучайни хромозомни аномалии, чиято

роля в лимфомагенезата все още е неизвестна.

**Най-характерни са 3 от изброените рекурентни хромозомни аберации:** t(11;18)(q21;q21), t(1;14)(p22;q32) и t(14;18)(q32;q21), които засягат сигнална пътека на NK-κB. **Рекурентните транслокации при MALT-лимфом не се срещат при спленалните и нодални форми.** [1,7,8,9,10]

## ИМУНОФЕНОТИП НА MALT-ЛИМФОМА.

**Имунофенотипът е на нормални В-клетки от маргиналната зона на слезката, Пайеровите плаки и лимфните възли с хипермутация на *IGHV*-гените.** Туморните клетки типично експресират IgM, по-рядко IgA или IgG, показвайки лековерижна рестрикция. При IPSID плазматичните клетки и клетките от маргиналната зона експресират α-тежки вериги и леки вериги. **Туморните клетки са CD20+, CD79a+, CD5-, CD10-, CD23-, CD43+/-, CD11c+(слабо).** Някои случаи са CD5+. Лимфомните клетки експресират антигени асоциирани с маргиналната зона (CD21 и CD35). Маркирането за CD21 и CD35 типично показва развита мрежа от фоликуларни дендритни клетки, което кореспондира с колонизация на фоликулите. **Понастоящем няма специфичен маркер за MALT-лимфома. В диференцирането от другите дребноклетъчни В-клетъчни лимфоми помагат липсата на:** CD5 (диференцира повечето MCL и SLL); cyclin D1 (диференцира MCL) и CD10 (диференцира FCL). [1,2,3,4,5,10,11]

## КЛИНИЧНА КАРТИНА НА MALT-ЛИМФОМИТЕ

**Симптоматиката се определя от първичната локализация. Най-обичайната локализация на MALT-лимфома е стомаха - в над една трета от всички случаи. Други локализации са:** слюнчни жлези, щитовидна жлеза, горни дихателни пътища, бял дроб, очни придатъци (слъзни жлези, конюнктива, клепач, меки тъкани на орбитата), млечна жлеза, черен дроб, урогенитален тракт, кожа и други меки тъкани и dura mater. Авансирало заболяване с мултиорганна локализация към диагнозата се среща в до 25% от пациентите със стомашен MALT-лимфом и в около 50% от пациентите с не-стомашен MALT-лимфом. **MALT-лимфомите често се откриват в стадий I E по Ann-Arbor. Ангажирането на периферни лимфни възли е рядко. Костномозъчна инфилтрация има в до 20% от случаите.**

## СТОМАШЕН MALT-ЛИМФОМ

**Най-чести симптоми:** диспепсия, епигастрална болка, рефлукс, гадене, отслабване на тегло

и хроничен гастроинтестинален кръвоизлив. Често е ангажиран антрума, но може да са засегнати и други зони. **При ФГС** се виждат интрагастрални нодули, уголемени стомашни гънки, повърхностни неправилни ерозии или плиткы язвы. Болестта за дълго може да остане в първоначалната си локализация, но понякога се инфилтрират регионалните лимфни възли. **Най-често ангажирането е мултифокално, което обяснява честотата на рецидиви в стомашния чукан след хирургична ексцизия. Далечната дисеминация не е характерна.** Дисеминацията се среща в до 25% от случаите. Обичайно се ангажират костен мозък, тънко черво, черен дроб и слезка. Едновременно гастроинтестинално и друго ангажиране се открива в около 10% от случаите. Костномозъчна инфилтрация има в 10 до 15% от случаите. **Повишени LDH или  $\beta$ 2-микроглобулин, както и В-симптоматика, в началото на заболяването има извънредно рядко.** [4,5,12,13,14]

#### ДИАГНОЗА НА MALT-ЛИМФОМИТЕ

Необходимо е хистопатологично изследване на засегнатия орган, както и оценка за асоцииран едроклетъчен В-клетъчен лимфом чрез анализ на екстрафоликуларните компоненти за едроклетъчна трансформация.

**FISH или PCR за t(11;18)(q21;q21).** При такава транслокация вероятността за дисеминирано заболяване и липса на отговор на ерадиращата терапия е по-голяма.

**Изследване за H. pylori.** При стомашен MALT-лимфом то е задължително. **Неинвазивни методи:** уреен дихателен (breath) тест; фекален антигенен тест; серологично изследване. **Инвазивни методи:** бърз уреазен тест; идентификация в хистологична проба; микробиологично изследване на биопсичен

материал. Често при диагностицирането хистологичният тест и един друг тест вече са проведени. Ако и двата са негативни, се провежда серологичен тест. **При какъвто и да е позитивен тест пациентът следва да се разглежда като подходящ за ерадираща терапия.**

**Изследвания за други хронични инфекции.** При кожна локализация се изследва за *Borrelia burgdorferi*, при очни аднекси – за *Chlamidophila psittaci* и при тънкочревна локализация – за *Campylobacter jejuni*.

#### ДИАГНОСТИЧЕН ПАНЕЛ ПРИ СТОМАШЕН MALT-ЛИМФОМ

- **Имунохистохимия:** CD20, CD3, CD5, CD10, BCL2, kappa/lambda, CD21 или CD23, cyclin D1, BCL6 (**типичният имунофенотип при стомашен MALT лимфом е CD10–, CD5–, CD20+, cyclin D1–, BCL2 фоликули; типичният имунофенотип при не-стомашен MALT-лимфом е CD10–, CD5–, CD20+, CD23–/+, CD43 –/+, cyclin D1–, BCL2 фоликули**) или
- **Флоуцитометрия:** kappa/lambda, CD19, CD20, CD5, CD23, CD10.
- **Тест за H. pylori.** При позитивен тест – PCR или FISH за t(11;18). Локално авансирало заболяване е по-вероятно при t(11;18) с неповлияване от ерадикация.

#### СТАДИРАНЕ ПРИ MALT-ЛИМФОМ

Процедурите са както при NHL. При не-стомашна локализация се препоръчват пълни стадиращи процедури, включително MRI. Приложението на PET/CT е противоречиво. Стадирането е по класификацията от Ann Arbor, а при стомашния MALT-лимфом - по Lugano и TNM (Paris). (виж **Таблица №2**)

**Таблица №2: Стадиращи системи при стомашен MALT лимфом**

| Lugano                                       | AnnArbor       | TNM (Paris) | Разпространение    |
|----------------------------------------------|----------------|-------------|--------------------|
| I <sub>E1</sub> = мукоза, субмукоза          | I <sub>E</sub> | T1 N0 M0    | мукоза             |
|                                              |                | T1sm N0 M0  | субмукоза          |
| I <sub>E2</sub> = muscularis propria, сероза |                | T2 N0 M0    | muscularis propria |
| T3 N0 M0                                     |                | сероза      |                    |

|                                                                                                      |                  |              |                                                                      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------|
| II <sub>E1</sub> =локално нодално                                                                    | II <sub>E</sub>  | T1-3 N1 M0   | перигастрални<br>лимфни възли                                        |
| II <sub>E2</sub> =дистантно нодално                                                                  |                  | T1-3 N2 M0   | повече дистантни<br>лимфни възли                                     |
| II <sub>E</sub><br>пенетрация на серозата<br>и ангажиране на съседни<br>органи и тъкани              | II <sub>E</sub>  | T4 N0-2 M0   | инвазия<br>на съседни структури<br>с или без<br>коремни лимфни възли |
| IV<br>дисеминирано екстра-<br>нодално ангажиране<br>или съпътстващо<br>наддиафрагмално<br>ангажиране | III <sub>E</sub> | T1-4 N3 M0   | екстраабдоминални                                                    |
|                                                                                                      | IV               | T1-4 N0-3 M1 | л. възли и/или дистантни ГИТ-<br>локализации                         |
|                                                                                                      |                  | T1-4 N0-3 M2 | или<br>не-ГИТ-локализации зони                                       |

**T** = инфилтрацията на стомашната стена

**T1-4 N0-3 M0-2 BX** = костният мозък не е изследван

**T1-4 N0-3 M0-2 B0** = костният мозък не е ангажиран

**T1-4 N0-3 M0-2 B1** = костният мозък е ангажиран

#### ДОПЪЛНИТЕЛНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ ПРИ НЯКОИ ОБСТОЯТЕЛСТВА:

- **Молекулярен анализ:** генно реаранжиране на антигенните рецептори; *MYD88* мутационен статус за диференциране от макроглобулинемия на Waldenström и налична на плазматична диференциация. При стомашен MALT-лимфом: PCR за t(11;18).

#### • Цитогенетика или FISH:

-при стомашен MALT-лимфом: t(1;14); t(3;14); t(11;14) – не необходимо при позитивен cyclin D1; t(11;18);

- при не-стомашен MALT-лимфом: t(11;18), t(11;14), t(3;14).

- **FISH или PCR:** t(14;18).

#### Допълнителни изследвания се правят при:

**1. Стомашен MALT-лимфом:** ФГС с множествени стомашни биопсии от всички видими лезии и незасегнати зони и ендоскопско ултразвуково изследване на стомаха.

**2. Чревна ангажиране:** ФГС, ФКС и изследване на тънките черва.

**3. Белодробно ангажиране:** бронхоскопия и бронхоалвеоларен лаваж.

**Разширен панел инициални стадиращи процедури.** Някои автори препоръчват при

всички пациенти с диагностициран MALT-лимфом да се провежда ФКС с множествена биопсия, ендоскопско УНГ-изследване, MRI на слюнчните и слъзните жлези и биопсия на всяка съмнителна зона. [2,3,4,11,12,13,14]

**ИМУНОПРОЛИФЕРАТИВНА ТЪНКОЧРЕВНА БОЛЕСТ (IPSID).** Представлява особен и рядък подтип на MALT-лимфом с първично интестинално ангажиране. Етиологията е свързана с *Helicobacter heilmannii*. Засяга млади хора, предимно мъже. Основно се среща в Близкия Изток, особено в средиземноморската зона, където заболяването е ендемично. Обикновено се изяснява с тежка малабсорция. Характерно засяга тънките черва и регионалните лимфни възли. Рядко се разпространява извън абдомена - при напреднали стадии, когато може да трансформира в агресивен лимфом.

IPSID обикновено има пролонгирано, често многогодишно протичане. [4,5,12,13,14]

#### ЛЕЧЕНИЕ НА ПЪРВИЧЕН *Helicobacter pylori*- ПОЗИТИВЕН

##### СТОМАШЕН MALT-ЛИМФОМ

**Ерадикация на *H. pylori* трябва да се провежда при всички стомашни MALT лимфоми, независимо от стадия на заболяването. Тя може да е единствена инициална терапия**

**при локализиран и ограничен в стомаха *H. pylori*-позитивен стомашен MALT-лимфом. Следват се препоръките на Maastricht IV:**

**Тройна или четворна ерадираща терапия.** Лечението на инфекцията с *H. pylori* включва

инхибитор на протонната помпа, кларитромицин и амоксицилин или метронидазол за 14 дни, *или* инхибитор на протонната помпа, метронидазол, тетрациклин и бисмутов субцитрат за 14 дни. (виж **Таблица №3**).

**Таблица №3:** Стандартна ерадираща терапия на инфекция с *Helicobacter pylori*

| Тройна терапия (14 дни)                                                                                                                                                                                                                                              |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Инхибитор на протонната помпа (стандартна доза, 2 пъти дневно)</li> <li>• Кларитромицин (500 мг 2 пъти дневно)</li> <li>• Амоксицилин (1000 мг 2 пъти дневно) или метронидазол (500 мг 2 пъти дневно)</li> </ul>            |
| Четворна терапия (14 дни)                                                                                                                                                                                                                                            |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Инхибитор на протонната помпа (стандартна доза, 2 пъти дневно)</li> <li>• Метронидазол (500 мг 3 пъти дневно)</li> <li>• Тетрациклин (500 мг 4 пъти дневно)</li> <li>• Бисмутов субцитрат (120 мг 4 пъти дневно)</li> </ul> |

Четворната терапия е алтернативен първи избор в географски зони с преобладаване (>15-20%) на резистентност към кларитромицин или при пациенти, приемали макролидни антибиотици. Бисмут-съдържащата четворна терапия е най-добрият втори избор. Инхибитор на протонната помпа и амоксицилин или тетрациклин и метронидазол се препоръчват, ако не се разполага с бисмут.

**След 14-дневна терапия *H. pylori* се ерадира в 60 до 80% от пациентите. При неуспешна ерадикация се опитва алтернативна тройна или четворна терапия с инхибитор на протонната помпа и антибиотик.**

**При 30 до 40% от случаите след ерадикацията на *H. pylori* има персистенция или прогресия на лимфома.** След пълен отговор в ~15% настъпва рецидив до 3 години след лечението и при ~50% се налага провеждане на допълнителна терапия. [3,4,11,12,13]

**Проследяване след ерадираща терапия.** Извършва се най-рано 4 седмици след спиране на лечението, най-добре на втория месец. Дихателният тест и фекалният антигенен тест са неинвазивните методи, препоръчани за оценка ефекта от лечението. **Хистологичното изследване на повторни биопсии е основна проследяваща процедура. При пълна регресия повечето отговори са продължителни. Ремисията настъпва няколко до над 12 месеца след ерадиращата терапия.** Интерпретацията на резидуалните лимфоидни инфилтрати в биопсиите след проведено лечение

е трудна и няма единни критерии за хистологична ремисия. Препоръчва се проследяването с множествени биопсии да започне 8 до 12 седмици след приключване на ерадиращата терапия и да се провежда през 2 до 3 месеца или поне 2 пъти годишно за 2 години, след което - веднъж годишно. Някои автори не препоръчват биопсия на лигавица, която изглежда нормално. Може да има персистенция на PCR-детектираните моноклонални В-лимфоцити и след изчезване на хистологичните данни за MALT-лимфом, което означава, че ерадикацията на *H. pylori* супресира, но не ерадира лимфомния клон.

**В случай на персистенция, но при стабилна (минимална) резидуална болест, поведението тип watch-and-wait е обосновано. Няма данни, подкрепящи поддържаща терапия с ритуксимаб.** (Виж **Таблица №4**) [1,14,16,17,18]

**Таблица №4: Система GELA (Group d'Etude des Lymphomes de l'Adult) за дефиниране хистологичния отговор при стомашен MALT-лимфом след ерадираща терапия**

| ОТГОВОР     | ОПИСАНИЕ                             | ХАРАКТЕРИСТИКА                                                                                                                                    |
|-------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>CR</b>   | Пълна хистологична ремисия           | Нормална или „empty“ LP и/или фиброза с липсващи или пръснати плазматични клетки и малки лимфодидни клетки в LP; липсват LEL                      |
| <b>pMRD</b> | Вероятно минимална резидуална болест | „Empty“ LP и/или фиброза с агрегати от лимфоидни клетки или лимфоидни нодули в LP/MM и/или SM; липсват LEL                                        |
| <b>rRD</b>  | Отговаряща резидуална болест         | Фокално „empty“ LP и/или фиброза с плътни, дифузни или нодуларни лимфоидни инфилтрати, простиращи се около жлезите в LP; фокални или липсващи LEL |
| <b>NC</b>   | Без промяна                          | Плътни дифузни или нодуларни лимфоидни инфилтрати; обикновено има LEL                                                                             |

Съкращения: **LP** - lamina propria, **LEL** - лимфоепителиални лезии, **MM** - muscularis mucosae, **SM** -submucosa

**Резистентност към антибиотична терапия.** Предполага инвазия отвъд субмукозата и наличието на транслокация t(11;18). При липсващ или парциален отговор на антибиотичната терапия трябва да се обсъди хирургична или лъчетерапия.

**СТАДИЙ IА БЕЗ ДАННИ ЗА ИНФЕКЦИЯ С *H. pylori*.** Отговор на антибиотично лечение може има в ~25% от случаите поради това, че понякога инфекцията не може да бъде доказана (фалшиво негативен резултат, инфекция с *Helicobacter heilmannii* или друг неидентифициран бактерий). При неуспех се провежда алтернативна терапия (например лъчетерапия). [11,12,13,15,16]

**ЛОКАЛИЗИРАНО ЗАБОЛЯВАНЕ. Хирургичната терапия не дава по-добри резултати от съхраняващите органа стратегии. Стомашният MALT-лимфом е мултифокално заболяване и адекватната гастректомия трябва да е доста екстензивна, което значително уврежда качеството на живот.** Резидуална болест на оперативния разрез може да изисква допълнителна лъче- и/или химиотерапия.

**I и II СТАДИЙ НА СТОМАШЕН MALT-ЛИМФОМ БЕЗ ИНФЕКЦИЯ С *H. pylori* ИЛИ ПЕРСИСТИРАЩ ЛИМФОМ СЛЕД ЕРАДИКАЦИЯ. Средство на избор е involved-field лъчетерапията.** Конформалната тридименсионална (intensity-modulated) лъчетерапия намалява лъчевата

токсичност за нормалната стомашна мукоза и нетаргетните органи и дава отлични резултати при умерени дози (25-35 Gy за 4 седмици за стомаха и перигастрални лимфни възли).

**Стомашният MALT-лимфом е екстремно чувствителен към ниски дози лъчетерапия.** Като единствено лечение пълни ремисии се постигат в 96-100%, 10-годишна свободна от рецидив преживяемост в 77% и 10-годишна обща преживяемост в 87% от случаите. Повечето рецидиви настъпват в първите 5 години от проследяването.

#### **ДИСЕМИНИРАНО И/ИЛИ ПРОГРЕСИРАЩО ЗАБОЛЯВАНЕ.**

За всички варианти на MZL химиотерапията, имунотерапията, поддържащата имунотерапия и консолидиращата терапия са както при напреднал фоликуларен лимфом. **Високодозовата терапия и автоложната SCT при дисеминирано заболяване дават резултати подобни на тези при фоликуларен лимфом.** [1,4,5,12,13,14,20,22]

#### **ТРАНСФОРМАЦИЯ В DLBCL.**

Провежда се лечение по алгоритмите за DLBCL.

## АСИМПТОМНИ ПАЦИЕНТИ С ДИСЕМИНИРАНО ЗАБОЛЯВАНЕ.

Както при другите индолентни лимфоми, първоначалното поведение може да е watch-and-wait.

## СИМПТОМАТИЧНИ ПАЦИЕНТИ И НЕВЪЗМОЖНОСТ ЗА ЛЪЧЕТЕРАПИЯ

(например чернодробна инфилтрация или множествени белодробни лезии).

Показана е химиотерапия и/или имунотерапия с анти-CD20 моноклонални антитела. **Ритуксимаб** е ефективен при стомашни и не-стомашни локализации и дава отговор при ~70% от пациентите, което е допълнителна опция при системно заболяване. Прилагат се **алкилиращи агенти** (хлорамбуцил, циклофосфамид, бендамустин) като монотерапия или в комбинация. **Ефективна е комбинацията от хлорамбуцил, митоксантрон и преднизон. Пуриновите аналози флударабин и кладрибин** също са активни, но са свързани с повишен риск от вторичен MDS. Прилагана е **таргетна терапия с бортезомиб** в доза 1,3-1,5 mg/m<sup>2</sup> – 4 апликации за 3-седмично лечение. **Агресивна антрациклин базирана терапия** се провежда при пациенти с голям туморен обем.

## ЛЕЧЕНИЕ НА ИМУНОПРОЛИФЕРАТИВНА ТЪНКОЧРЕВНА БОЛЕСТ (IPSID).

Заболяването има **потенциално обратима ранна фаза**, когато антибиотичното лечение с еритромицин или флуорохинолони може да доведе до регресия на лимфома.

**В напредналите стадии** се прилагат антрациклин базирани режими с нутриционална поддръжка и антибиотици за контрол на диарията и малабсорбцията. [4,5,12,14]

## ТЕРАПЕВТИЧНИ ПЕРСПЕКТИВИ.

BCR-сигналните инхибитори (ибрутиниб), PI3K-инхибитори (копанлисиб), Y<sup>90</sup>-ибритумомаб тиуксетан и имуномодулиращи медикаменти (леналидомид) дават окуражаващи резултати. [1,4,5,12,14,21]

## ПРОТИЧАНЕ НА MALT-ЛИМФОМИТЕ.

Независимо от честите рецидиви, MALT-лимфомите от всяка локализация най-често поддържат индолентен ход с 5-годишна преживяемост над 85%. 5-годишната свободна от прогресия преживяемост е 88%. **Дисеминацията в множество мукозни зони, но без ангажиране на лимфни възли и костен мозък, най-често не повлиява изхода на заболяването.** Медианата на времето до прогресия е по-добра при гастроинтестиналните, отколкото при останалите MALT-лимфоми, но без значими разлики в общата

преживяемост при двете групи. Рецидивите може да засегнат различни екстранодални или нодални локализации. Не стомашните MALT-лимфоми имат тенденция за по-честа прогресия.

**Трансформация в агресивен лимфом.** Трансформация в едроклетъчен лимфом настъпва в ~10% от случаите, най-често късно в еволюцията на болестта и независимо от дисеминацията. Особено при първична стомашна локализация, рискът, сравнен с другите индолентни подтипове е по-нисък. Рискът за аденокарцином на стомаха след MALT-лимфом е 6 пъти по-голям, сравнен с общата популация и е най-висок за пациентите под 60 годишна възраст. [6,8,12,13,14,16]

## НЕБЛАГОПРИЯТНИ ПРОГНОСТИЧНИ ФАКТОРИ

Лош performance status, B-симптоматика, напреднала възраст, мъжки пол, голям туморен обем, повишени LDH и β2-микроглобулин, намален серумен албумин и наличието на едроклетъчна компонента при диагнозата. FLIPI има висока прогностична стойност. (**Таблица №5**) [1,4,5,6,8,9,13]

**Таблица №5:** Молекулярни и биологични маркери за предикция на *Helicobacter pylori*-зависим статус в ранен стадий на стомашен MALT-лимфом

| ОТГОВОР НА ЕРАДИКИРАЩАТА ТЕРАПИЯ               | МАРКЕРИ                | МЕТОДИ          |
|------------------------------------------------|------------------------|-----------------|
| <b><i>Helicobacter pylori</i>-зависим</b>      |                        |                 |
| Костимулаторни молекули                        | CD86 (B7.2)            | IHC             |
| CD4+CD56+ Tregs                                | FOXP3                  | IHC             |
| Метилация                                      | p16 <sup>INK4A</sup>   | PCR             |
| <i>Helicobacter pylori</i> -специфичен протеин | CagA протеин           | IHC             |
| <i>Helicobacter pylori</i> -специфичен протеин | CagA-IgG антитяло      | ELISA           |
| <b><i>Helicobacter pylori</i>-независим</b>    |                        |                 |
| Хромозома                                      | t(11;18)(q21;q21)      | RT-PCR или FISH |
| Хромозома                                      | t(1;14)(p22;q32)       | FISH            |
| Протеин                                        | BCL10-ядрена експресия | IHC             |
| Хемокин/хемокинен рецептор                     | CXCR3                  | IHC             |
| Метилация                                      | MAD2                   | PCR             |
| mRNA                                           | E2A                    | miRNA RT-PCR    |
| mRNA                                           | miR-203                | miRNA RT-PCR    |
| mRNA                                           | miR-145-5p и miR-145   | miRNA RT-PCR    |

#### МАРГИНАЛНОЗОНОВ КОЖЕН ЛИМФОМ (MZCL, PCMZL)

**ДЕФИНИЦИЯ.** Представява MZL с кожно ангажиране, който при диагнозата и след адекватно стадияне е без данни за дисеминация или екстранодално ангажиране. MZCL е втора по честота локализация на MZL след стомашната. Съставлява 25% от кожните В-клетъчни лимфоми и 11% от екстранодалните MZL. **ЕТИОЛОГИЯ.** MZCL може да се развие от реактивни инфилтрати вследствие на имунни отговори към външни фактори или към автоантигени. При някои случаи се демонстрира етиопатогенна връзка с *Borrelia burgdorferi* (в Европа) или HCV. **МОРФОЛОГИЯ И ИМУНОФЕНОТИП.** Характерна е клоналната пролиферация на малки центроцитоподобни В-лимфоцити, включително от маргиналната зона, лимфоплазматични и плазматични клетки. Налице са останки от реактивни герминативни центрове, колонизирани от туморни клетки и реактивни Т-клетки. Наблюдават се нодуларни или дифузни неепидермотропни инфилтрати.

**Типичният имунофенотип** е CD20+, BCL2+/-, CD10-, BCL6-, IRF4/MUM1+/-, в около 40%

цитоплазмени к+ или λ+. Други маркери са CD19+, CD22+, CD43+, CD79a+, CD5-, CD23-, KiM1p+ (антитяло на моноцитогенни В-клетки), което улеснява диференцирането с първичните кожни лимфоми от фоликуларния център и кожните лимфоидни хиперплазии (псевдолимфоми). Плазматичните клетки често са разположени по периферията на инфилтратите и в повечето случаи са с клонално реаранжиране на цитоплазматични имуноглобулинови леки вериги (по-често κ, отколкото λ). Плазмоцитогенните клетки може да присъстват като конфлуирани агрегати. Може да има различен брой реактивни CD3+ клетки. При някои случаи може да има клъстери от CD123+ плазмоцитогенни дендритни клетки. Налице е клонален реаранжмент на *IGHV*. FISH и другите цитогенетични техники рядко показват рекурентните хромозомни аберации, известни при MALT-лимфомите.

**КЛИНИЧНА КАРТИНА.** MZCL се проявява с розови до червеникави куполообразни папули, нодули или еритематозни плаки, най-често разположени по трупа и (горните) крайници, а по-рядко по главата и шията. Секундерните лезии може да дадат разнообразни находки, включително липоатрофия. Обикновено няма системни симптоми. Заболяването е с индолентен ход.

Наблюдават се ~30% екстракутанни рецидиви. Рядко трансформира в агресивен лимфом. Възрастовата медиана на поява е 50 години, но са описани и случаи при деца. 5-годишната преживяемост е почти 100%. **ДИАГНОСТИЧЕН ПАНЕЛ:** CD20, CD3, CD5, CD10, BCL2, BCL6,

IRF4/MUM1.

**ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА НА КОЖНИТЕ В-КЛЕТЪЧНИ ЛИМФОМИ –ИМУНОЛОГИЧНИ МАРКЕРИ.** Виж **Таблица №6.**

**Таблица №6:** Диференциална диагноза на кожните В-клетъчни лимфоми

| Тип лимфом               | Bcl-2 | Bcl-6 | CD10  | t(14;18) | MUM1/IRF4 |
|--------------------------|-------|-------|-------|----------|-----------|
| <b>MZL/имуноцитом</b>    | +     | –     | –     | –        | –         |
| <b>Фоликуларен (FCL)</b> | –     | +     | + / – | –        | –         |
| <b>Вторичен FCL</b>      | +     | +     | +     | +        | –         |
| <b>DLBCL</b>             | ++    | +     | –     | – / +    | +         |
| <b>Псевдолимфома</b>     | –     | +     | +     | –        | –         |

**ЛЕЧЕНИЕ:** Прогнозата е добра и е важно да се избегне свръхлечението.

При асимптомни мултифокални лезии може да се приложи поведение тип watch-and-wait. Ранното диагностициране е ключово, защото лечението на първичната причина може да доведе до регресия на лимфома.

**ЛЕЧЕНИЕ ОТ ПЪРВА ЛИНИЯ ПРИ СОЛИТАРНИ ЛЕЗИИ:** хирургическа ексцизия, антибиотична терапия и лъчетерапия.

**ЛЕЧЕНИЕ ОТ ПЪРВА ЛИНИЯ ПРИ МУЛТИПЛЕНИ ЛЕЗИИ:** антибиотична терапия и лъчетерапия. Хирургическа ексцизия не е показана.

**АНТИБИОТИЧНО ЛЕЧЕНИЕ ПРИ *Borrelia burgdorferi*-СВЪРЗАНИ СЛУЧАИ.**

Провежда се с доксициклин по 100 mg 2 пъти дневно или амоксицилин в продължение на 3 седмици или с пулсова терапия с цефотаксим.

**ЛЪЧЕТЕРАПИЯ.** Самостоятелно приложена дава 98% локален контрол и включва:

- 20-100 kV ортоволтна терапия 1 до 4 пъти седмично до обща доза 15-20 Gy.

Extended-field 30 Gy (4 фракции по 2,5 Gy/седмично).

- Локална лъчетерапия като boost-терапия след extended-field лъчетерапия или като дефинитивна терапия.

- Енергии от 45 kV филтрирани от 0,55 алуминий за малки лезии в дълбочина или по-високи енергии ( $\leq 100$  kV) за дълбоки лезии; дозата е 30 до 40 Gy (на фракции по 2 Gy/седмично)

**ЛЕЧЕНИЕ ОТ ВТОРА ЛИНИЯ ПРИ СОЛИТАРНИ ЛЕЗИИ:**

- Глюкокортикостероиди интралезионно.

- Ритуксимаб интралезионно: 2-3 пъти седмично при единична доза 1 до 3 ml готов разтвор (10 mg/ml) или 3 пъти седмично по 3 ml приготвен разтвор (10 mg/ml); лечението се провежда 6 пъти на всеки 26 дни.

- $\alpha$ -интерферон интралезионно: 3 и 9 милиона U подкожно (на седмична база) или 9 милиона U 3 пъти седмично.

**ЛЕЧЕНИЕ ОТ ВТОРА ЛИНИЯ ПРИ МНОЖЕСТВЕНИ ЛЕЗИИ:**

- $\alpha$ -интерферон интралезионно: 3 и 9 милиона U подкожно (на седмична база) или 9 милиона U 3 пъти седмично.

- Ритуксимаб интралезионно: 2-3 пъти седмично при единична доза 1 до 3 ml готов разтвор (10 mg/ml) или 3 пъти седмично по 3 ml приготвен разтвор (10 mg/ml); лечението се провежда 6 пъти на всеки 26 дни.

- Ритуксимаб венозно по 375 mg/m<sup>2</sup> седмично за 4 седмици.

**ЕКСТРАКУТАННА ДИСЕМИНАЦИЯ.** Провежда се агресивна системна терапия, както при първичен нодален В-клетъчен лимфом.

**ПОДКОЖЕН “lipoma-like” EMZL.** Среща се предимно при възрастни жени с HCV-инфекция. Характерно засяга подкожните тъкани, но не кожата и кожните придатъци. Типичните лезии са единични мековати и подвижни подкожни възли под нормално изглеждаща кожа. Клиничният ход е индолентен. Обективна регресия на лимфома е наблюдавана след ерадикация на вируса с пегилиран  $\alpha$ -интерферон и рибавирин. [1,4,5,12,13,22,23,24]

## BALT ЛИМФОМ

**Представява най-срещаната форма на първичен белодробен лимфом.** Възрастовата медиана към диагнозата е 50-60 години (под 30 години е рядък). Може да е коморбиден с автоимунни или инфекциозни заболявания (синдром на Sjögren, ревматоиден артрит, колагенози, инфекция с *H. pylori* и HIV). ***Achromobacter xylosoxidans*** се изолира при 46% от случаите. Обикновено протича без

симптоматика или с неспецифични клинични изяви като кашлица, лека диспнея, болка в гръдния кош и понякога хемоптиза. При образната диагностика се откриват единични или множествени пулмонални нодули или консолидации. Унилатералното ангажиране е по-често от билатералното. **Лезиите обикновено са периферно разположени.** Асоциирана находка е засенчване тип „матово стъкло“ като хало около границите на лезията. Може да се наблюдава перибронховаскуларно задебеляване поради наличие на хилусни или медиастинални лимфни възли и задебеляване на плеврата или плеврален излив. **Наличието на други екстранодални локализации е необичайно.** Диагнозата се поставя след хистологично изследване на биопсична проба от минимално инвазивна процедура. Понякога полученият материал е недостатъчен за адекватна диагноза и се налага хирургическа биопсия. Имунохистохимичното изследване е от ключово значение за точната диагноза.

Типично BALT лимфомът има индолентен ход и добра прогноза. Може да има дисеминирано заболяване и трансформация в агресивен В-клетъчен лимфом.

**При отсъствие на симптоматика поведението е watch-and-wait. Лечението е хирургично, ако лимфомът е резектабилен.** Лъчетерапията трябва да се провежда много прецизно поради опасностите от увреждане на белия дроб. Прилага се ритуксимаб, самостоятелно или комбинирано с химиотерапия. Показана е и химиотерапия с флударабин и митоксантрон, както и с хлорамбуцил.

5-годишната преживяемост е 84-94%, а 10-годишната – 72%. [1,5,6,14,26,27,28]

#### МАЛТ-ЛИМФОМ НА ЩИТОВИДНАТА ЖЛЕЗА

Типичната проява е бързо растяща струма с компресивни симптоми. Ултразвуковото изследване и цитологията от тънкоиглена аспирационна биопсия или прицелна соге-биопсия с флоуцитометрия и имунохистохимия са основни методи за диагностика и все повече ограничават ролята на хирургичната биопсия. Заболяването се открива и след тиреоидектомия по някакъв друг повод. **При стадий I E може да не изисква адювантна терапия.** Обикновено следва индолентен ход и най-често се представя в начален клиничен стадий. **Хирургичното лечение е противопоказано при стадий по-висок от I E, при bulky-тумор над 10 cm и при наличие на смесен тумор, но понякога се налага като палиация** при критични състояния с обструкция на горните дихателни пътища. **Локална лъчетерапия** на шията и горния медиастиnum е показана само при стадий

I E и може да постигне отличен локален контрол. Лъчетерапията тип extended field дава почти 2 пъти по-малко локални рецидиви, сравнено с involved field. При дисеминирано заболяване се прилага комбинирана химиотерапия и ритуксимаб.

5-годишната свободна от заболяване преживяемост е 96%. [4,5,13,28]

#### МАЛТ-ЛИМФОМ НА ОЧНИТЕ АДНЕКСИ

Среща се предимно при възрастни в пета до седма декада. Най-често е засегната булбарната конюнктивата. Често оплакванията са минимални, което забавя диагнозата. Обикновено лезията е локализирана, но при малък брой пациенти заболяването вече е генерализирано. Представя се като неболезнена, розовееща и с гладка повърхност зона. Може да изглежда и като мултинодуларна лезия или като фоликуларен конюнктивит. Има зачервяване на конюнктивата, иритация и ексцесивно сълзене. Може да има палпираща се маса, птоза или диплопия. Масата е билатерална в 20 до 38% от случаите. Диагнозата се поставя след биопсия, а флоуцитометрията и изследването за генно реаранжиране на свежа тъканна проба са задължителни. **Биопсират се и двете очи.** При клинично неагажирано око трябва да се проведе долна форникална биопсия. При стадирането задължителни са MRI на орбита и мозък и костномозъчна биопсия.

##### Локализирано заболяване:

**Лъчетерапията тип EBRT** (external-beam radiotherapy) **30 до 36 Gy фракционирано за 20 дни по 1,8 Gy е основна терапия.** Потенциални усложнения са ксерофталмия, кератит, катаракта и ретинопатия. Пълни ремисии се постигат в над 90%, повечето от които са продължителни.

**α-2b-интерферон интралезионно.** Постигани са пълни ремисии с 8-седмично лечение.

**Ритуксимаб интралезионно в комбинация с автоложен серум.** Може да доведе до пълни ремисии.

**Ексцизия.** Може да е достатъчно лечение, ако конюнктивалната лезия е относително малка и резектабилна, при внимателно наблюдение. Без адювантна терапия има висок риск от рецидив поради субклинична инвазия на околните тъкани.

**Антибиотична терапия.** Доксициклин 100 mg дневно за 3 седмици е ефективен при ~80% от случаите, независимо от данните за географско вариране на връзката с инфекция от *Chlamidophila psittaci* и евентуална роля на друг етиопатогенетичен агент. Регресия на лимфома е наблюдавана и при някои лимфоми без данни за инфекция с *Chlamidophila psittaci*, както и при неуспешна ерадикация на *Chlamidophila psittaci*.

**γ<sup>90</sup>-ибритумомаб тиуксетан.** Висок процент пълни ремисии (83%) е постиган при пациенти в

стадий I E. Странични ефекти и тежки цитопении настъпват рядко.

**Системно заболяване:** Не е разработен стандарт за лечение. Прилага се моно- или полихимиотерапия, най-добре в съчетание с ритуксимаб.

**Прогноза.** Заболяването е с индолентен ход. Прогнозата при локализираните стадии е много добра с 93% 5-годишна преживяемост. [1,13,29,30,31]

#### МАЛТ-ЛИМФОМ НА СЛЮНЧНИТЕ ЖЛЕЗИ

Среща се при възрастни над 50 години при преобладаване на женския пол (72,98%). Паротидната жлеза е ангажирана в 80,87% от случаите. При стадиране по Ann Arbor в стадий I E са 53,85%; стадий II E – 18,54%; III E и IV стадий 10,06%. Няма разлики в резултатите от лечението с хирургическа интервенция, лъчетерапия или и с двете. Общата 15-годишна преживяемост е 78,4%. Ранните стадии се повлияват от унимодална терапия. Прогностично неблагоприятни са стадии III E и IV. [13,32]

#### БИБЛИОГРАФИЯ

1. Emanuele Zucca, Francesco Bertoni. The spectrum of MALT lymphoma at different sites: biological and therapeutic relevance. *Blood* (127)17; 2082-2092; 28 April 2016
2. Campo E, Swerdlow S, et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*, (117)19; 5019-5032; 2011
3. Andrew C Wotherspoon. Extranodal and splenic small B-cell lymphoma *Modern Pathology* 26; 29-41; 2013
4. Zinzani PL. The many faces of marginal zone lymphoma. *ASH Edu Book* 426-432; 2012
5. Kahl B, Yang D. Marginal Zone Lymphomas: Management of Nodal, Splenic, and MALT NHL. *ASH Edu Book* 359-363; 2008
6. Heilgeist A, McClanahan F, Ho AD, Witzens-Harig M. Prognostic value of the Follicular Lymphoma International Prognostic Index score in marginal zone lymphoma: an analysis of clinical presentation and outcome in 144 patients. *Cancer* 119:99; 2013
7. Khalil MO, Morton LM, Devesa SS, et al. Incidence of marginal zone lymphoma in the United States, 2001-2009 with a focus on primary anatomic site. *Br J Haematol* 165:67; 2014
8. Rinaldi A, Mian M, Chigrinova E, et al. Genome-wide DNA profiling of marginal zone lymphomas identifies subtype-specific lesions with an impact on the clinical outcome *Blood* 117:1595; 2011
9. Olszewski AJ, Castillo JJ. Survival of patients with marginal zone lymphoma: analysis of the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* 119:629; 2013
10. Sung-Hsin Kuo, Ann-Lii Cheng. *Helicobacter pylori* and mucosa-associated lymphoid tissue: what's new. *ASH Edu Book* 109-117; 2013
11. Novak U, Basso K, Pasqualucci L, et al. Genomic analysis of non-splenic marginal zone lymphomas (MZL) indicates similarities between nodal and extranodal MZL and supports their derivation from memory B-cells. *Br J Haematol* 155:362; 2011
12. Kuper-Hommel MJ, van de Schans SA, Vreugdenhil G, et al. Trends in incidence, therapy and outcome of localized nodal and extranodal marginal zone lymphomas: declining incidence and inferior outcome for gastrointestinal sites. *Leuk Lymphoma* 54:1891; 2013
13. Dreyling M, Thieblemont C, et al. ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol.* 24(4):857-77; Apr 2013
14. Zucca E, Copie-Bergman C, Ricardi U, Thieblemont C, Raderer M, Ladetto M. Gastric marginal zone lymphoma of MALT type: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 24 Suppl 6;144-8; Oct 2013
15. Ganapathi KA et al. Early lymphoid lesions: conceptual, diagnostic and clinical challenges. *Haematologica.* 99(9), 1421-1432; 2014
16. Peter Malfertheiner, Francis Megraud, Colm A O'Morain, et al. Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht IV/ Florence

Consensus Report. *Gut*; 61:646-664; 2012

17. Seung Tae Lee, Purnima Teegavarupu, et al. Antibiotic Therapy of H. Pylori Negative Gastric MALT Lymphoma. *Blood Volume* 124(21):1735-1735; December 6, 2014
18. Capelle LG, de Vries AC, Looman CW, et al: Gastric MALT lymphoma: Epidemiology and high adenocarcinoma risk in a nation-wide study. *Eur J Cancer* 44:2470, 2008
19. Olszewski AJ, Desai A. Radiation therapy administration and survival in stage I/II extranodal marginal zone B-cell lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 88:642; 2014
20. Zucca E, Conconi A, Laszlo D, et al. Addition of rituximab to chlorambucil produces superior event-free survival in the treatment of patients with extranodal marginal-zone B-cell lymphoma: 5-year analysis of the IELSG-19 Randomized Study. *J Clin Oncol* 31:565; 2013
21. Conconi A, Martinelli G, Lopez-Guillermo A, et al. Clinical activity of bortezomib in relapsed/refractory MALT lymphomas: results of a phase II study of the International Extranodal Lymphoma Study Group (IELSG). *Ann Oncol* 22:689; 2011
22. Fabrizio Marcucci, Alfonso Mele. Hepatitis viruses and non-Hodgkin lymphoma: epidemiology, mechanisms of tumorigenesis, and therapeutic opportunities *Blood*, (117)6; 1792-1798; 2011
23. Barbara Vannata, Emanuele Zucca. Hepatitis C virus-associated B-cell non-Hodgkin lymphomas. *ASH Edu Book* 590-598; 2014
24. Ryan A. Wilcox. Cutaneous B-cell lymphomas: 2015 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American Journal of Hematology*, (90)1,73-76; January 2015
25. Borie R, Wislez M, Thabut G, et al. Clinical characteristics and prognostic factors of pulmonary MALT lymphoma. *Eur Respir J* 34:1408; 2009
26. Lintao Bi, Jun Li, Wang Dan and Zhenxia Lu. Pulmonary MALT lymphoma: A case report and review of the literature. *Experimental and therapeutic medicine* 9: 147-150, 2015
27. Nozomi Iwamoto, Mitsuaki Ishida et al. Pulmonary marginal zone B-cell lymphoma of MALT type: A Cytological Report With Emphasis on the Usefulness of Detection of Lymphoepithelial Lesion. *Diagnostic Cytopathology* 42(10); 915–918, October 2014
28. Siun Walsh, Aoife J. Lowery et al. Thyroid Lymphoma: Recent Advances in Diagnosis and Optimal Management Strategies. *The Oncologist* 18:994-1003; 2013
29. Julia Sein, Alexandra Stefanovic et al. Diagnosis and Treatment of Conjunctival Lymphoma. *Eynet* 41-43; September 2012
30. Ferreri AJ, Govi S, Pasini E, et al. Chlamydophila psittaci eradication with doxycycline as first-line targeted therapy for ocular adnexal lymphoma: final results of an international phase II trial. *J Clin Oncol* 30:2988; 2012
31. Harada K, Murakami N, et al. Localized ocular adnexal mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma treated with radiation therapy: a long-term outcome in 86 patients with 104 treated eyes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 88(3):650-4; 2014
32. Alexandro Vazquez, Mohemmed N Kahn, et al. Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue of the salivary glands: A population-based study from 1994 to 2009. *Head&Neck* 37:18-22; 2015

**Адрес за кореспонденция:**

Д-р Юрий Жечев

Клиника по хематология

СБАЛХЗ – ЕАД, София

Ул. „Пловдивско поле“ №6

1756 София

e-mail: azurium@abv.bg

Сл. телефон: 02/ 9701128

GSM: +359 879 104 922

# МАРГИНАЛНОЗОНОВИ ЛИМФОМИ – II ЧАСТ

Ю. Жечев

Клиника по хематология, СБАЛХЗ – София

## MARGINAL ZONE LYMPHOMAS – PART II

Y. Zhechev

Clinic of Hematology, SBALHZ – Sofia

**Резюме.** Маргиналнозоновите лимфоми (**MZL**) представляват група от различни заболявания, които имат някои общи морфологични особености и микрообкръжение и различни клинична картина, молекулярна патогенеза и лечение. Спленалният MZL (**SMZL**) съставлява около 20% от всички MZL. Типично пациентите се представят с увеличена слезка и ангажиране на абдоминалните лимфни възли и костния мозък. Около 40% от SMZL са асоциирани с делеции на хромозома 7q. Нодалният MZL (**NMZL**) се среща по-рядко и съставлява около 10% от всички MZL. Пациентите с NMZL имат заболяване на лимфните възли без ангажиране на слезката или екстранодални локализации. Молекулярната патогенеза на NMZL все още е неизвестна. Тема на втората част на обзора са главните морфологични и имунофенотипни маркери, клиничната картина, диференциалната диагноза, специфичните прогностични фактори, терапевтичните протоколи и оптималното лечение на SMZL и NMZL.

**Ключови думи:** маргиналнозонови лимфоми, спленален маргиналнозонов лимфом, нодален маргиналнозонов лимфом, прогностични фактори, оптимално лечение

**Summary.** Marginal zone lymphomas (**MZL**) represent a group of different diseases with some common morphological features and environmental findings and different clinical presentation, molecular pathogenesis and treatment. Splenic MZL (**SMZL**) accounts for approximately 20% of all MZL. Patients typically present with an enlarged spleen and involvement of abdominal lymph nodes and bone marrow. Approximately 40% of SMZL are associated with deletions of chromosome 7q. Nodal MZL (**NMZL**) is the less common entity, representing approximately 10% of all MZL. Patients with NMZL have lymph node-based disease without involvement of the spleen or extranodal sites. The molecular pathogenesis of NMZL is still unknown. The topics of the second part of this review are main morphological and immunophenotypical markers, clinical presentation, differential diagnosis, specific prognostic factors, therapeutic protocols and optimal treatment of SMZL and NMZL.

**Key words:** marginal zone lymphomas, splenic marginal zone lymphoma, nodal marginal zone lymphoma, prognostic factors, optimal treatment

### СПЛЕНАЛЕН МАРГИНАЛНОЗОНОВ ЛИМФОМ (SMZL)

**ДЕФИНИЦИЯ.** Индолентна В-клетъчна неоплазия, която е съставена предимно от малки лимфоцити, засяга фоликулите от бялата пулпа на слезката, лимфните възли в хилуса на слезката, костния мозък и често периферната кръв. Когато циркулиращите вилонезни лимфоцити са над 20% от лимфоцитния брой, се ползва термина **спленален лимфом с вилонезни лимфоцити**. SMZL съставлява под 2% от лимфомите и е най-честият лимфом, който засяга главно слезката. За първи път е описан през 1992 г. от Schmid, Kirkham, Diss и Isaacson. Преобладават пациенти над 50 години с пик в седмата декада и възрастова медиана 65 години. По-чест е при жени (1,8:1).

Спленомегалията е отличителен белег. Анемия и В-симптоматика има рядко. Медианата на преживяемост е над 10 години. Клиничният ход е индолентен, но понякога може да е агресивен.

**ЕТИОЛОГИЯ.** Асоциация с носителство на HCV има в 10-36% от случаите, особено в ендемични зони (Южна Италия, Япония и южните САЩ). Ерадикираща антивирусна терапия може да доведе до ремисия. SMZL, асоцииран с HCV, е неразличим от класическия SMZL, освен репликацията на HCV и съпровождащата хепатопатия.

**ПАТОГЕНЕЗА.** Патогенезата на SMZL е неизвестна. SMZL произхожда от memory-B-клетките в маргиналната зона. При повечето случаи има постгерминален произход при немутирани *IGHV* в почти една трета от случаите.

SMZL показва ниска честота на соматични мутации на някои онкогени (*BCL-6*, *PAX5*, *PIM1* и *RHO-H*) и особена пътека на диференциация, която не включва транзит през герминативния център. При една особена форма на SMZL с вилонни лимфоцити, която е свързана с HCV-инфекция, има криоглобулинемия тип II. [1,2,3,4, 5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17]

**ХИСТОЛОГИЯ НА СЛЕЗКАТА.** Една централна зона от „лимфоцитоподобни“ лимфомни клетки (малки лимфоцити, подобни на тези в центъра на фоликулите на слезката) огражда и/или замества реактивния герминативен център в бялата пулпа на слезката, обикновено с централен резидуален герминативен център. Тази зона граничи с периферна зона от средно големи клетки (моноцитоподобни/маргиналнозоновоподобни) и пръснати големи бласти. Впоследствие лимфомът прогресира към червената пулпа под формата на неправилен или микронодуларен инфилтрат, който често се разпространява към синусите. В агрегатите от лимфоиди може да се наблюдават пръснати хистиоцити. В някои случаи лимфомните нодули се състоят само от маргиналнозоновоподобни клетки. Лимфомните клетки може да показват различна степен на плазмоцитна диференциация, което често е изразено при асоциираните с автоимунна болест случаи (напр. автоимунна хемолитична анемия). Хилусните лимфни възли на слезката може да са ангажирани с наличие на неясни нодуларни инфилтрати, които са базирани на предходни фоликули.

**КОСТЕН МОЗЪК.** Ангажирането е под формата на микронодуларни, интерстициални и понякога паратрабекуларни инфилтрати. Среща се и интрасинусоидален модел на инфилтрация, какъвто може да има и при NMZL. Рядко има изключително синусоидална костномозъчна локализация. [2,13,14,15,16,17,18]

**ИМУНОФЕНОТИП.** SMZL експресира повърхностен IgM и обичайно IgD и е с фенотип CD20+, CD79a+, CD5–, CD10–, CD23–, CD43–, appexin A1– и DBA44–. Обичайно, но не винаги, CD103 е негативен. Не се експресира cyclin D1. Ki67 обикновено е с ниска експресия, но може да бъде акцентуиран в центъра на нодулите от бялата пулпа и периферно по таргетовиден модел на оцветяване. Отсъствието на cyclin D1 и не честата (15-25%) експресия на CD5 помагат при изключването на MCL и респективно на CLL. Съобразно Matutes score, почти при всички случаи на SMZL, точките са от 0 до 2 – фенотип, който не се наблюдава при CLL.

**ИМУНОГЛОБУЛИНОВИ ГЕНИ.** *IGHV* и мутационния му товар при SMZL показват хетерогенността на лимфома. *IGHV1*, *IGHV3* и *IGHV 4* генни фамилии са с честота съответно 30%, 56% и 14%. Най-често срещани са *IGHV 1-2*, *IGHV*

*3-23*, *IGHV 3-30* и *IGHV 4-14*. *IGHV* не е мутирала в 25% от случаите.

**ЦИТОГЕНЕТИКА.** Особената молекулярна сигнатура на SMZL включва гени, които са въввлечени в сигналната каскада на *AKT1*-пътеката и в сигналната пътека на *BCR* и *NF-κB* таргетите. Цитогенетични аберации има при 80% от пациентите. **Типични са** делецията или транслокацията на 7 хромозома в района 7q32, които се срещат в 40% от пациентите. **Най-честа е** пълната или частична тризомия на 3q (30-80%) и допълнителни копия на 12q (15-20%). **Чести са и** други цитогенетични аберации като делеции 12q22-24 и 6q и транслокации на 8q, 1q, 14q; също преустройства в 18q, 17p и други, които макар нетипични, са полезни за прогнозата. В малък брой случаи се открива **неслучайна транслокация t(11;14)(p11;q32), която има относително агресивен ход** с левкемизация от бластоподобни клетки. Експресия на CD5 има в 25% от случаите. Цитогенетично **CD5+ групата** се различава значително от **CD5– групата**. Случаите с немутирал *IGHV1-69* са асоциирани с делеции на 7q и *TP53*. **Асоциираната с MALT-лимфом t(14;18)(q32;q21) липсва.** Пациентите с 2 или повече аберации, 14q алтерация и делеция на *TP53* имат по-кратка преживяемост. **Делеция 7q не оказва влияние на преживяемостта.** Дисрегулирани са гените, ангажирани в *BCR*-сигнализация, *TNF*-сигнализация и активацията на *NF-κB*, като *SYK*, *BTk*, *BIRK3*, *TRAF3* и *LTB*. Други срещани гени са *SELL* и *LPXN*, които са силно експресирани в слезката, и лимфомните онкогени като *ARH* и *TCL2*. Обратно, *CAV1*, *CAV2* и *GNG11* локализиран на 7q21 – зона с чести делеции, са негативно регулирани.

**Експресията на три гена отчетливо се отличава от другите дребноклетъчни В-клетъчни лимфоми: ILF1, SENATAXIN и CD40.** По-кратка преживяемост е асоциирана с експресия на CD38p немутирани *IGHV*-гени и експресия на сет от гени на *NF-κB*-пътеката: *TRAF5*, *REL* и *PKCA*.

**Цитогенетични и молекулярни белези, отличаващи SMZL от останалите MZL:**

1) Загуба на 7q31, съдържаща *mir29* регулиращ *TCL1* и *SHN* локализиран в района 7q36; 2) Отсъствие на транслокации, ангажиращи *MALT1* и *API2*;

3) Отсъствие на *TNAF AIP3* делеции (del6q32, която е описана при EMZL, NMZL и DLBCL).

*NOTCH2* мутации са намерени в 20-25% от случаите, което е рядко при другите В-клетъчни лимфоми. [1,2,3,13,14,15,16,18,19,20,21]

**КЛИНИЧНА КАРТИНА.** До 30% от пациентите са безсимптомни. Чест повод за диагноза са спленомегалията, която дълго време е безсимптомна, и отклоненията в кръвната картина. Още в ранните фази образната диагностика

открива **спленомегалия** и в 25% малки лимфни възли в хилуса на слезката. В ~20% от случаите има неголеми абдоминални лимфни възли. Масивната спленомегалия причинява коремнен дискомфорт и болка. Понякога диагнозата се поставя след експлоративна спленектомия. **Засягането на периферни лимфни възли е необичайно** и обикновено се диагностицира като дисеминиран нодален или спленален подвид.

**ЛАБОРАТОРНИ ДАННИ. Анемията** (в 48%) и/или **тромбоцитопенията** (в 24%) по-често са свързани със спленална секвестрация, отколкото с костномозъчна инфилтрация. **Лимфоцитозата е постоянен белег.** Автоимунна хемолитична анемия, автоимунна тромбоцитопения или друг автоимунен феномен има в до 15%, а чернодробна инфилтрация в до една трета от случаите. **Ангажиране на костния мозък, често с левкемизация, имат почти всички пациенти** – дори и при ограничена болест със спленомегалия. **Циркулиращи вилозни лимфоцити** с характерна фина, оскъдна цитоплазма с фини, къси цитоплазмени полярни проекции има в 15%, а според някои автори в повече от половината случаи. **Диагноза спленален лимфом с вилозни лимфоцити (splenic lymphoma with villous lymphocytes, SLVL) се приема при над 20% циркулиращи вилозни лимфоцити.** При 10 до 40% от случаите в серума се доказва моноклонал парепротейн, най-често IgM, което затруднява диференцирането с лимфоплазмоцитния лимфом (LPL). Рядко може да има антитела срещу фактори на коагулацията. Серумната LDH обикновено е в норма. Нивата на  $\beta_2$ -микроглобулина са повишени.

**СТАДИРАНЕ.** Поради високата честота на костномозъчно и чернодробно ангажиране, почти всички случаи са в клиничен стадий IV по Ann Arbor. При стадиране с PET/CT около 50% от пациентите дават слаб SUV-сигнал.

#### **ПЪРВИЧЕН SMZL СЪС СМЕСЕНА КРИОГЛОБУЛИНЕМИЯ II ТИП**

Наблюдава се при HCV-инфекция. ~70% от пациентите са жени със симптоматична криоглобулинемия (васкулит, артралгия, периферна невропатия) и циркулиращи вилозни лимфоцити. Ерадикацията на HCV с пегилиран  $\alpha$ -интерферон и рибавирин индуцира пълна ремисия в повечето случаи. [2,3,11,12,14,15,16]

#### **CD5-ПОЗИТИВЕН SMZL**

Описан е при спленектомирани пациенти и е t(11;14)-негативен. Биологично не се различава от CD5-негативните SMZL, освен по повече пациенти (80%) с мутирал *IGHV*-статус. Клинично се характеризира с по-изразена лимфоцитоза при диагнозата и по-честа дифузна инфилтрация на костния мозък.

Няма значима разлика в изхода на заболяването. [2,14,22]

#### **ДИАГНОЗА НА SMZL**

Насочващи са лимфоцитозата, цитопенията и симптоматичната спленомегалия. Костномозъчната биопсия е най-добрият инициален диагностичен тест. Към диагнозата костният мозък е инфилтриран в 83-100%; левкемизация има в 29-75%. Когато костният мозък и периферната кръв не са ангажирани, диагнозата може да се постави само след спленектомия, а хистологичното изследване на слезката е златен диагностичен стандарт. Характерните цитогенетични аберации подкрепят диагнозата. Спестяващият спленектомия подход с интегриране на данните от изследванията на периферната кръв и костния мозък е диагностично точен при над 80% от пациентите.

#### **ДИАГНОСТИЧЕН ПАНЕЛ:**

- **Имунохистохимия:** CD20, CD3, CD5, CD10, BCL2, kappa/lambda, CD21 или CD23, cyclin D1, IgD, CD43, annexin A1. Типичният имунофенотип е CD10–, CD5–, CD20+, CD23–/+, CD43–/+, cyclin D1–, BCL2 фоликули, annexin A1–, CD103– (за разлика от трихоловкемията, HCL); експресия на IgM и IgD **или**

- **Флуоцитометрия** (периферна кръв, костен мозък, тъкан): kappa/lambda, CD19, CD20, CD5, CD23, CD10, CD43, CD103.

**Допълнителни изследвания при някои обстоятелства:**

- **Молекулярен анализ:** генно реаранжиране на антигенните рецептори; *MYD88* мутационен статус за диференциране от макроглобулинемия на Waldenström при наличие на плазматична диференциация; *BRAF* мутационен статус или секвениране за диференциране от HCL; PCR за t(11;18).

- **Цитогенетика или FISH:** панел за CLL; t(11;18); t(11;14), del(7q).

- **FISH или PCR:** t(14;18).

#### **МИНИМАЛНИ ДИАГНОСТИЧНИ КРИТЕРИИ:**

**1)** Хистология на слезката и имунофенотип с Matutes score под 3 **или** **2)** Типична морфология от кръвната картина и костния мозък + имунофенотип + интрасинусоидална инфилтрация от CD20+ клетки. (ако няма налична хистология на слезката). [2,3,4,10,13,14,16,18,22,23]

#### **СПЛЕНАЛЕН ДИФУЗЕН ЛИМФОМ НА ЧЕРВЕНАТА ПУЛПА (SDRPL)**

Необичаен подтип на лимфом, при който червената пулпа на слезката е инфилтрирана по дифузен модел от неопластична популация мономорфни малки В-лимфоцити. Представлява 9% от спленалните В-клетъчни лимфоми.

**Клетъчен фенотип и цитогенетика.** Неопластичните клетки са с фенотип на пан-В-клетъчни маркери; CD5–, CD25–, CD123–, CD10–,

CD23–, bcl6–, annexin A1–; честа експресия на IgG и силна на CD76 (DBA44). **Флоуцитометрия:** показва В-клетъчен фенотип (CD19+, CD20+, CD22+) с честа експресия на FMC7 и CD11c. В повечето случаи *IGHV* показват клонално реаранжиране. FISH анализът за t(11;14) и t(14;18) е негативен; рядко може да се открие делеция 7q.

**Хистология на слезката:** атрофична бяла пулпа с характерно мономорфна дифузна лимфомна инфилтрация (важна отлика от SMZL) и конгестия на червената пулпа. **Костен мозък:** инфилтриран е по интерстициален и интрасинусоиден тип. **Периферна кръв:** характеризира се с наличие на базофилни вилосни лимфоцити. Някои автори предлагат термина **спленален лимфом на червената пулпа с многобройни базофилни вилосни лимфоцити**.

**Клинична картина и протичане.** Засегнати са предимно мъже (2,4:1) в напреднала възраст с възрастова медиана 65,5 години. Симптоматиката се определя от степента на спленомегалия и костномозъчна инфилтрация (коремни болки и/или хиперспленизъм с цитопении). В-симптоми имат около една трета от пациентите, независимо от това, че почти всички са в IV стадий по Ann Arbor поради левкемизация и костномозъчна инфилтрация. Налице са умерена лимфоцитоза и спленомегалия без панцитопения. Рядко се среща моноклонална продукция на парапротеин Ig M. Образната диагностика, освен спленомегалията, в някои случаи може да покаже увеличени лимфни възли в хилуса на слезката и инфилтрация на черния дроб. Клиничният ход е относително

благоприятен и е подобен на SMZL. ***SDRPSBCL се повлиява много добре от спленектомия*** (5-годишна преживяемост в 93%).

### СПЛЕНАЛЕН ЛИМФОМ/ЛЕВКЕМИЯ, НЕКЛАСИФИЦИРАН

Диагнозата се приема, когато спленален дребноклетъчен В-клетъчен лимфом не изпълва критериите за нито една от временните нозологични единици или за друг добре характеризирания В-клетъчен лимфом. Протича с изолирана спленомегалия и липса на ангажиране на костния мозък, периферната кръв или периферните лимфни възли. Хистологията на слезката показва микронодуларен модел без маргиналнозонова диференциация. Някои некласифицируеми случаи може да оформят нови нозологични единици, които най-добре да се дефинират с цитогенетични аберации като BCL3 или CDK6 транслокации.

### ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА

SMZL трябва да се разграничи от HCL, HCL-variant, пролимфоцитната левкемия (PLL), лимфоплазматичния лимфом (LPL), хроничната лимфоцитна левкемия (CLL) и от другите лимфоми с ангажиране на слезката. За диференцирането на HCL помага флоуцитометрията на периферна кръв и на костен мозък: типичните CD25– и CD103–. **(Таблица №1). Уместно е всички пациенти със SMZL да се тестват за HCV-инфекция с оглед евентуална терапия с антивирусни медикаменти.** [1,2,3,4,13,14,15,16,23,24]

**Таблица №1:** Диференциална диагноза по флоуцитометрия на SMZL и някои други левкемизирали В-клетъчни лимфопролиферативни заболявания

|       | SMZL  | HCL   | HCL-v | CLL   | MCL   |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| slg   | силно | силно | силно | слабо | силно |
| CD5   | +     | –     | –     | +++   | +++   |
| CD23  | +     | –     | –     | +++   | –     |
| FMC7  | +++   | +++   | +++   | +     | +++   |
| CD11C | ++    | +++   | +++   | –     | –     |
| CD103 | –     | +++   | ++    | –     | –     |
| CD123 | –     | +++   | –     | –     | –     |
| CD25  | +     | +++   | –     | –     | –     |
| CD27  | ++    | –     | ++    | +++   | +++   |
| CD200 | –     | +++   | –     | +++   | –     |

## ЛЕЧЕНИЕ

**Watch-and-wait** е първа линия на терапевтичен подход, който спестява рисковете от ненавременна терапия. Ранното лечение не повлиява естествения ход на болестта и често пациентите са стабилни в течение на 10 и повече години. **Изключение от правилото са пациенти с HCV-инфекция, които са кандидати за антивирусна терапия** с пегилиран  $\alpha$ -интерферон и рибавирин. При до 78% постигането клирънс на HCV-RNA след антивирусна терапия корелира с постигане на клинична ремисия на SMZL. Антивирусната терапия не е ефективна при HCV-негативните SMZL.

**При симптоматични пациенти лечение на избор са ритуксимаб самостоятелно или в комбинация с химиотерапия с или без спленектомия.**

**Спленектомия.** Представлява най-ефективния подход при симптоматична цитопения и/или абдоминален дискомфорт или с други вторични симптоми, причинени от масивна спленомегалия. Спленектомията бързо подобрява общото състояние и намалява циркулиращите туморни лимфоцити. Лимфоцитозата в костния мозък и в периферната кръв персистират, но цитопенията се коригира. Медианата на свободна от прогресия преживяемост при HCV-негативни пациенти е 8,25 години. Общата 5-годишна преживяемост е 84%, а общата 10-годишна преживяемост – 67%. Провежда се ваксинация срещу най-честите инкапсулирани микроорганизми или поне срещу *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* и *Neisseria meningitidis*. Адювантната химиотерапия дава повече пълни ремисии, но не и предимства за риск от рецидив, хистологична прогресия и обща преживяемост.

**$\alpha$ -интерферон с или без рибавирин.** Интерферонът се прилага в доза 3 MU s.c. 3 пъти седмично в продължение на 10 месеца. При HCV се комбинира с рибавирин 1000 до 1200 mg дневно p.o. Честотата на постигнатите отговори е висока. Ремисиите корелират с постигане липса на RNA вирусен товар.

**Химиотерапия.** Прилага се при контраиндикации за спленектомия, при клинична прогресия след спленектомия и при голям туморен товар извън слезката.

**Пуринови аналози.** Добър контрол на заболяването, включително и пълни ремисии, може да се постигне при нелекувани пациенти (вкл. неспленектомирани) и рецидив при терапия с **флударабин** (25 mg/m<sup>2</sup>/дневно i.v./5 дни - 3 до 5 курса месечно) или **пентостатин** (4 mg/m<sup>2</sup> i.v. през седмица за 5-10 седмици). **Кладрибин** е прилаган в доза 0,1 mg/kg/дневно i.v. за 7 дни – до общо 4 курса, но без ефект и при висока токсичност. Други автори са прилагали кладрибин в доза 5

mg/m<sup>2</sup>/седмично за 6 седмици самостоятелно или в комбинация с ритуксимаб с добър резултат.

**Алкилиращи агенти.** Хлорамбуцил или циклофосфамид самостоятелно или в комбинация с ритуксимаб, но с по-слаби резултати, отколкото с пуринови аналози.

**Ритуксимаб - монотерапия или в комбинация с химиотерапия (включително с кладрибин.)** Дава по-добри резултати, отколкото само с химиотерапия. Отговарят 91 до 100% от пациентите с изчезване на спленомегалията и възстановяване от цитопенията без значима токсичност. **Монотерапията с ритуксимаб като първа линия на терапия с последващо поддържащо лечение е разумна алтернатива на спленектомията.** Лечението се провежда във 2 фази: 1) **индукционна фаза** в доза 375 mg/m<sup>2</sup> седмично в продължение на 6 седмици; 2) **поддържаща фаза** със същата доза на 2 месеца в продължение на 1-2 години. Общият отговор в края на индукционната фаза е 94% при 45% пълни ремисии с медиана на хематологичния и клиничен отговор съответно 4 и 5 седмици. **Монотерапията с ритуксимаб е средство на избор при възрастни пациенти с бъбречна недостатъчност.**

**Кортикостероиди.** Дават отговор при пациенти, чийто дебют е с имунна хемолитична анемия или имунна тромбоцитопения.

**Трансформация в агресивен лимфом или дисеминация в лимфните възли и екстранодални зони.** Провежда се антрациклин базирана химиотерапия (CHOP или CHOP-подобни режими) в комбинация с ритуксимаб. Липозомалният доксорубицин поради особеностите си фармакологичен профил достига 10 пъти по-висока концентрация в спленалната тъкан, отколкото обикновения доксорубицин.

**Бендамустин като монотерапия или в комбинация с ритуксимаб.** Има добър ефект при пациенти, които не могат да проведат спленектомия.

**Лъчетерапия на слезката.** Провежда се в доза 6-8 Grey в една или две фракции при противопоказания за спленектомия или химиотерапия.

## КРИТЕРИИ ЗА ОТГОВОР НА ТЕРАПИЯТА ПРИ SMZL

• **Пълен отговор:** Липса на органомегалия (надлъжен размер на слезката под 13 cm); хемоглобин над 120 g/l, тромбоцити над 100G/l и неутрофили над 1,5G/l; липса на данни от флоуцитометрията за циркулиращи клонални В-клетки; липса на данни от имунохистохимията за костномозъчна инфилтрация; негативен тест на Coombs и нормален PET/CT (ако е бил позитивен).

• **Частичен отговор:** регресия в  $\geq 50\%$  от измеримите изяви на заболяването; липса на нови локализации на заболяването; подобрение на цитопенията; намаление на инфилтрацията и подобрение на хемопоетичните резерви при костномозъчна биопсия.

• **Липса на отговор:** под 10% подобрение в измеримите изяви на заболяването.

• **Прогресия:** Над 50% нарастнали измерими изяви на заболяването, сравнено с надира.

• **Рецидив:** Повторна поява на която и да е измерима изява на болестта.

#### ТЕРАПЕВТИЧНИ ПЕРСПЕКТИВИ

• **Нови моноклонални антитела:** *анти-CD20* (офатумумаб, обинутузимаб); *анти-CD22*; *биспецифични* (анти-CD3/анти-CD19) – блинатумумаб.

• **Bruton тирозинкиназни инхибитори.**

• **Протеазомни инхибитори:** бортезомиб.

• **Таргет на микрообкръжението:** леналидомид. [1,3,4,10,11,12,14,15,16,23,24,25,26,27]

#### ПРОГНОСТИЧНИ ФАКТОРИ

**Работната група по SMZL определя за асоциирани с инициация на лечението следните фактори:** анемия, екстранодална болест и серология за HCV. Предиктори за преживяемост са анемия, тромбоцитопения, висока LDH и екстрахилусна лимфаденопатия. Според количеството налични фактори (0 до 4), пациентите се разпределят в **3 групи:** без рискови фактори, с 1 до 2 фактора и с 3 до 4 фактора; 5-годишната преживяемост е съответно 95, 87 и 68%.

**Според Thieblemont, et al** неблагоприятни прогностични фактори за обща преживяемост са  $\beta 2$ -микроглобулин  $\geq 3$  mg/l, левкоцити  $\geq 20$  G/l, лимфоцити  $\geq 9$  G/l, М-компонент и имунологично събитие. **Според Ruiz-Ballesteros, et al** неблагоприятни прогностични фактори за обща преживяемост са: експресия на CD38, немутирал IGHV-статус и експресия на NF- $\kappa$ B-активирани гени.

**FLIPI и IPI нямат прогностична стойност при SMZL**, защото поради честата костномозъчна инфилтрация повечето пациенти са в IV стадий. Наличието на 7q делеция и немутирали IGHV гени може да е асоциирано с неблагоприятен изход.

**ПРОТИЧАНЕ И ПРОГНОЗА.** Медианата на общата преживяемост е 9 до 13 години. В случаите с агресивно протичане (при 20 до 30% от пациентите) е под 5 години.

При прогресия към лимфните възли или към екстранодални локализации медианата на преживяемост е 3,7 години без разлика на SLVL или не-SLVL.

**Трансформация в DLBCL.** Настъпва при 13 до

19% от случаите и е слоша прогноза (преживяемост с медиана 26 месеца). Трансформация може да има към момента на поставяне на диагнозата (при спленектомия) или по време на прогресия с медиана до трансформацията 12 до 85 месеца. Често трансформацията е свързана с инактивация на p53 или нови хромозомни аномалии. [1,3,4,5,10,13,16,17,18,19,20,23,28,29,39,31]

### НОДАЛЕН МАРГИНАЛНОЗОНОВ ЛИМФОМ (NMZL)

**ДЕФИНИЦИЯ.** NMZL е първична нодална В-клетъчна неоплазия, която морфологично наподобява ангажирането на лимфните възли при MALT-лимфом и SMZL, но без данни за екстранодална или спленална болест. Морфологично NMZL наподобява MALT-лимфом. Някои подтипове може да бъдат причинени от инфекции и автоимунни заболявания. [1,3,4,32,33,34]

**ЕПИДЕМИОЛОГИЯ.** NMZL е рядък лимфом, който съставлява 1,5-1,8% от лимфоидните неоплазии и около 10% от MZL. Двата пола са засегнати приблизително еднакво. Възрастовата медиана е 60 години (от юношеска до 90-годишна възраст).

**ЕТИОЛОГИЯ.** При част от пациентите (до 24%) има серологични данни за CMV-инфекция, а HBV-инфекция се намира в 30%. При HIV-инфекция заболяването се среща рядко; описана е пълна регресия на лимфома след антиретровирусна терапия.

**ПАТОГЕНЕЗА.** Автоимунно заболяване имат 6 до 19% от пациентите. Намерена е асоциация с ревматоиден артрит, витилиго, SEL, автоимунна хемолитична анемия, хроничен тиреоидит и синдром на Sjögren. [2,3,6,9,11,12,33,34]

**КЛЕТЪЧЕН ПРОИЗХОД.** NMZL произхожда от зрелите В-клетки с реаранжирани имуноглобулинови гени. Предполага се, че NMZL може да произлезе от подтип зрели В-клетки, които не са непременно от маргиналната зона. В около 85% от случаите се намира соматична хипермутация, насочваща към произход от (пост) герминативния център на В-клетката, но по-малко от половината случаи показват данни за антигенна селекция. Произход от клетките на маргиналната зона се подкрепя от експресията на MNDA и IRTA1 в много от случаите.

**ХИСТОПАТОЛОГИЯ.** NMZL има голямо разнообразие в модела на растеж и в клетъчната морфология. Най-често се наблюдава дифузен модел на инфилтрация и по-рядко на интерфоликуларен или нодуларен модел. Перифоликуларен растеж е наблюдаван в единични случаи. Клетките на NMZL показват хетерогенна морфология, варирайки от центроцитоподобни до моноцитоподобни,

плазмоцитоидни и плазматични клетки с различен брой разпръснати центробласти и имунобласти. Моноцитоидните клетки имат централно ядро с кондензиран хроматин и неясни нуклеоли, заобиколени от обилна бледа цитоплазма. Центроцитоподобните клетки наподобяват центроцити от герминативния център и имат ядра с леко неправилни ядрени мембрани и груба хроматинова структура. Лимфоплазмоцитоидните клетки имат някои, но не всички белези на плазматични клетки: имат по-оскъдна базофилна цитоплазма. По размер са по-малки от типичните плазматични клетки тип Marschalko и имат фина хроматинова структура. Моноцитоидните клетки рядко предоминират и наличието им подсказва за евентуално вторично ангажиране на лимфния възел от MALT-лимфом. Плазмоцитна диференциация се наблюдава в 22 до 27% и може да бъде екстензивна. Телца на Dutcher се наблюдават рядко, но може да са многобройни. Описан е случай с инклузии подобни на Ауерови пръчки. Някои автори предлагат **морфологична схема с 4 типа на растеж**: спленален, MALT тип, флорален и DLBCL+ MALT тип. Рядко се описва и NMZL с многобройни епителоидни хистиоцити, хиалинно васкуларни белези подобни на болестта на Castleman и NMZL в асоциация с болестта на Rosai-Dorfman.

Влиянието на процента центробласти върху прогнозата и разграничаването между DLBCL и NMZL остава неясно. Пациентите с наличие на едроклетъчни елементи по-често се налага да бъдат лекувани с агресивна терапия, но при над 20% едроклетъчни елементи не се наблюдават значими разлики в прогнозата. Приема се различен праг за диагноза DLBCL: 20%, 50% или само при наличие на зони с центробласти, подобно на критериите при другите типове лимфоми. Моделът на костномозъчна инфилтрация в повечето случаи е нодуларен или паратрабекуларен.

**ИМУНОФЕНОТИП.** NMZL експресира пан-В-клетъчни маркери с коекспресия на CD43 в 50% от случаите (варира от 5 до 75%), включително CD20, CD79a и PAX5. Не се експресират CD5 (експресия 0 до 17%), CD23 (експресия 0 до 29%), CD10 (експресира се рядко), BCL6 (експресира се много рядко - при случаи с наличие на едроклетъчна компонента) и cyclin D1 (експресира се изключително рядко). Експресията е позитивна за BCL2 (повечето случаи, с вариране от 43 до 100%) и NUM1. При някои случаи се експресира IgD и DBA. Случаите, които наподобяват SMZL, имат подобен фенотип, но обикновено са IgD позитивни. Маркерите на герминативен център HGAL и LMO2 се експресират много рядко.

**Нови позитивни маркери за клетките на маргиналната зона.** Могат да са от полза за диагнозата на NMZL. **MNDA** (myeloid cell nuclear differentiation antigen) се експресира от клетките

на миеломоноцитната линия, но е показал експресия и от някои В-клетки, разположени около герминативния център и интерфоликуларните региони. MNDA се експресира в 75% от NMZL и само в 5% от фоликуларните лимфоми. **IRTA1** (immunoglobulin superfamily receptor translocation-associated 1) се експресира в маргиналната зона и моноцитоидните В-клетки в 73% и не се експресира от фоликуларните лимфоми.

**ЦИТОГЕНЕТИКА.** **Не са идентифицирани специфични цитогенетични алтерации.** Описани са +3, +7, +12, +18 и структурни реаранжирания на хромозома 1 с точки на счупване в райони 1q21 или 1p34. **Най-обичайният маркер за NMZL е допълнителни копия на различни участъци от хромозома 3.** Аберациите в хромозома 3 се срещат в 20 до 25% от случаите. Често се среща и допълнителни копия на хромозомните участъци 1q, 2p, 6p и 6q. Често се наблюдава тризомия на хромозоми 3, 12 и 18. По-рядко има монозомия на хромозоми 9, 13 и 14. Многобройните наблюдавани транслокации нямат общи точки на счупване, за разлика от MALT-лимфомите, и не са с ангажиране на **API2**, **MALT1**, **BCL10** и **FOXP1** гени. NMZL не показва свързаните със SMZL аберации със загуба на 7q. Не са открити транслокации, които да са асоциирани с MALT-лимфом.

При над 75% от случаите има соматична мутация в **IGHV** и склонност към засягане на **IGHV3** и **IGHV4**, особено на **IGHV4-34**; при CLL преференциалното засягане на **IGHV3-34** е асоциирано с EBV и CMV. При пациенти с NMZL и HCV има преференциално засягане на **IGHV1-69**, както при отговора на антиген E2 на HCV.

Освен експресията на **MNDA**, сравнено с фоликуларните лимфоми, NMZL показват свръхекспресия на NF-κB-отнасящи се или свързани гени (**TRAF4**, **CD82**), **IL-32**, хистони, членове на TNF-фамилията (**TAC1**, **TNFRSF14**) и гени ангажирани в лимфоцитната активация (**TGFB1**). NMZL показват повишена експресия на **MIR-221**, **MIR-223** и **let-7f**. [1,2,3,4,9,32,33,34]

**КЛИНИЧНА КАРТИНА.** Аденопатията може да е локализирана (най-често шийна) или дисеминирана. Малка част от пациентите дебютират само с абдоминална лимфаденомегалия. Повечето пациенти имат дисеминирано ангажиране на периферните и абдоминалните лимфни възли. Общото състояние е общо взето добро. В-симптоматика имат 10 до 40% от пациентите.

**СТАДИРАНЕ.** Задължително е да се изключи екстранодално ангажиране. Около половинта от пациентите са в III и IV стадий. Bulky тумори (над 5 cm) се наблюдават в 11 до 31% от пациентите. PET/CT дава много добра информация за разпространението на заболяването (позитивна е в 92% от случаите).

**ЛАБОРАТОРНИ ДАННИ.** Анемия имат ~25% от пациентите, а тромбоцитопения ~10%. Костномозъчна инфилтрация се наблюдава в близо 50% от случаите, а левкемизация има в 10 до 24%. Серумната LDH е повишена в 12 до 48%, β2-микроглобулинът – в 29 до 45% от случаите. Парапротейн в серума се открива в 6 до 33% от пациентите. Рядко има криоглобулинемия. Хипоалбуминемия има в 7-10%.

**ДИАГНОЗА.** За диагнозата *conditio sine qua non* е наличието на първична локализация в лимфен възел при отсъствие на предходно или конкуриращо ангажиране на какъвто и да е екстранодален орган с изключение на костен мозък. Диагнозата изисква интеграция на клинични и патологични данни и по същество е *diagnosis per exclusionem*. Уместно е провеждането на ФГС с биопсия за сигурно изключване на стомашен MALT-лимфом. Ангажирането на Валдайеровия пръстен от повечето автори се причислява към NMZL.

#### ДИАГНОСТИЧЕН ПАНЕЛ:

• **Имунохистохимия:** CD20, CD3, CD5, CD10, BCL2, kappa/lambda, CD21 или CD23, cyclin D1

(типичният имунофенотип е CD10–, CD5–, CD20+, CD23–/+, CD43–/+, cyclin D1–, BCL2 фоликули) **или**

• **Флоуцитометрия** (периферна кръв, костен мозък, тъкан): kappa/lambda, CD19, CD20, CD5, CD23, CD10.

#### Допълнителни изследвания при някои обстоятелства:

• **Молекулярен анализ:** генно реаранжиране на антигенните рецептори; MYD88 мутационен статус за диференциране от макроглобулинемия на Waldenström при наличие на плазматична диференциация; PCR за t(11;18).

• **Цитогенетика или FISH:** t(11;18); t(1;14), del(13q), del(7q).

• **FISH или PCR:** t(14;18).

#### ДИФЕРЕНЦИАЛНА ДИАГНОЗА

В **Таблица №2** е даден синопсис на имунофенотипния анализ и диференциране на MZL и дребноклетъчните В-клетъчни лимфоми.

**Таблица №2:** Имунохистохимично

диференциране на MZL и другите дребноклетъчните В-клетъчни лимфоми

|            | EMZL<br>NMZL | SMZL  | LPL   | SDRPL | HCL | HCL-v | CLL   | MCL   | FL    |
|------------|--------------|-------|-------|-------|-----|-------|-------|-------|-------|
| CD20       | +            | +     | +     | +     | +   | +     | – / + | +     | +     |
| CD79a      | +            | +     | +     | +     | +   | +     | +     | +     | +     |
| CD5        | – / +        | – / + | – / + | – / + | –   | –     | +     | +     | –     |
| CD21       | –            | – / + | –     | –     | –   | –     | –     | –     | –     |
| CD23       | – / +        | – / + | – / + | –     | –   | –     | +     | –     | – / + |
| BCL1       | –            | –     | –     | –     | +   | – / + | –     | +     | –     |
| DBA44      | –            | + / – | –     | +     | +   | +     | – / + | –     | –     |
| Annexin A1 | –            | –     | –     | –     | +   | –     | –     | –     | –     |
| CD103      | –            | –     | –     | –     | +   | + / – | –     | –     | –     |
| CD123      | –            | –     | –     | –     | +   | –     | –     | –     | –     |
| IRTA1      | + / –        | –     | –     | –     | –   | –     | –     | –     | –     |
| IgM        | +            | +     | +     | +     | +   | +     | +     | +     | +     |
| IgD        | – / +        | + / – | –     | – / + | +   | +     | +     | +     | +     |
| CD10       | –            | –     | –*    | –     | –   | –     | –     | –*    | + / – |
| BCL6       | – / +        | –     | –     | –     | –   | –     | –     | – / + | +     |
| CD43       | – / +        | – / + | –     | –     | –   | –     | +     | +     | –     |
| SOX11      | –            | –     | –     | –     | –   | –     | –     | +     | –     |
| LEF1       | –            | –     | –     | –     | –   | –     | +     | – / + | –     |

**Легенда:** – (25% от случаите); – / + (25-50%); + / – (50-75%); + (над 75%); \*спорадично

**Реактивни състояния.** Токсоплазмозата и HIV-асоциираната лимфаденопатия може да покажат

хиперплазия на моноцитонидни В-клетки. Имунохистохимията на нормалните моноцитонидни В-клетки е BCL2-негативна, за разлика от NMZL, където обикновено е позитивна. При нужда се провеждат допълнителни тестове за клоналност.

**Фоликуларен лимфом.** Някои фоликуларни лимфоми имат растеж в маргиналната зона с модел наподобяващ NMZL, а NMZL често показват фоликуларна колонизация и тогава лимфният възел запазва нодална архитектура. BCL2-позитивните NMZL клетки, които инфилтрират герминативните центрове, насочват фалшиво към BCL2-позитивни фоликули. Фононите резидуални фоликуларни клетки дават фалшиво впечатление за BCL6 и CD10 позитивност и възможност погрешно да се диагностицира фоликуларен лимфом. Ключът към разрешаването на проблема е в наличието на BCL2-негативни центробласти и центроцити, които експресират BCL6 и CD10 с неопластични BCL2-клетки между тях. Друго указание за по-скоро неопластични герминативни центрове е високия пролиферативен индекс за Ki67 от имунохистохимията. Намирането на транслокация, която засяга BCL2, спомага за диагнозата на фоликуларен лимфом, но около 10% от фоликуларните лимфоми нямат такава транслокация. Понастоящем няма задоволителен критерий, по който t(14;18) негативен фоликуларен лимфом да се разграничи от NMZL с пълна фоликуларна колонизация.

LMO2 и HGAL са маркери на герминативния център и често са позитивни при фоликуларен лимфом. MNDA и IRTA са наскоро идентифицирани маркери за MZL.

Флуцитометрията установява, че JAM-C се експресира в голяма част от MZL, но не и при фоликуларен лимфом.

**MALT-лимфом.** Разграничаването от ангажиране на лимфен възел при MALT-лимфом става чрез клинично търсене на екстранодално заболяване. Чиста моноцитонидна морфология повече е типична за MALT-лимфом. Често допълнително има специфични транслокации с ангажиране на BCL10 и MALT1, каквито липсват при NMZL.

**SMZL.** Рядко се изиявява с лимфаденопатия и почти винаги инфилтрира костния мозък по характерен интертрабекуларен и интрасинусодален модел, което не е типично за NMZL. Аргумент срещу SMZL е негативността за IgD. Около 40% от SMZL имат делеция на 7q, каквато има в по-малко от 5% от случаите с NMZL.

**Лимфоплазмоцитен лимфом (LPL).** Важни са клиничните белези: NMZL протича с лимфаденопатия, а LPL - с костномозъчна инфилтрация и хипервискозен синдром.

В лимфните възли диференциацията е трудна или невъзможна. Аргументи в полза на NMZL са моноцитонидна клетъчна морфология, маргиналнозонов модел на растеж и фоликуларна

колонизация. LPL показва (частично) запазване на архитектурата на лимфния възел с дилатирани синуси, но често се срещат и други модели на растеж.

Наскоро откритата L265P хотспот мутация на MYD88 в преобладаващия брой случаи с LPL, но не и с MZL, е от голямо потенциално значение за диференцирането с NMZL.

**Други В-клетъчни лимфоми.** **Мантелноклетъчният лимфом (MCL)** може със сигурност да се отграничи от NMZL благодарение на позитивната експресия на CD5 и cyclin D1 и по наличието на cyclin D1-транслокация. **CLL** и дребноклетъчният лимфоцитен лимфом (**SLL**) се различават от NMZL по експресията на CD5 и CD23. NMZL често съдържа значителен брой центробласти, но засега не е установена отчетлива граница между NMZL и **DLBCL**. [2,3,4,9,10,32,33,34]

**ЛЕЧЕНИЕ НА НОДАЛНИЯ MZL.** Засега няма консенсус относно лечението на NMZL и в общи линии то се провежда според алгоритмите за фоликуларен лимфом.

**Асимптоматични пациенти с малък туморен обем.** Подходящо е поведение тип watch-and-wait.

**Пациенти, които не възприемат watch-and-wait подхода или възрастни пациенти със симптоматика.** Провежда се монотерапията с ритуксимаб.

**Ограничено заболяване.** Провежда се хирургическо лечение и лъчение.

**Пациенти със симптоматика, компрометирани органи или голям туморен обем.** Провежда се химиотерапия в комбинация с ритуксимаб.

**Млади пациенти с рецидив, с неблагоприятни прогностични фактори или повишен брой едроклетъчни елементи.** Може да се приложи високодозова химиотерапия и автоложна стволовоклетъчна трансплантация.

**Пациенти с NMZL и хроничен HCV-хепатит, които не се нуждаят от неотложна химиотерапия на лимфома.** Препоръчва се антивирусна терапия с пегилиран  $\alpha$ -интерферон и рибавирин, която при някои пациенти индуцира регресия на лимфома.

**ТЕРАПЕВТИЧНИ ПЕРСПЕКТИВИ.** Активност е показал *бортезомиб*. Във фаза на клинично изпитване е хуманизираното анти-CD20 антитяло *велтузумаб*.

**ПРОТИЧАНЕ И ПРОГНОЗА.** NMZL се характеризира с индолентно протичане. Прогнозата е по-неблагоприятна в сравнение с MALT-лимфомите, SMZL и фоликуларните лимфоми и е приблизително като при SLL. **FLIPI** има висока прогностична стойност. Средната 5-годишната обща преживяемост е 55-89%, свободната от събития 5-годишна преживяемост е 30%. 5-годишната свободна от прогресия преживяемост е 82%. Рецидивите в

екстранодални зони са рядко. Може да настъпи трансформация в DLBCL (в 16% от случаите с медиана 4,5 години от диагнозата). Биологичните характеристики на туморните клетки (намалени *surviving* и активна капсаза 3 и свръхекспресия на *cyclin E*) корелират с преживяемостта. [3,4,5,9,10,11,12,33,34,35]

### ПЕДИАТРИЧЕН NMZL

Имунофенотипът е както на NMZL при възрастните. Цитогенетичните аберации, които се срещат при възрастните, се наблюдават рядко. Най-чести са тризомия 18 и тризомия 3. Налице е клонален реранжимент на *IGHV*. Няма данни за експресията на *IRTA1* и *MNDA*. Хистологично често (в 66%) е асоцииран с прогресиращи промени в подобен на герминативната зона център, които не се срещат при възрастния NMZL. Характерни са значителното преобладаване при момчета (20:1) и индолентния ход. Може да се наблюдава и при младежи. Описани са и пациенти до 44-годишна възраст. Педиатричният NMZL, за разлика от NMZL при възрастните, се изявява само с локализирана, най-често изолирана цервикална лимфаденопатия. Няма съобщения за трансформация в агресивен лимфом. Прогнозата е много добра. Хирургическата ексцизия може да излекува лимфома и не са докладвани случаи на рецидив. [32,33,34]

### БИБЛИОГРАФИЯ

1. Luca Arcaini, Davide Rossi, and Marco Paulli. Splenic marginal zone lymphoma: from genetics to management *Blood* (127)17; 2072-2081; 28 April 2016
2. Andrew C. Wotherspoon. Extranodal and splenic small B-cell lymphoma *Modern Pathology* 26; 29-41; 2013
3. Zinzani PL. The many faces of marginal zone lymphoma. *ASH Edu Book* 426-432; 2012
4. Kahl B, Yang D. Marginal Zone Lymphomas: Management of Nodal, Splenic, and MALT NHL. *ASH Edu Book* 359-363; 2008
5. Heilgeist A, McClanahan F, Ho AD, Witzens-Harig M. Prognostic value of the Follicular Lymphoma International Prognostic Index score in marginal zone lymphoma: an analysis of clinical presentation and outcome in 144 patients. *Cancer* 119:99; 2013
6. Khalil MO, Morton LM, Devesa SS, et al. Incidence of marginal zone lymphoma in the United States, 2001-2009 with a focus on primary anatomic site. *Br J Haematol* 165:67; 2014
7. Olszewski AJ, Castillo JJ. Survival of patients with marginal zone lymphoma: analysis of the Surveillance, Epidemiology, and End Results database. *Cancer* 119:629; 2013
8. Novak U, Basso K, Pasqualucci L, et al. Genomic analysis of non-splenic marginal zone lymphomas (MZL) indicates similarities between nodal and extranodal MZL and supports their derivation from memory B-cells. *Br J Haematol* 155:362; 2011
9. Kuper-Hommel MJ, van de Schans SA, Vreugdenhil G, et al. Trends in incidence, therapy and outcome of localized nodal and extranodal marginal zone lymphomas: declining incidence and inferior outcome for gastrointestinal sites. *Leuk Lymphoma* 54:1891; 2013
10. Dreyling M, Thieblemont C, et al. ESMO Consensus conferences: guidelines on malignant lymphoma. part 2: marginal zone lymphoma, mantle cell lymphoma, peripheral T-cell lymphoma. *Ann Oncol.* 24(4):857-77; Apr 2013
11. Fabrizio Marcucci, Alfonso Mele. Hepatitis viruses and non-Hodgkin lymphoma: epidemiology, mechanisms of tumorigenesis, and therapeutic opportunities *Blood*, (117)6; 1792-1798; 2011
12. Barbara Vannata, Emanuele Zucca. Hepatitis C virus-associated B-cell non-Hodgkin lymphomas. *ASH Edu Book* 590-598; 2014
13. Isaacson PG, et al: Splenic B-cell marginal zone lymphoma, in *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, edited by S Swerdlow, E Campo, NL Harris, ES Jaffe, SA Pileri, H Stein, J Thiele, JW Vardiman, 289-291. IARC, Lyon, 2008
14. Mendes LST, Ming-Qing Du, Estella Matutes, Andrew Wotherspoon. Splenic marginal zone lymphoma: a review of the clinical presentation, pathology, molecular biology, and management. *Blood and Lymphatic Cancer: Targets and Therapy* 4; 29-38; 2014
15. Matutes E. Splenic marginal zone lymphoma: disease features and management. *Expert Rev Hematol.* 6(6), 735-745; 2013
16. Luca Arcaini L, Paulli M. Splenic marginal zone lymphoma: a hydra with many heads? *Haematologica* 95(4) 534-537; 2010
17. Liu L, Wang H, Chen Y, et al. Splenic marginal zone lymphoma: a population-based study on the 2001-2008 incidence and survival in the United States. *Leuk Lymphoma*; 54:1380; 2013
18. Emilio Iannitto, et al. Splenic Marginal Zone Lymphoma With or Without Vicious Lymphocytes. *Hematologic Findings and Outcomes in a Series of 57 Patients.* *Cancer* 101(9) 2050-2057; 2004
19. Martínez N, Almaraz C, Vaqué JP, et al. Whole-exome sequencing in splenic marginal zone lymphoma reveals mutations in genes involved in marginal zone differentiation. *Leukemia.* 28(6):1334-1340; 2014
20. Bikos V, Darzentas N, Hadzidimitriou A, et al. Over 30% of patients with splenic marginal zone lymphoma express the same immunoglobulin heavy variable gene: ontogenetic implications. *Leukemia.* 26(7):1638-1646; 2012
21. Kiel MJ, Velusamy T, Betz BL, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent somatic NOTCH2 mutations in splenic marginal zone lymphoma. *J Exp Med* 209:1553; 2012
22. Lucile Baseggio, Alexandra Traverse-Glehen et al. CD5 expression identifies a subset of splenic marginal zone lymphomas with higher lymphocytosis: a clinico-pathological, cytogenetic and molecular study of 24 cases. *Haematologica* 95(4) 604-512; 2010
23. Emilio Iannitto, Claudio Tripodo. How I diagnose and treat splenic lymphomas. *Blood* (117) 9; 2585-2596; 2011
24. George Kanellis, Manuela Mollero et al. Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma: revision of a series of cases reveals characteristic clinic-pathological features. *Haematologica* 95(7); 1122-1129; 2010
25. Iannitto E, Tripodo C. Treatment of splenic lymphomas. *ASH Edu Book* 6:429-436; 2012
26. Kalpadakis C, Pangalis GA, Angelopoulou MK, et al. Treatment of splenic marginal zone lymphoma with rituximab monotherapy: progress report and comparison with splenectomy. *Oncologist* 18:190; 2013
27. Else M, Marín-Niebla A, de la Cruz F, et al. Rituximab, used alone or in combination, is superior to other treatment modalities in splenic marginal zone lymphoma. *Br J Haematol* 159:322; 2012
28. Carlos Montalbán I, Víctor Abaira, et al. Risk stratification for Splenic Marginal Zone Lymphoma based on haemoglobin concentration, platelet count, high lactate dehydrogenase level and extrahilar lymphadenopathy: development and validation on 593 cases. *British Journal of Haematology.* 159(2), 164-171, October 2012
29. Elena Ruiz-Ballesteros et al. Splenic marginal zone lymphoma: proposal of new diagnostic and prognostic markers identified after tissue and cDNA microarray analysis *Blood* 106 (5), 1831-1838; 2005
30. Lenglet J, Traullé C, Mounier N, et al. Long-term follow-up analysis of 100 patients with splenic marginal zone lymphoma treated with splenectomy as first-line treatment. *Leuk Lymphoma* 55:1854; 2014
31. Olszewski AJ. Survival outcomes with and without splenectomy in splenic marginal zone lymphoma. *Am J Hematol* 87:E119; 2012
32. Oscar Krijgsman, Patricia Gonzalez, et al. Dissecting The Gray Zone

*Between Follicular Lymphoma And Marginal Zone Lymphoma Using Morphological And Genetic Features Haematologica 98: 1921-1929; December 2013*

33. Michiel van den Brand, and J. Han J.M. van Krieken. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. *Haematologica* 98(7) 1004-1013; 2013
34. Maria K. Angelopoulou, Christina Kalpadakis, et al. Nodal marginal zone lymphoma. *Leukemia & Lymphoma* 55(6); 1240-1250; 2014
35. Catherine Thieblemont, Thierry Molina, Frederic Davi. Optimizing therapy for nodal marginal zone lymphoma. *Blood* (127)17; 2064-2071; 28 April 2016

**Адрес за кореспонденция:**

**Д-р Юрий Жечев**

**Клиника по хематология**

**СБАЛХЗ – ЕАД, София**

**Ул. „Пловдивско поле“ №6**

**1756 София**

**e-mail: [azurium@abv.bg](mailto:azurium@abv.bg)**

**Сл. телефон: 02/ 9701128**

**GSM: +359 879 104 922**

# AZACITIDIN (VIDAZA)- ОПЦИЯ, КОЯТО ПРЕЧУПИ ЕВОЛЮЦИЯТА НА МИЕЛОДИСПЛАСТИЧНИТЕ СИНДРОМИ

**В.Горанова-Маринова, М. Петров**

Клиника по клинична хематология  
МУ-Пловдив, УМБАЛ „Св.Георги“

## AZACITIDIN (VIDAZA) - AN OPTION THAT REMODELLED THE EVOLUTION OF MYELOYDYSPLASTIC SYNDROMES

**V. Goranova-Marinova, M. Petrov**

Clinic of Clinic Hematology  
Medical University, UMHAT "St. George", Plovdiv

---

**Резюме.** Миелодиспластичният синдром (МДС) представлява хетерогенна група от клонални заболявания на хемопоетичната стволова клетка, които се характеризират с периферни цитопении поради нарушена апоптоза, дисплазия в една или повече от миелоидните клетъчни линии, неефективна хемопоеза и повишен риск за развитие на остра миелоидна левкемия.

Десетилетия наред терапевтичното поведение при МДС се изчерпваше с компонентно заместително лечение с биопродукти, приложение на растежни фактори, монотерапия с Cytosine Arabinozide и режими за остри миелоидни левкемии. Преживяемостта на пациентите бе отчайващо ниска. Установяването на ролята на хиперметирането на тумор - супресорните гени в патогенезата на МДС и вторичните левкемии разкри нови терапевтични хоризонти. Azacitidine, създаден като необратим инхибитор на ДНК метилтрансферазата и още с въвеждането му в клиничната практика бе натоварен с големи очаквания. В рандомизирани големи клинични проучвания проучвания Azacitidine (Vidaza) демонстрира значимо повишаване на общата преживяемост и пречупване на основния ход на заболяването, при относително безопасен профил на токсичност, дори и при възрастни пациенти.

**Summary.** Myelodysplastic syndromes (MDS) represent a heterogeneous group of clonal disorders of the hematopoietic stem cells, which are characterized by peripheral cytopenias, due to impaired apoptosis, dysplasia in one or more of myeloid cell lines, inefficient hematopoiesis and increased risk for development of acute myeloid leukemia.

For decades, the therapeutic approach in MDS was limited to component replacement therapy with bioproducts, use of growth factors, monotherapy with Cytosine Arabinozide and regimes such as these used in acute myeloid leukemia (AML). Survival of patients was frustratingly low. The determination of the role of the hypermethylation of the tumor - suppressor genes in the pathogenesis of MDS and AML opened new therapeutic horizons. Azacitidine (Vidaza), an irreversible inhibitor of DNA methyltransferase, since its introduction into clinical practice was loaded with great expectations. In randomized large clinical trials Azacitidine (Vidaza) demonstrated a significant improvement in overall survival and modification of the course of the disease, at a relatively safe toxicity profile even in adults.

**Key words:** myelodysplastic syndromes, acute myeloid leukemia Azacitidine,

---

### ВЪВЕДЕНИЕ

Миелодиспластичният синдром (МДС) представлява хетерогенна група от клонални заболявания на хемопоетичната стволова клетка, които се характеризират с периферна(и)

цитопения(и) и неефективна хемопоеза поради нарушена апоптоза, дисплазия в една или повече от миелоидните клетъчни линии, както и повишен риск за развитие на остра миелоидна левкемия. МДС може да възникне de novo или вторично след експозиция на лъчиста енергия, алкилиращи

агенти и/или топоизомеразни инхибитори. Заболеваемостта нараства с напредване на възрастта, като над 60г се регистрират 20-40 случая 100 000/год.

Класификацията на миелоидните неоплазии на СЗО от 2008г дефинира десет форми на МДС на базата на промените в периферната кръв, костния мозък, процента бласти и наличието на

цитогенетични аномалии ( табл 1). В ревизията от 2016г се променя терминологията, като понятията „рефрактерна анемия” и “рефрактерна цитопения” направо се заместват с „миелодиспластичен синдром“, последван от съответното уточнение. Промяната е обоснована от факта, че прогнозата на болния зависи не от вида на цитопенията а от броя им и тяхната тежест<sup>1</sup>.

**Табл 1. Промяна в класификацията на МДС, СЗО 2016 в срв с СЗО 2008**

| Класификация на МДС, СЗО 2008г                                                                                                                                                                | Класификация на МДС, СЗО 2016г                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Рефрактерна анемия с дисплазия в една линия: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Рефрактерна анемия</li> <li>• Рефрактерна неутропения</li> <li>• Рефрактерна тромбоцитопения</li> </ul> | МДС с дисплазия в една линия                                                                                                                           |
| Рефрактерна анемия с ринг сидеробласти                                                                                                                                                        | МДС с ринг сидеробласти <ul style="list-style-type: none"> <li>• МДС-РС и дисплазия в една линия</li> <li>• МДС-РС и мултилинейна дисплазия</li> </ul> |
| Рефрактерна цитопения с мултилинейна дисплазия                                                                                                                                                | МДС с мултилинейна дисплазия                                                                                                                           |
| Рефрактерна анемия с ексцес на бласти                                                                                                                                                         | МДС с ексцес на бласти                                                                                                                                 |
| МДС с изолирана del5q-                                                                                                                                                                        | МДС с изолирана del5q-                                                                                                                                 |
| МДС неклассифицируем                                                                                                                                                                          | МДС неклассифицируем                                                                                                                                   |
| МДС при деца                                                                                                                                                                                  | МДС при деца                                                                                                                                           |

Международната прогностична система (IPSS) и ревизираната скор-система IPSS-R представляват интегрален анализ, определящ както прогнозата така и терапевтичната стратегия при отделните пациенти<sup>2,3</sup>. IPSS разделя пациентите на 4 рискови категории , - нисък , интермедиерен-1 , интермедиерен-2 и висок риск , като в IPSS-R се добавя и категория „много висок риск“. Отчитат се броя на цитопениите, % бласти в костния мозък и генетичния профил на болния. Пациенти с нисък риск се характеризират със средна преживяемост от 4.8 години, докато тези с висок с едва 4 месеца.

Патогенезата на МДС представлява сложна поредица от молекулярно-генетични, клетъчни

и имунни процеси в хода на формирането на дисхематопоезата. Най важните от тях са: интензифициране на самообновяването на хематопоеичната клетка или неин прогенитор; нарушена или блокирана диференциация; генетична и епигенетична нестабилност; наличие на антиапоптозни механизми в диспластичния клетъчен пул; избягване на протекивната роля на имунната система; подтискане на нормалната хемопоеза; абнормна костномозъчна микросреда, допринасяща за развитието на неопластичния клон.

Значителен напредък в разбирането на биологията на МДС настъпи с разкриването на епигенетичния модел на генна експресия, следствие

на хиперметиране на цитозинови остатъци в ДНК и ковалентна модификация на хистони. При МДС и ОМЛ са описани редица гени, таргет на хиперметиране. Сред тях са регулатори на клетъчния цикъл (CDKN2A (p14 and p16) and CDKN2B (p15), CTNNA1), регулатори на клетъчните взаимодействия (E-cadherin (CDH1)) и други. Тези познания обосновават терапевтичните изисквания за един нов подход в лечението на МДС и ОМЛ при възрастни болни - хипометиращи агенти, в частност- Azacitidine (Vidaza).<sup>4-7</sup>

**Azacitidine (Vidaza)** Механизъм на действие. Приема се че Azacitidine осъществява своите антинеопластични ефекти основно чрез: хипометиране на ДНК и РНК, както и чрез директен цитотоксичен ефект върху абнормния хематopoетичен компартмент в костния мозък. Цитотоксичния ефект на Vidaza е функция от следните процеси: 1. Инкорпориране на Vidaza в ДНК → 2. Хипометиране на абнормно метилирани гени, компрометиращи нормалния клетъчен цикъл, диференциация и апоптоза → 3. Генна реекспресия с възстановяване на Ту супресорния потенциал.

### КЛИНИЧНА ЕФЕКТИВНОСТ

Познанието за генетичните и епигенетичните механизми и в частност хиперметирането в патогенезата на МДС и острият миелоиден левкемия доведе до осезаема промяна в досегашното терапевтично поведение. Преди откриването на хипометиращите агенти терапевтичният алгоритъм в лечението на МДС варираше от поддържаща терапия при възрастни пациенти с широк коморбиден профил през нискодозиран Cytarabine, до ОМЛ- подобни режими при млади пациенти. Днес в ерата на генетиката и епигенетичните открития, хипометиращите агенти разкриха нови терапевтични перспективи разчупващи досегашния ход на МДС. Azacitidine (Vidaza) се прилага успешно и при възрастни пациенти с ОМЛ, не подходящи за стволово-клетъчна трансплантация. Въвеждането на Azacitidine (Vidaza) като стандартен терапевтичен метод при пациенти МДС –интермедиерен - 2 висок и много висок риск и възрастни болни с ОМЛ, е резултат на множество предклинични и клинични проучвания<sup>8-12</sup> Регистрацията на медикамента е на базата на данните от две основни многоцентрови рандомизирани клинични проучвания- CALGB 9221 и AZA-001<sup>8,9</sup>

Проучването CALGB 9221 включва 191 пациенти с миелодиспластичен синдром IPSS- висок риск, като сравнява ефективността на лечение с Azacitidine (Vidaza) 75 mg/ sc, 7 дни спрямо хематологична реанимация и растежни фактори. При 60% от пациентите на терапия с Azacitidine (Vidaza) след 6 - ти курс терапия се регистрира пълен терапевтичен отговор при 7%; частичен терапевтичен отговор при 16% при 37% подо-

брене на хематологичните показатели в срв с подобрение при 5% от пациентите на хематологична реанимация и растежни фактори. Медианата на времето до левкемична трансформация и/или летален изход при пациентите на терапия с Azacitidine (Vidaza) е 21 месеца срещу 13 мес при пациентите на хематологична реанимация. Проучването доказва, че терапията с Azacitidine (Vidaza) значително повишава терапевтичния отговор, намалява риска от левкемична трансформация и подобрява качеството на живот на пациента, редуцирайки трансфузионните нужди

Проучването AZA-001 сравнява терапевтичната ефективност на Azacitidine (Vidaza) и конвенционалните терапевтични режими при възрастни пациенти с МДС - IPSS интермедиерен-2 и IPSS- висок риск, като и при ОМЛ. Azacitidine (Vidaza) значително подобрява медианата на преживяемост в сравнение с конвенционалната терапия: 24 мес срещу 15 мес. Azacitidine (Vidaza) значимо отлага трансформацията в остра миелоидна левкемия, намалява трансфузионната зависимост на пациентите и инфекциозните усложнения, асоциирани с основното заболяване. Тези преимущества се наблюдават независимо от възрастта на пациентите., процента бласти в к.м. и/или хромозомните аберации.

### РОЛЯ НА AZACITIDINE (VIDAZA) В ТРАНСПЛАНТАЦИОННИТЕ РЕЖИМИ

Въпреки че алогенната констномозъчна трансплантация е най-ефикасния начин за лечение на миелодиспластичния синдром, едва 5% от пациентите биват трансплантирани, поради редица относителни и абсолютни противопоказания като възраст, придружаващи заболявания и наличието на подходящ донор. Преживяемостта без болест (DFS) сред пациентите понесли алогенна стволово-клетъчна трансплантация, според редица центрове варира около 30-50% в зависимост от варианта МДС. Интегрирането на хипометиращите агенти в перитрансплантационните режими е обект на множество проучвания.

Kim et al, 2012 обобщават ролята на хипометиращите агенти като мост към алогенна констномозъчна трансплантация при пациенти с МДС. От всички 19 пациента (7-нисък риск; 12- висок риск) след хипометиращата терапия двама постигат пълна ремисия (CR), 6-ма молекулярна ремисия (mCR), 3- хематологична ремисия и 6-ма стабилно заболяване. Общата преживяемост на втората година е 68 % и най-висока в групите с CR и mCR<sup>13</sup>. В проучването на de Lima et al, 2010 се оценява ролята на хипометиращите агенти в посттрансплантационните режими за поддържане на ремисията. В дозов режим 32 mg/m<sup>2</sup> 5 дни в 28 дневен цикъл, се съобщава за OS 58 - 77%<sup>14</sup>. Авторите заключват, че хипометиращата терапия в посттрансплантационните режими удължава продължителността на ремисията и обща-

та преживяемост, като по-дългото приложение е свързано с по-добри резултати<sup>15</sup>.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

През последните години станахме свидетели на епохални открития, разкриващи интимните механизми в биологията на МДС. Открития, които ремоделираха терапевтичните ни стратегии и подобриха мрачната прогноза на МДС. Хипометилиращите агенти се утвърдиха като основен терапевтичен агент при лечението на болни с МДС с висок риск и ОМЛ при възрастни болни. Имат относително безопасен профил на токсичност и значим положителен ефект върху преживяемостта на болните, продължителността на ремисията и качеството им на живот. Azacitidine (Vidaza) значително отдалечава във времето левкемичната трансформация и редуцира трансфузионните нужди на пациентите. В процес на уточняване са по-широките терапевтичен спектър на Azacitidine (Vidaza), комбинирането му с други терапевтични агенти и прецизиране на пациентите въз основа на обективни генетични и молекулярно генетични маркери.

12. Maurillo L, Venditti A, Spagnoli A, et al. Azacitidine for the treatment of patients with acute myeloid leukemia: report of 82 patients enrolled in an Italian Compassionate Program. *Cancer*. 2012;118(4):1014–22
13. Kim DY<sup>1</sup>, Lee JH, Park YH. Feasibility of hypomethylating agents followed by allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant*. 2012;47(3):374–9.
14. de Lima M, Giral S, Thall PF, et al. Maintenance therapy with low-dose azacitidine after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for recurrent acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndrome: a dose and schedule finding study. *Cancer*. 2010;116(23):5420–31.
15. Silverman LR, Fenaux P, Mufti GJ, et al. Continued azacitidine therapy beyond time of first response improves quality of response in patients with higher-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer*. 2011;117(12):2697–702

## Адрес за кореспонденция:

Д-р Методи Петров

Клиника по клинична хематология

МУ –Пловдив, УМБАЛ „Св.Георги“

Бул „Васил Априлов“ 15А

Тел: 032 602 421

Факс: 032 602 481

e-mail: b.metodi@gmail.com

## БИБЛИОГРАФИЯ

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016; 127(20):2391–405
2. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997;89(6):2079–88
3. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454–65.
4. Di Croce L, Raker VA, Corsaro M, et al. Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor. *Science*. 2002;295(5557):1079–82
5. Nieto M, Samper E, Fraga MF, et al. The absence of p53 is critical for the induction of apoptosis by 5-aza-2'-deoxycytidine. *Oncogene*. 2004;23(3):735–43
6. Jones PA, Taylor SM, Mohandas T, Shapiro LJ. Cell cycle-specific reactivation of an inactive X-chromosome locus by 5-azadeoxycytidine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79(4):1215–9.
7. Lyko F, Brown R. DNA methyltransferase inhibitors and the development of epigenetic cancer therapies. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(20):1498–506
8. Santini V, Fenaux P, Mufti GJ, et al. Management and supportive care measures for adverse events in patients with myelodysplastic syndromes treated with azacitidine\*. *Eur J Haematol*. 2010;85(2):130–8.
9. Fenaux P, Seymour JF, Santini V, et al. Challenges of phase III trial design for novel treatments in diseases with no standard treatment: the AZA-001 myelodysplasia study model. *Leuk Res*. 2014;38(2):258–62.
10. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, 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(3):223–32
11. Dombret H, Seymour JF, Butrym A et al. International phase 3 study of azacitidine vs conventional care regimens in older patients with newly diagnosed AML with >30% blasts. *Blood* 2015;126(3):291–9.

## НОВИЯТ ТИРОЗИНКИНАЗЕН ИНХИБИТОР ПОНАТИНИБ (ICLUSIG®) ОСИГУРЯВА НОВА НАДЕЖДА ЗА ПАЦИЕНТИ СЪС CML ПРИ НЕУСПЕХ НА ДРУГИТЕ ТЕРАПИИ

**Е. Джабур**, Отделение по левкемия, Тексаски университет, Онкологичен център „MD Anderson“;

**Т. Лион**, Изследователски институт по детски онкологични заболявания, Виена;

**Д. Апърли**, Отделение по хематология, Болница „Хамърсмит“, Имperiъл колидж, Лондон;

**Л. Лучано**, Отделение по хематология, Неаполитански университет „Федерико II“, Неапол;

**Д. Зачкова**, Отделение по вътрешни болести, хематология и онкология, Университетска болница  
Бърно, Чешка република;

**К. Миедзинска**

## THE NOVEL TYROSINE KINASE INHIBITOR PONATINIB (ICLUSIG®) PROVIDES NEW HOPE FOR CML PATIENTS FOLLOWING PREVIOUS THERAPY FAILURE

**Prof. Elias Jabbour, MD**, Department of Leukemia, University of Texas;

**Prof. Thomas Lion, MD, PhD**, Children's Cancer Research Institute, Vienna;

**Prof. Jane Apperley, MD**, Department of Haematology, Hammersmith Hospital, Imperial College London;

**Luigia Luciano, MD**, Department of Haematology, 'Federico II' University of Naples;

**Daniela Žáčková, MD**, Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital  
Brno, Czech Republic

**Katharina Miedzinska, MSc**

---

### Резюме.

- Хроничната миелоидна левкемия е потенциално фатално заболяване. TKI от първо и второ поколение осигуряват сериозен напредък в терапията, но за част от пациентите се изискват други възможности за лечение.
- Понатиниб е разработен да задоволява тази нужда и е доказано, че е високоефективен при пациенти, неуспешно лекувани с тирозинкиназните инхибитори от второ поколение нилотиниб и дасатиниб.
- Съотношението полза/риск на понатиниб е положително във висока степен, въпреки че има повишен риск от съдови оклузивни събития. Препоръчва се наблюдение на пациентите с активно лечение на подлежащите на модифициране рискови фактори (напр. хипертония, липиди) и намаляване на дозата след постигане на оптимален отговор.
- Трансплантацията на стволови клетки остава възможност за лечение, която трябва да се обмисли, но заболяемостта и смъртността са високи.

### Summary.

- Chronic myeloid leukemia is a potentially fatal disease. First-generation and second-generation TKIs provided major advances in therapy, but a proportion of these patients require other treatment options.
- Ponatinib was developed to fulfill this need, and it has proven to be highly effective in patients where the second-generation TKIs nilotinib and dasatinib fail.
- The benefit-to-risk ratio for ponatinib is high, although there is an increased risk of vascular occlusive events. Patient monitoring with active management of modifiable risk factors (e.g. hypertension, lipids), and decreasing the dose once optimal response is achieved is recommended.
- Stem-cell transplantation still remains a curative option to be considered, but morbidity and mortality are high.

Понатиниб, тирозинкиназен инхибитор (TKI) от трето поколение, представлява ново средство, което може да бъде ефективно при хронична миелоидна левкемия (CML) при неуспех на другите терапии. В рамките на експертна среща, организирана и финансирана от Анджелини Фарма, състояла се на 22-23 октомври 2015 във Виена, Австрия, водещи специалисти обсъждат различни терапевтични подходи за всички стадии на CML. В допълнение към безопасността и ефикасността на различните TKI дискусиата се фокусира по-конкретно върху множеството механизми за резистентност, тяхното повлияване и трансплантацията на стволови клетки (SCT). Изводите от проведката се среща са представени в настоящата статия.

С честота от 1-2/100 000 население (1), CML е един от най-честите левкемии.

CML възниква в резултат на генетична аберация t(9;22) в стволовите клетки на костния мозък, известна като Филадельфийска хромозома. Естественят ход на CML се дели на три стадия: хронична фаза (CP-CML; отклонения в <15% от белите кръвни клетки и костния мозък с продължителност: 4 – 6 години), фаза на акцелерация (AP – CML; отклонения в 15% – 30% от белите кръвни клетки и костния мозък с продължителност: 3 – 9 месеца) и фаза на бластна криза (BP – CML; отклонения в >30% от белите кръвни клетки и костния мозък с продължителност: 3 – 6 месеца) (1).

## ТЕРАПИЯ С ТИРОЗИНКИНАЗНИ ИНХИБИТОРИ И МЕХАНИЗЪМ ЗА РЕЗИСТЕНТНОСТ КЪМ ТЯХ

Проф. д.м.н. Елиас Джабур, Отделение по левкемия, Тексаски университет, Онкологичен център „MD Anderson“ представи преглед на настоящите стратегии за лечение за CML.

Повечето пациенти се диагностицират в хроничната фаза на CML. „Допреди 15 години успешното лечение на CML се ограничава до SCT. С въвеждането на TKI прогнозата и общата преживяемост при пациентите със CML се подобри значително, така че в днешни дни те представляват препоръчителната стандартна терапия в хроничната фаза на CML. След дългосрочно лечение с TKI приблизително 90% от пациентите все още са живи“, обясни проф. Джабур.

През 2001 г. иматиниб е първият TKI, разрешен за употреба за лечение на CML. Той е последван от второто поколение TKI-нилотиниб и дазатиниб и в по-скорошен период от бозутиниб. След това през 2013 г. понатиниб е първият TKI от трето

поколение, одобрен от Европейската агенция по лекарствата. Понатиниб е показан за лечението на пациенти със CP-CML, AP-CML, BP-CML и *остра* лимфоцитна левкемия, положителна за Филадельфийска хромозома (Ph+ ALL), които имат резистентност към дазатиниб или nilотиниб и за пациенти, които са с мутация T315I, или когато последващото лечение с иматиниб не е клинично уместно.

## МНОЖЕСТВО МЕХАНИЗМИ НА РЕЗИСТЕНТНОСТ

След 18-месечно лечение с иматиниб при повече от 95% от пациентите, рандомизирани в международно, регистрационно проучване за иматиниб, няма прогресия на заболяването (2). Въпреки това по-продължителното проследяване показва значителен процент на загуба на терапевтичен отговор и прекратяване на лечението при тези пациенти. Значителен дял пациенти има точкови мутации в свързващото място за АТР на ABL-киназния домейн (3). Разработването на nilотиниб и дазатиниб, TKI от второ поколение, позволява да бъдат преодолені повечето мутации, с изключение на T315I (1). Въпреки че дазатиниб се справя с няколко резистентни на иматиниб мутации (4), допълнителните мутации като T315A са резистентни на дазатиниб, докато nilотиниб е по-малко ефективен срещу мутации като Y253H и E459K (5). Проучванията показват, че с течение на времето терапиите с иматиниб, дазатиниб и nilотиниб са неуспешни при значителна част от пациентите, което обосновава нуждата от нови терапевтични възможности.

## ИЗПИТВАНЕ НА ПОНАТИНИБ ОТ ФАЗА I

Понатиниб е разработен да преодолява на всички видове BCR-ABL мутации, включително T315I. Показано е, че активният компонент на понатиниб има антиангиогенни и антинеопластични свойства и инхибира тирозин киназите, различни от BCR-ABL1, като например FLT-3, FGFR, VEGFR, PDGFR и c-Kit. За да се определи безопасността, действието и максималната доза, към която има поносимост, в изпитването от фаза I са включени 48 пациенти с рефрактерна левкемия (6). Прилагана е доза понатиниб от 2, 4, 8, 15, 30, 45 и 60 mg. След оценка на междинните резултати понатиниб 45 mg става препоръчителната доза за бъдещи проучвания. Пълен цитогенетичен отговор (CCyR) е постигнат при 63% от пациентите със CP-CML, като голям молекулярен отговор (MMR) има при 44%.

## ИЗПИТВАНЕ PACE

Откритото, многонационално, фаза II изпитване PACE (оценка на понатиниб при Ph+ ALL и CML) (7)

включва 449 пациенти, подложени на интензивно предварително лечение, които страдат от CML или Ph+ ALL и имат резистентност към или неприемливи нежелани реакции при приложение на иматиниб, нилотиниб и/или дазатиниб или мутация T315I на BCR-ABL. Пациентите са разделени в шест кохорти (Фигура 1). При последната съобщена гранична точка медианата на проследяването за цялата популация е 34 месеца (38 месеца в кохортата със CP-CML) (8). Пациентите приемат понатиниб 45 mg веднъж

дневно. При пациенти със CP-CML първичната крайна точка е голям цитогенетичен отговор (MCyR) през първите 12 месеца. При пациентите с AP-CML, BP-CML и Ph+ ALL първичната крайна точка е голям хематологичен отговор в рамките на 6 месеца.

Ефикасността на понатиниб е потвърдена от изпитването PACE. В кохортата със CP-CML 56% от пациентите постигат MCyR; 46% CCyR и 34% MMR. Пациентите,

подложени на предварително лечение с по-ниска интензивност, имат по-добри отговори.



**Фигура 1:** Процес на назначаване към резистентни/нетолерантни и T315I кохорти (7)

От 98-те пациенти със CP-CML, на които по-рано са прилагани два TKI, MCyR е постигнат при 67%, CCyR при 56% и MMR при 36%. Отговорите са продължителни. На година 2 от проследяването отговорът се запазва при 89% от пациентите. Преживяемостта без прогресия след 2 години е 67%, а общата преживяемост е 86%. Пациентите с Ph+ ALL 41% постигат голям хематологичен отговор и 47% постигат MCyR. Тромбоцитопения е наблюдавана при 37% от пациентите. Другите чести нежелани събития са обрив (34%), суха кожа (32%) и коремна болка (22%). Сериозни събития, изразяващи се в артериална оклузия, са наблюдавани при 18% от пациентите. Трябва да се спазват препоръките за наблюдение на пациентите и намаляване на дозата, за да се сведе до минимум рискът от такива събития. В заключение понатиниб има клинично значимо действие при пациенти със CML и пациенти с Ph+ ALL.

Безопасността и ефикасността на понатиниб са изследвани допълнително в две наскоро стартирали, международни, рандомизирани, открити изпитвания при пациенти със CP-CML. Целта на първото изпитване (OPTIC) е да се опише ефикасността и безопасността на понатиниб в диапазон от дози (15 mg в сравнение с 30 mg в сравнение с 45 mg). Второто изпитване (OPTIC-2L) изследва ефикасността и безопасността на понатиниб, приложен в две начални дози (15 mg в сравнение с 30 mg) в сравнение с нилотиниб (400 mg два пъти дневно) при пациенти,

резистентни към иматиниб.

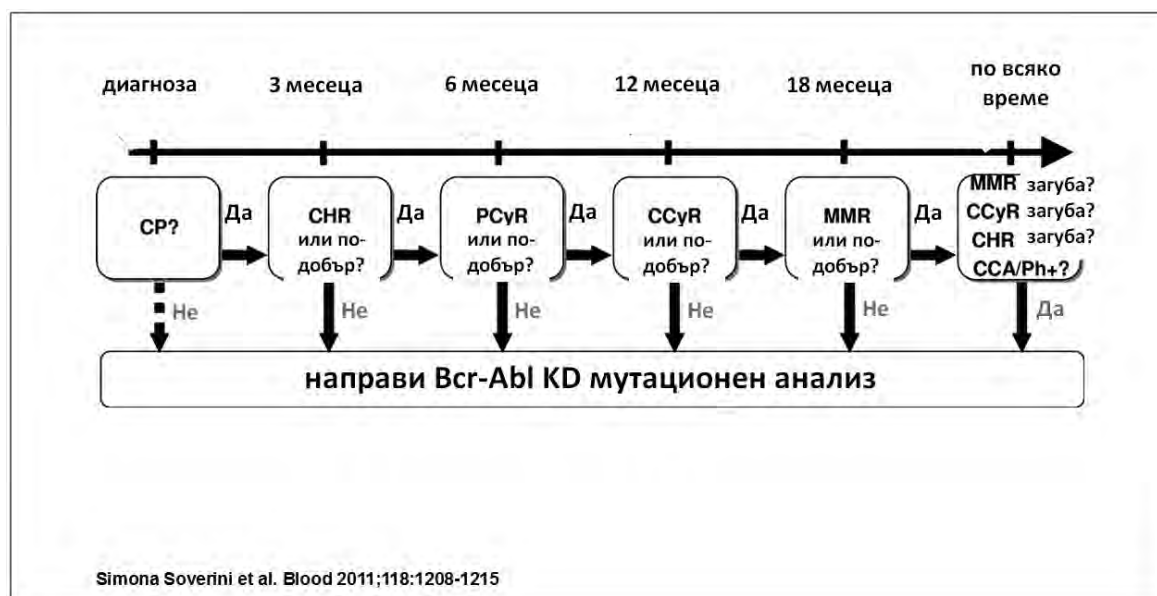
## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗА ОПТИМАЛЕН ОТГОВОР КЪМ НАЧАЛНОТО ЛЕЧЕНИЕ

Проф. д-р Томас Лион, д.м.н., Изследователски институт по детски онкологични заболявания, Виена, прави пълен преглед на терапевтичния отговор при CML.

По отношение на диагностичните критерии при CML проф. Лион се фокусира върху препоръките на Европейската левкемична мрежа за лечение на CML. Съгласно тези препоръки (9) отговорите към началното лечение с иматиниб, нилотиниб или дазатиниб се оценяват с помощта на стандартизирана, количествена, верижна полимеразна реакция в реално време и цитогенетично изследване на месеци 3, 6 и 12. Оптимален отговор се дефинира като нива на BCR-ABL1 транскрипти  $\leq 10\%$  на месец 3,  $< 1\%$  на месец 6 и  $\leq 0,1\%$  от месец 12 нататък, както и частичен CyR на месец 3 и CCyR от месец 6 нататък. Обратно,  $> 10\%$  CyR на месец 6 и  $> 1\%$  от месец 12 нататък и липса на CyR (Ph+ $> 95\%$ ) на месец 3, по-малък от частичен CyR на месец 6, както и по-малък от частичен CyR от месец 12 нататък дефинират неуспех и трябва да служат като база за промяна на лечението. За отговори към терапии от втора линия са осигурени сходни определения, както и специални препоръки за пациенти с AP-CML и BP-CML, както и за алогенни SCT.

Препоръчва се анализ на мутациите при CML за пациенти, които стават резистентни или показват недостатъчен отговор (Фигура 2). Рутинният анализ на BCR-ABL1-киназия домейн не е

показан за новодиагностицирани пациенти със CP-CML, но трябва да се проведе при пациенти с AP-CML или BC-CML. Специфичните мутации повлияват избора на TKI лечение.



**Фигура 2:** Обобщение на препоръките за мутационен анализ при пациенти със CML (10)

## ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА СТВОЛОВИ КЛЕТКИ

Проф. д.м.н. Джейн Апърли, Отделение по хематология, Болница „Хамърсмит“, Империъл колидж, Лондон, представи факти относно SCT.

През последните няколко години броят на SCT последователно намалява. „Трансплантацията на стволови клетки е единствената лечебна терапия за хронична миелоидна левкемия, но поради свързаните с нея проценти на смъртност и заболяемост вече не е първи избор за лечение,“ обясни проф. Апърли, позовавайки се на данни от Европейската асоциация по костно-мозъчна трансплантация. Докато през 2002 г. повече от 1000 пациенти със CML се подлагат на SCT, през 2014 г. при пациенти със CML са проведени само 205 SCT. Тази тенденция се наблюдава за всички стадии на CML и особено при CP-CML. „Въпреки това за някои пациенти трансплантацията на стволови клетки може да е добър трети избор и това трябва да се вземе предвид, ако TKI не постигат желаните ефекти,“ каза Апърли и добави „Както при тирозинкиназните инхибитори, крайните резултати в момента са много добри и нашата цел трябва да е преди всичко да определим няколкото пациенти, които ще авансират до бластна криза без интервенция с трансплантация на стволови клетки. В хроничната фаза всички подходящи пациенти, при които има неуспех след лечение с един TKI от второ поколение, и пациенти с

мутация T315I трябва да бъдат насочвани към център по трансплантации за ранна дискусия на ползите, въпреки че при пациенти с мутацията T315I трябва да започне лечение с понатиниб“.

## ПОВЕДЕНИЕ ПРИ ПАЦИЕНТИ СЪС СЪДОВ РИСК, ПОДЛОЖЕНИ НА ЛЕЧЕНИЕ С TKI

Д-р Луиджия Лучано, Отделение по хематология, Неаполитански университет „Федерико II“, Неапол, представи сърдечносъдовите ефекти, свързани с TKI и обясни как да се наблюдават пациентите със съдов риск, подложени на лечение с TKI.

Индивидуалният сърдечносъдов риск е от решаваща роля за поведението при пациенти на лечение с TKI. Възникването на нежелани събития като оток, миалгии, диария и повишение на панкреасните ензими при приложение на TKI е показано в множество проучвания през последните години. Действително, тъй като някои TKI могат да въздействат по необратим начин върху жизненоважни органи, като например сърцето и белите дробове, особено при наличие на съпровождащи заболявания, цялостното лечение на заболяването трябва да отчита променливите, свързани с болестта и лечението с TKI.

При популацията в старческа възраст сърдечно-съдовите заболявания са едни от най-честите,

съпровождат CML. Данните от национално изследване на здравето и храненето показват, че във възрастовата група на 40 – 59 годишните 34,4% от жените и 40% от мъжете страдат от сърдечно-съдово заболяване. В допълнение при пациенти на възраст  $\geq 80$  години повече от 80% страдат от някаква форма на сърдечно-съдово заболяване (11). Резултатите от ретроспективен анализ при 181 пациенти на възраст  $>75$  години със CP-CML, които са лекувани с иматиниб, показват, че съпровождащите заболявания изглежда въздействат на общата преживяемост и преживяемостта без събития и следователно оценката на съпровождащите заболявания при изходно ниво трябва да подобри първоначалното взимане на решения (12).

Сърдечно-съдовите нежелани събития, свързани с TKI, включват мозъчно-съдово заболяване, периферна артериална болест, венозна тромбоза, коронарна болест на сърцето, инфаркт на миокарда, кардиомиопатия, застойна сърдечна недостатъчност и белодробна артериална хипертония. Последното заболяване може да засегне по-конкретно пациенти, лекувани с дазатиниб, и може да възникне във всеки момент след начало на терапията, включително след повече от 1 година. Следователно пациентите с потвърдена белодробна артериална хипертония трябва окончателно да прекратят лечението с дазатиниб.

Сериозни сърдечно-съдови, мозъчно-съдови и периферни съдови събития, възможно свързани с лечението с понатиниб, са наблюдавани съответно при 6,7%, 5,6% и 5,1% от пациентите в изпитването PACE (7, 13). Намалването на дозата, което може да понижи броя или да предотврати случаите на токсичност, дължащи се на TKI, не повлиява отговора на лечението с понатиниб. По време на изпитване PACE случаите на намаляване на понатиниб до 30 mg и 15 mg са чести и при повечето пациенти отговорът се запазва.

Запо-доброцялостно лечение на съпровождащите заболявания основните показатели при изходно ниво включват подробно изследване на медицинската анамнеза на пациента, която с данни за подлежащите на модифициране рискови фактори (напр. тютюнопушене, дислипидемия, диабет, хипертония, затлъстяване), рисковите фактори, които не подлежат на модифициране (напр. предишни сърдечно-съдови събития, възраст, пол, семейна история, хронично бъбречно заболяване) (14), навици, семейна анамнеза и предварително лечение със съпровождащи медикаменти. Това трябва да е придружено от уточняване на серумните химични показатели (напр. панкреасни ензими, гликемия, билирубин, холестерол, чернодробни ензими), както и със съответните инструментални изследвания. В допълнение през първите 3

месеца от лечението биохимичните параметри и жизнените показатели трябва да се следят всеки месец. Последователното активно лечение на подлежащите на модифициране рискови фактори при пациента може да е ключов фактор за намаляване на риска на съпровождащите заболявания, като например артериални оклузивни събития. По време на лечение с TKI се препоръчва постоянно наблюдение на пациента. „В бъдеще засиленото сътрудничество между хематолози, кардиолози и ангиолози може да оптимизира лечението на пациенти със сърдечен риск, които приемат лечение с TKI“, подчерта Лучано.

Проведен е системен преглед на литературата (15), за да се сравни ефикасността на понатиниб и TKI от второ поколение (т.е. бозутиниб, дазатиниб, нилотиниб) при CP-CML с резистентност или непоносимост към един или повече TKI, прилага при по-рано. Изчислената вероятност за CCyR при приложение на TKI от второ поколение варира от 22% до 26% в сравнение с 60% с понатиниб.

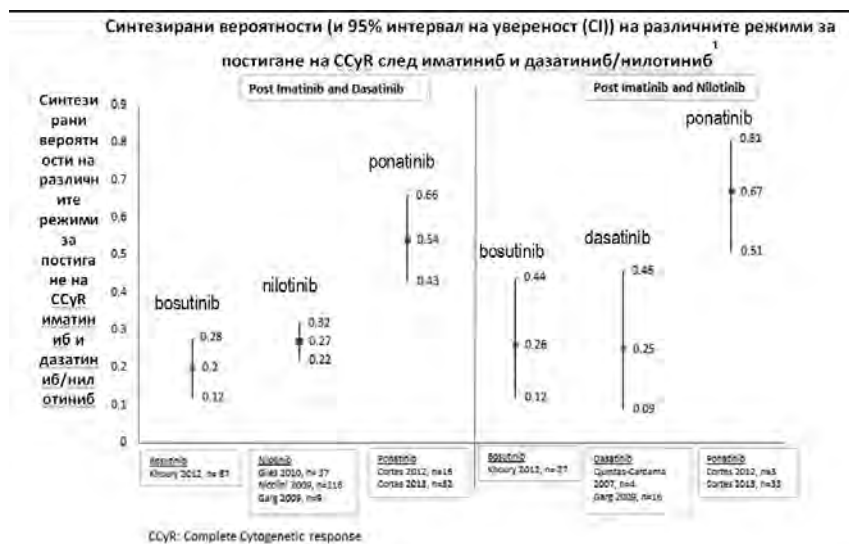
Изчислено е, че понатиниб осигурява по-голяма вероятност за постигане на MCyR и CCyR, отколкото бозутиниб, дазатиниб и нилотиниб (Фигура 3).

Проф. д.м.н. Елиас Джабур

„Терапията от първа линия трябва да продължи, ако пациентът е постигнал CCyR на месец 12. Ако не, трябва да се обмислят други терапии. Последователното прилагане на TKI от второ поколение (след неуспех на предишен TKI от 2ро поколение) не дава обещаващи резултати въз основа на наличните клинични данни поради ниската вероятност за постигане на CCyR. Пациентите с AP-CML и BP-CML и пациентите със CP-CML с резистентност към TKI от второ поколение имат полза от лечението с понатиниб, както и пациентите с T315I мутации“.

Случай на CML 1, представен от д.м.н. Даниела Зачкова, Отделение по вътрешни болести, хематология и онкология, Университетска болница Бърно, Чешка република: 66-годишен пациент със CP-CML и множество съпровождащи заболявания:

- Лечение от първа линия с иматиниб 400 mg веднъж дневно;
- Оптимален отговор към лечението след 3 и 6 месеца, неоткриваеми BCR-ABL транскрипти след 18 месеца;
- Следващо молекулярно изследване: покачване на нивата на транскриптите; мутационен анализ: T315I мутация;
- Промяна на терапията: понатиниб 45 mg веднъж дневно;
- След 3/6 месеца: T315I мутацията изчезва,



**Фигура 3:** Сравнителна ефикасност на трета линия терапия след неуспех на иматиниб и дазатиниб или нилотиниб (15)

възвърнат е MMR и BCR-ABL транскриптите са неоткриваеми;

- След 12 месеца: значим отговор към лечението (CCyR; 0 ECOG; 0 SAE; 0 AE; MR 4,0).

Случай на CML 2, представен от проф. д.м.н. Елиас Джабур, Отделение по левкемия, Тексаски университет, Онкологичен център „MD Anderson“: 65-годишна пациентка със CP-CML:

- Лечение от първа линия с иматиниб 400 mg веднъж дневно;
- След 3/12 месеца: постигане на пълен хематологичен отговор, нива на транскрипти >10%, липса на мутации в киназния домейн;
- Промяна на терапията: дазатиниб 100 mg веднъж дневно;
- На месец 3: BCR-ABL ≤10% IS
- Количествен PCR на месец 6: Нива на BCR-ABL 2%;
- След 12 месеца: загуба на MCyR (BCR-ABL 15% IS);
- Промяна на терапията: понатиниб 45 mg веднъж дневно, профилактика с нискодозови статини;
- Добър терапевтичен отговор: намаляване на дозата до понатиниб 30 mg веднъж дневно, след това до понатиниб 15 mg веднъж дневно;
- След 36 месеца: значим отговор към лечението, неоткриваем BCR-ABL.

## БИБЛИОГРАФИЯ

- Jabbour E. et al., Treatment selection after imatinib resistance in chronic myeloid leukemia, *Target Oncol.* 2009;4(1):3-10
- O'Brien S.G. et al., Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia, *N Engl J Med.* 2003;348:994-1004
- Hughes T. et al., Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting BCR-ABL transcripts and kinase domain mutations and for expressing results,

*Blood.* 2006;108(1):28-37

- Shah NP. et al., Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor, *Science.* 2004;305(5682):399-401
- Hughes T. et al., Impact of baseline BCR-ABL mutations on response to nilotinib in patients with chronic myeloid leukemia in chronic phase, *J Clin Oncol.* 2009;27(25):4204-4210
- Talpaz M. et al., Phase I trial of AP24534 in patients with refractory chronic myeloid leukemia (CML) and hematologic malignancies, *J Clin Oncol.* 2010; ASCO Annual Meeting Abstracts, Vol 28, No 15 suppl (May 20 Supplement), 2010: 6511
- Cortes J.E. et al., A phase 2 trial of ponatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias, *N Engl J Med* 2013;369:1783-1796
- Comment from the author: 48 months data were presented at ASH 2015
- Baccarini M. et al., European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013, *Blood.* 2013;122(6):872-884
- Soverini S. et al., BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet, *Blood* 2011;118:1208-1215
- Go A. et al., Heart disease and stroke statistics--2013 update: a report from the American Heart Association, *Circulation* 2013;127:e6-e245
- Breccia M. et al., Age influences initial dose and compliance to imatinib in chronic myeloid leukemia elderly patients but concomitant comorbidities appear to influence overall and event-free survival, *Leuk Res* 2014;38:1173-1176
- Iclusig™ Summary of Product Characteristics, ARIAD Pharmaceuticals
- Perk J. et al., European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Eur Heart J* 2012;33:1635-1701
- Lipton J.H. et al., Comparative efficacy of tyrosine kinase inhibitor treatments in the third-line setting, for chronic-phase chronic myelogenous leukemia after failure of second-generation tyrosine kinase inhibitors, *Leuk Res.* 2015;39(1):58-64

## Адрес за кореспонденция:

Katharina Miedzinska

Schmöllerlgasse 5/12, 1040 Vienna, Austria

E-mail: office@texterprobt.at

## ПРЕПОРЪКИ КЪМ АВТОРИТЕ

---

Редакционната колегия отправя молба към всички, които биха предложили материали за публикуване в научните издания на дружеството, да спазват следните изисквания:

1. Ръкописите се представят в два идентични екземпляра, написани на стандартни машинописни страници (30 реда, 60-66 знака на ред) или се изпращат в електронен формат.
2. Имената на авторите (разположени под заглавието) са в порядъка: собствено (съкратено с една буква и точка) и фамилия, следвани от местоработата.
3. Материалите не трябва да превишават следните размери:
  - **За Оригинални статии**, включително илюстрации и библиография (до 10 източника) без резюметата – 5-6 страници.
  - **За Обзори** – 10-15 страници.
  - **За раздел “Казуистика”** (лечебни, диагностични методи и др.) – 3 стр.
  - **За Реферати на статии** – 3 стр.
4. Всяка статия трябва да съдържа следните раздели: увод, материал и методи, резултати, обсъждане, заключение, библиография.
5. Библиографията се представя на отделна страница и съдържа до 10 източника за оригиналните статии и до 20 за обзорите. Източниците се подреждат според реда на използването им в текста, (не по азбучен ред).

Цитиране на статии: Фамилно име и инициал на всички автори, ако те са до трима. При повече от трима автори се посочват първите трима, последвано от “et al”, наименованието на списанието в съкратен вид според Index Medicus, година на публикуване, том, месец, брой, страници.

**Цитиране на книги и монографии:**  
**Автори, заглавие, място на издаване, издателство, година на издаване, страници**
6. Резюмето (до 15 реда) се представя на български и на английски език в три екземпляра, съдържащи имената на авторите и заглавието, както и ключови думи на български и английски език.

7. Фигури, диаграми, формули, черно-бели снимки (9x12 см) се представят на отделни листове със съответните заглавия, минимален обяснителен текст и легенда на български език. Те трябва да са максимално контрастни с едри букви и цифри, годни за непосредствено полиграфско възпроизвеждане. В лявото бяло поле на текста се посочва желаното място за поместване на всяка илюстрация.
8. Таблиците могат да се предоставят в текста или на отделни листове. Във втория случай се следват изискванията за фигури, диаграми, формули и форграфии.

### ВАЖНО ! НОВО !

9. **В случай, че материалите се изпращат по електронен път, всички картинки, таблици или схеми се предоставят като отделни файлове във формат .jpeg, .bmp или .tiff, в адекватна като качество резолюция, като имената на файловете на всяка картинка се изписват по адекватен начин, отговарящ на типа картинка и пореден номер – figura 1, tabliza 1 или друго. Картинките трябва да са разположени в текстовия файл на статията, за да се знае точното им местоположение. Моля да се има предвид, че всички картинки, таблици или схеми се отпечатват черно-бели.**
10. В края на статията или на отделен лист се посочват трите имена на водещия автор и адресът за кореспонденция.
11. Всички материали да се изпращат на адреса на редакцията на сп. “Клинична и трансфузионна хематология” – гр. Пловдив, бул. Васил Априлов № 15А, Клиника по Клинична хематология към УМБАЛ „Св. Георги“ ЕАД, за проф. д-р Стефан Горанов, дмн.

Всички текстови и графични материали се изпращат задължително на електронен адрес: **stefangoranov@yahoo.com**



БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО  
СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ

# ПЕТИ НАЦИОНАЛЕН СИМПОЗИУМ „Млад хематолог”

**18 - 20 ноември 2016 г.**

*хотел „Дипломат Плаза”, гр. Луковит*

## ОСНОВНИ ТЕМИ

- *Хематологична диагностика*
- *Миелопролиферативни/миелодиспластични неоплазии*
- *Лимфопролиферативни неоплазии*
- *Бенигнени и редки хематологични заболявания*
- *Интердисциплинарни проблеми*

ФИРМА ОРГАНИЗАТОР

„ВАСТЕЛС-България”

гр. София 1612, бул. “Акад. Иван Е. Гешов” 44

Лице за контакт: Михаела Янкулова

Тел: 0888 502 481/ 02 931 1117

e-mail: [events@wasteels.bg](mailto:events@wasteels.bg)

**[www.bulgarian-hematology.com](http://www.bulgarian-hematology.com)**