

Orginalni rad

ACTA FAC.MED.NAISS. 2002; 19 (2), 97-101

J.Bila, I. Elezović, D. Tomin,
M. Gotić, N. Suvajdžić-Vuković,
M. Čolović, A. Novak,
D. Bošković

Institut za hematologiju,
Klinički centar Srbije
Koste Todorovića 2, Beograd

KARIOTIP U PROGNOZI BOLESNIKA SA AKUTNOM MIJELOBLASTNOM LEUKEMIJOM

UVOD

Citogenetske abnormalnosti se javljaju u 60% bolesnika sa akutnom mijeloblastnom leukemijom (AML).^{1,2} Na osnovu dosadašnjih studija, bolesnici sa AML su podeljeni u 3 grupe u odnosu na prognozu, odnosno u 3 grupe različitog stepena rizika. Grupu niskog stepena rizika i povoljne prognoze čine bolesnici sa citogenetskim abnormalnostima tipa t(8;21) inv(16) sa/bez dodatnih aberacija, te bolesnici sa t(15;17) uz broj leukocita ispod $10 \times 10^9/l$. Bolesnici u kojih je utvrđeno postojanje aberacija tipa del 5, del 7, 3q-, Ph+, 1 Iq23, t(10;1) čine grupu sa visokim stepenom rizika i nepovoljnom prognozom. U grupi standardnog rizika su bolesnici sa normalnim kariotipom i svim drugim vidovima citogenetskih abnormalnosti.^(3>4)

Cilj naše studije je bio da se ispita prognostički značaj kariotipa u bolesnika sa de novo AML.

BOLESNICI I METODE

Ispitivanjem je obuhvaćeno 60 konsekutivno izabranih bolesnika sa de novo AML, ispitivanih i lečenih u Institutu za hematologiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu, u periodu od januara 1989 -januara 1992. god. Bolesnici su praćeni do avgusta 1998. god.

Dijagnoza AML je postavljena na osnovu kri-terijuma Morfološko-Imunološko-Citogenetske (MIC) klasifikacije koju čine morfologija, (FAB) imunofenotip i kariotip mijeloblasta.^(5,6>7,8) Uzorak kostne srži je dobijen aspiracionom punkcijom grudne kosti ili prednjeg/zadnjeg grebena ilijačne kosti. Morfološka dijagnoza AML postavljena je prema kriterij umima revidirane FAB klasifikacije iz 1985.god., a na osnovu citološkog nalaza kostne srži (mijelograma) bojenog po metodi May Griinvald Giemsa (MGG) i citohemijskog specifičnog bojenja: Periodic acid Schiff (PAS), myeloperoxidase (POX), nespecifična Alfa Naftil Acetat Esteraza (ANAE).^(5,6>7-8) Imunofenotip blasta je određivan iz suspenzije ćelija kostne srži metodom indirektno fluorescencije na protočnom citometru EPICS-C (Coulter immunology, Hielah, FI). Kao kriterijum pozitivnosti smatrana je ekspresija u najmanje 20% analiziranih ćelija, dok je za CD34 i TdT minimum bio 10%. Analiza kariotipa je rađena na ćelijama kostne srži primenom direktne metode i metode kratkotrajne iv vitro ćelijske kulture posle 24 h i 48 h. Ćelije su bile izložene dejstvu 0,001 mg/ml kol-cemida 1-2 h na 37° C. Deset bolesnika je ispitano standardnom metodom GTG band-a, a 50 bolesnika modifikovanom metodom HG band-a.⁽⁹⁾ Patološki klon je definisan prisustvom najmanje 2 ćelije sa istom hromozomskom i strukturnom aberacijom ili najmanje 3 ćelije sa nedostatkom istog hromo-zoma.⁽¹⁰⁾ Hromozomske aberacije su klasifikovane prema Internacionalnom sistemu citogenetske nomenklature u ljudi.⁽¹¹⁾

Svi bolesnici su lečeni primenom hemioterapije (HT) po standardnom indukcionom protokolu "3+7": Daunorubicine 45 mg/m² i.v.

I - III dana, Cytosine arabinoside 200 mg/m² i.v. cont. I - VII dana.

Kompletna remisija osnovne bolesti je definirana prema kriterijumima National Cancer Institute-a: 1) broj neutrofila iznad 1500 /mm³ i trombocita iznad 100 000/mm³, 2) celularnost kostne srži veća od 20%, uz manje od 5% blasta, 3) normalno sazrevanje u svim hematopoetskim linijama.⁽¹²⁾

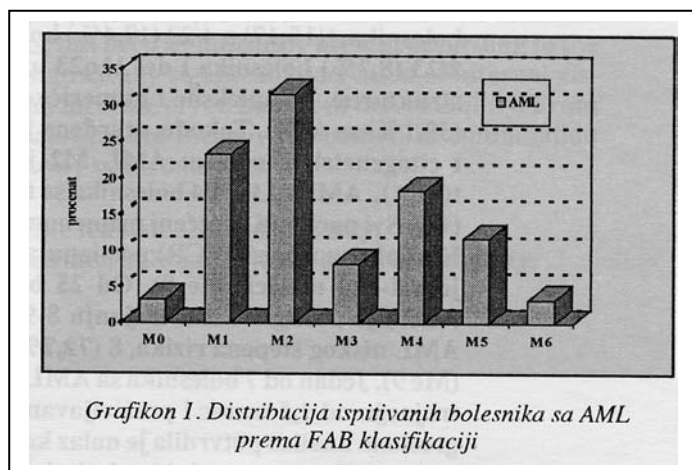
U statističkoj obradi podataka primenjeni su deskriptivni statistički parametri, metoda životnih tablica i grafički prikaz Kaplan Meier-ove krive, te multivarijantne statističke metode (diskriminaciona analiza i regresiona analiza).⁽¹³⁾

REZULTATI

Prema MIC klasifikaciji u svega 2/60 ispitivanih bolesnika (3,3%) postavljena je dijagnoza AML M0. AML M1 je dijagnostikovana u 14/60 bolesnika (23,3%). U najvećeg broja bolesnika dijagnostikovana je AML M2, 19/60 (31,7%). Dijagnoza AML M3 je postavljena u 5/60 bolesnika (8,3%), AML M4 u 11/60 (18,3%), AML M5 u 7/60 (11,7%), a AML M6 u 2/60 (3,3%). (Grafikon 1).

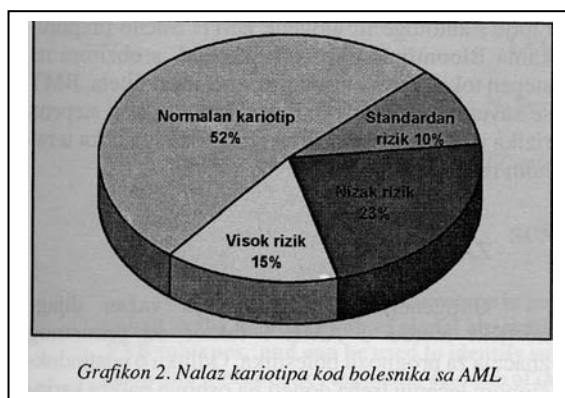
Grafikon 1. Distribucija ispitivanih bolesnika sa AML prema FAB klasifikaciji

Analizom ekspresije specifičnih membran-skih antigena utvrđeno je da u 93% bolesnika blasti ekspresiraju mijeloidne markere CD33 i CD13, a da čak u skoro 90% bolesnika postoji ekspresija antigena HLA-DR i CD34, specifičnih za mlade nezrele ćelije niskog stepena diferencijacije. U gotovo 30% bolesnika na blastima je zabeležena ekspresija bar jednog limfoidnog antigena: TdT, CD 19, CD20, CD2, CD3, CD5 ili CD7. U 95% bolesnika sa AML M4 i M5 (17/18 bolesnika) blasti ekspresiraju



monocitoidni imunofenotip (CD11b, CD14, CD15) +. Pozitivan nalaz ekspresije GpA zabeležen je u 2/60 bolesnika, što korelira sa FAB nalazom AML M6. Ekspresija specifičnog megakariocitnog antigena CD41 (Gp IIb/IIIa) nije zabeležena ni u jednog bolesnika.

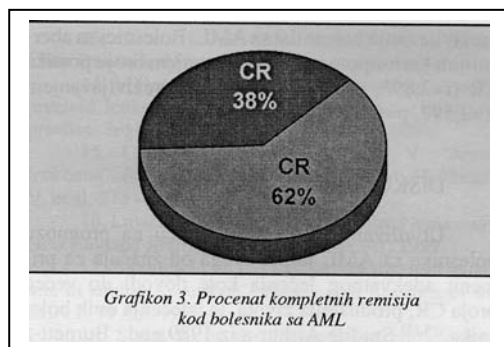
Ispitivanje kariotipa nije bilo dostupno u 12/60 bolesnika (20%) sa AML zbog nedostatka mi-toze. Normalan kariotip je utvrđen u 25/48 bolesnika (52,1%), a citogenetske aberacije kod 23/48 bolesnika (47,9%) sa AML. U 11/23 bolesnika (47,8%) postojale su citogenetske abnormalnosti niskog stepena rizika: t(8;21) u 4/11 bolesnika (36,3%), t(15; 17) u 4/11 bolesnika (36,3%) i inv(16) u 3/11 bolesnika (27,4%). Kod 5/23 bolesnika (21,8%) su dokazane citogenetske abnormalnosti standardnog rizika. U 7/23 bolesnika (30,4%) su postojale aberacije visokog stepena rizika: del 5 u 2/7 bolesnika (28,6%), del 7 u 2/7 bolesnika (28,6%), t(9;22) u 2/7 bolesnika (28,6%) i del 1 Iq23 u 1/7 bolesnika (16,7%). (Grafikon 2).



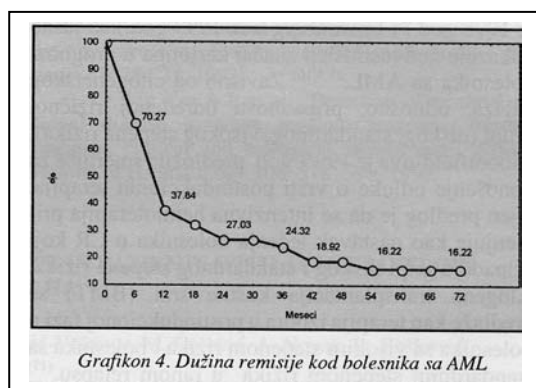
Grafikon 2. Nalaz kariotipa kod bolesnika sa AML

Poređenjem FAB nalaza i kariotipa utvrđeno je: 1) u 3/4 bolesnika sa t(8;21) postavljena je dijagnoza AML M2, 2) kod sva četiri bolesnika sa t(15;17) postavljena je dijagnoza AML M3, i 3) u 2/3 bolesnika sa inv(16) postavljena je dijagnoza AML M4.

Rezultati lečenja su pokazali da je CR postignuta u 37/60 bolesnika (61,7%) sa AML. (Grafikon 3). Prema FAB klasifikaciji CR je postignuta: u 10/14 bolesnika (71%) sa AML M1, u 10/19 bolesnika (53%) sa AML M2, u 5/5 bolesnika (100%) sa AML M3, u 7/11 bolesnika (64%) sa AML M4, u 4/7 bolesnika (57%) sa AML M5 i u 1/2 bolesnika (50%) sa AML M6. CR nije postignuta ni u jednog bolesnika sa AML M0 (0%). Dužina trajanja remisije je bila 1-100 meseci (Me 9). (Grafikon 4.).



Grafikon 3. Procenat kompletnih remisija kod bolesnika sa AML

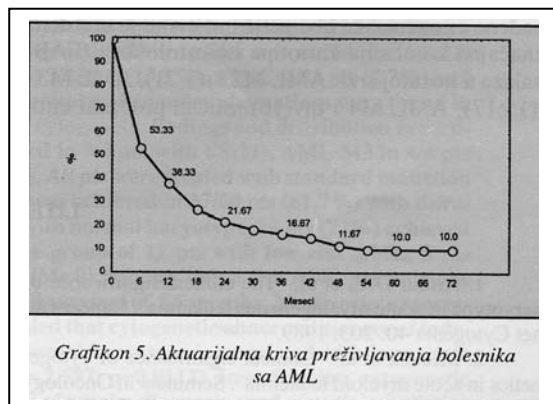


Grafikon 4. Dužina remisije kod bolesnika sa AML

Od 11 bolesnika sa citogenetskim abnormalnostima niskog stepena rizika i povoljne prognoze, kao što su: t(8;21) u 4 bolesnika, t(15;17) u 4 bolesnika i inv(16) u 3 bolesnika, postignuta je CR u 8/11 bolesnika (72,7%). Kod bolesnika sa citogenetskim abnormalnostima standardnog rizika postignuta je CR u 2/5

bolesnika (40%), dok je u grupi bolesnika sa normalnim kariotipom CR postignuta u 18/25 bolesnika (72%). Od 7 bolesnika sa aberaci-jama visokog stepena rizika, svega 1 bolesnik je postigao CR sa dužinom od 1,5 meseca i preživljavanjem od 2,5 meseca.

Srednja dužina preživljavanja ispitivane grupe bolesnika sa AML bila je 7,5 meseci sa intervalom varijacije 1,3-101 mesec. (Grafikon 5).



Grafikon 5. Aktuarijalna kriva preživljavanja bolesnika sa AML

Multivarijantnom regresionom analizom utvrđeno je daje nalaz kariotipa značajan prognostički faktor od uticaja na postizanje remisije i dužinu preživljavanja bolesnika sa AML. Bolesnici sa aber-antnim kariotipom u značajno manjem broju postižu CR ($t=2,893$, $p=0,049$) sa kraćim preživljavanjem ($t=2,597$, $p=0,0112$).

DISKUSIJA

Utvrđivanje faktora koji utiču na prognozu bolesnika sa AML je pre svega od značaja za primenu adekvatnog lečenja koje dovodi do većeg broja CR, produženja života, te izlečenja ovih bolesnika.⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾ Studije Arthur-a iz 1989.god., Burnett-a iz 1998.god., i Lowenberg-a iz 1999.god.) su jasno dokazale nedvosmislen značaj kariotipa u prognozi bolesnika sa AML.^(U>16) Zavisno od citogenetskog nalaza, odnosno, pripadnosti određenoj rizičnoj grupi (niskog, standardnog, visokog stepena rizika), Bloomfield-ovaje 1996. god. predložila smemice za donošenje odluke o vrsti postindukcionih terapija. Njen predlog je da se intenzivna hemioterapija pri-menjuje kao nastavak lečenja bolesnika u CR koji pripadaju gripi niskog i standardnog stepena rizika. Alogena transplantacija kostne srži (BMT) se predlaže kao terapija izbora u postindukcionoj fazi u bolesnika sa visokim stepenom rizika i bolesnika sa standardnim stepenom rizika u ranom relapsu.⁽¹⁷⁾ Napredak molekularne biologije omogućuje da se sagleda značaj kariotipa ne samo kao prognostičkog faktora u cilju postizanja CR, već i kao odlučujućeg elementa pri donošenju odluke o vidu lečenja. Savremene tehnološke metode kao što su protočna citometrijska "in situ" hibridizacija (FISH) i "po-limerase chain" reakcija (PCR), omogućavaju pro-cenu terapijskog odgovora i detekciju minimalne rezidualne bolesti (MRD), a samim tim adekvatno i pravovremeno donošenje odluke o primenjenom vidu lečenja.

U ispitivanoj grupi bolesnika kod 50% su nađene citogenetske aberacije, pri čemu je utvrđena značajna korelacija kariotipa i morfološkog (FAB) nalaza u kostnoj srži: AML M2 i $t(8;21)$, AML M3 i $t(15;17)$, AML M4 i $inv(16)$. Sličan procenat cito-genetskih aberacija (50-60%) i korelacija morfološkog (FAB) nalaza su potvrđeni u studijama Second MIC Cooperative Group iz 1988.god., Art-hrura-a iz 1989.god., Stassi-a iz 1993.god., Andrieu-a iz 1996.god., i Secker - Walker-ove iz 1999.god. Takođe, u ispitivanoj grupi bolesnici niskog i standardnog rizika u jasno većem broju (60-73%) postižu CR, u odnosu na bolesnike visokog stepena rizika, što je potvrđeno multivarijantnom regre-sionom analizom. Poređenjem grupe bolesnika sa aberantnim u odnosu na normalan kariotip, utvrđeno je da je broj postignutih CR u prvoj grupi značajno manji ($p< 0,05$), a dužina života kraća ($p< 0,05$). Ovi rezultati su u saglasnosti sa postulatima iznetim od strane Burnett-a i

Lowenberg-a koji potenciraju prognostički značaj kariotipa kod bolesnika sa AML.⁽³⁻¹⁶⁾

Praktična primena ovih postulata izneta je u radu Harousseau-a iz 2001. god., gde se ističe značaj pripadnosti određenoj rizičnoj grupi bolesnika sa AML u prvoj CR. Zavisno od nalaza kariotipa, lečenje se nastavlja primenom intenzivne hemiote-rapije / autologe ili alogene BMT. Slično preporukama Bloomfield-ove iz 1996. god. s obzirom na stepen toksičnosti i visok procenat mortaliteta, BMT se savetuje isključivo bolesnicima visokog stepena rizika u CR ili bolesnicima standardnog rizika u ranom relapsu.^{(417>}

ZAKLJUČAK

Citogenetsko ispitivanje je važan dijagnostički metod u AML i faktor od primarnog značaja za prognozu bolesnika. Odluku o postinduk-cionom lečenju treba doneti na osnovu nalaza kariotipa. Kod bolesnika niskog i standardnog stepena rizika u prvoj CR, savetuje se nastavak lečenja primenom intenzivne hemioterapije uz razmatranje mogućnosti autologe transplantacije u ranom re-lapsu. Isključivo kod bolesnika visokog stepena rizika savetuje se alogena BMT u prvoj CR.⁽⁴⁾

LITERATURA

1. Arthur D.C. et al: "The clinical significance of karyotype in acute mvelogeneous leukemia". Cancer Ge-net Cytogenet40: 203, 1989.
2. Mrozek et al: "Clinical significance of cvtoge-netics in acute mveloid leukemia". Seminars in Oncology 24: 17-31, 1997.
3. Burnett K.A.: "Treatment and predictive factors in AML". Educational Program Book, Combined Hae-matologv Congress ISH-EHA, 105-108, 1998.
4. Harousseau J.L: "Transplantation for acute mveloid leukemia in first remission". Educational Book of the EHA 6 Meeting, 152-158, 2001.
5. Bennett J.M et al: "Proposed revised criteria for the classification of acute mveloid leukemia". A report of the French-American-British Cooperative Group. Ann Intern Med 103: 620-629, 1985.
6. Second MIC Cooperative Study Group: "Mor-phologic, Immunologic and Cytogenetic (MIC) Working Classification of the Acute Myeloid Leukemia". Cancer