

Listopad 2010.

ISSN 1847-2273

Bilten Krohema

Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem



Volumen 2., Broj 2.

KroHem

Impresum

Bilten Krohema
Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem
Volumen 2., Broj 2., Listopad 2010.

Nakladnik:

Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti Krohem

Za nakladnika:

Boris Labar

Glavni urednik:

Dražen Pulanić

Tajnica Krohema:

Dijana Perčin

Autori tekstova:

Drago Batinić	Ružica Lasan Trčić
Josip Batinić	Mirjana Marković-Glamočak
Ana Boban	Vlatko Pejša
Koraljka Gjadrov Kuveždić	Zinaida Perić
Velka Gverić-Krečak	Mladen Petrovečki
Ozren Jakšić	Sunčica Ries
Biljana Jelić-Puškarić	Mirna Sučić
Ika Kardum-Skelin	Toni Valković
Marin Kursar	Radovan Vrhovac
Rajko Kušec	Renata Zadro
Boris Labar	

Uputa suradnicima:

Materijali se šalju na adresu uredništva "Bilten Krohema", Trg hrvatskih velikana 2,
10 000 Zagreb, u elektronskom i tiskanom obliku, te obvezno i na adresu E-pošte urednika
dpulanic@yahoo.com

Objavljeni tekstovi predstavljaju stav autora i Uredništvo se ne mora slagati
s iznešenim mišljenjima.

Opis slike na naslovnici:

Sliku "Ozdravljenje" na naslovnici izradila je gospođa Marinka Premuš, a sliku je fotografirao gospodin Tomislav Smolčić,
na čemu im se Uredništvo zahvaljuje.

Sadržaj

Boris Labar: Uvodnik: Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti KROHEM nakon četiri godine	2
Ozren Jakšić, Velka Gverić-Krečak, Marin Kursar, Vlatko Pejša: Istraživanje progresije/evolucije B-KLL KROHEM KLL-01 – prikaz pilota	3
Ika Kardum-Skelin, Mirna Sučić, Biljana Jelić-Puškarić, Drago Batinić: Standardni pristup dijagnostici akutnih leukemija	4
Mirna Sučić, Ika Kardum-Skelin, Mirjana Marković-Glamočak, Sunčica Ries, Koraljka Gjadrov Kuveždić, Boris Labar: Citomorfologija akutnih leukemija - dijagnostičke smjernice i usporedba s drugim dijagnostičkim pokazateljima	7
Ružica Lasan Trčić: Postupnik za citogenetsku dijagnostiku akutnih leukemija	15
Renata Zadro, Rajko Kušec: Važnost molekularnog odgovora u kroničnoj mijeloičnoj leukemiji	18
Ana Boban: Prijedlog ispitivanja rijetkih poremećaja krvarenja žena generativne dobi	19
Toni Valković, Boris Labar: Dijagnoza, liječenje i praćenje preopterećenja željezom u sindromu mijelodisplazije - prijedlog hrvatskih smjernica	21
Radovan Vrhovac: Radna skupina KROHEM-a za potpornu terapiju	25
Zinaida Perić: Registri za kroničnu mijeloičnu leukemiju	26
Josip Batinić: Registar oboljelih od multiplog mijeloma	29
Mladen Petrovečki: Osam dana Hodgkinovog limfoma: (neobičan) prikaz slučaja	30

Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti KROHEM nakon četiri godine

Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti KROHEM nakon četiri godine postojanja ima prepoznatljivu sadašnjost i ohrabrujuću budućnost. U protekle četiri godine rada bilo je potrebno ne samo osigurati »hladni pogon« već »uvjeriti se« da je takav vid aktivnosti za hematologiju jedan od prioriteta. Sada je potrebno podvući crtu, osvrnuti se unatrag što smo do sada napravili i krenuti dalje s jasnom putnikom. Stoga mi dozvolite da se kratko osvrnem na prošlo razdoblje.

Nakon osnivanja KROHEM-a trebalo je osigurati nesmetano funkcioniranje grupe ponajprije realizacijom finansijske sigurnosti. Zaposlena je tajnica koja je zadužena za administraciju i logistiku KROHEM-a. Oba su cilja ostvarena, pa danas grupa obavlja sve svoje zadaće bez većih finansijskih poteškoća. Upravo smo nedavno na sjednici Upravnog odbora dogovorili da se sjedište KROHEM-a građevinski obnovi i uredi.

Sljedeći važan iskorak bile su radne skupine. KROHEM je osnovao niz radnih skupina koje danas djeluju i koje više-manje imaju potpunu stručnu samostalnost u svom radu. Radne skupine koje djeluju unutar KROHEM-a su:

1. Akutne leukemije – koordinator B. Labar;
2. Maligni limfomi – koordinator I. Aurer;
3. Konična limfocitna leukemija
– koordinator B. Jakšić;
4. Multipli mijelom – koordinator D. Nemet;
5. Konična mijeloična leukemija
– koordinator B. Labar;
6. Ph negativni konični mijeloproliferativni tumori
– koordinator R. Kušec;
7. Hemostaza i tromboza
– koordinator S. Zupančić Šalek;
8. Potporna terapija u hematologiji
– koordinator R. Vrhovac;
9. Hematopatologija – koordinator S. Gašparov;
10. Laboratorijska hematologija
– koordinator D. Batinić;
11. Centar obrade podataka
– koordinator M. Petrovečki.

Hematolozi pedijatri su također djelovali unutar KROHEM-a, samo njihov status kao radne skupine nikada do kraja nije bio razriješen. Zato je jedan od prioritetnih zadataka raspraviti i odrediti način, mjesto i ulogu djeće hematologije u radu kooperativne grupe.

Zadatak radnih skupina ogledao se i ogleda se u radu i provedbi nekoliko jasno određenih zadataka.

Većina radnih skupina uspostavila je registar za odgovarajuću bolest. Na taj se način želi što je moguće objektivnije procijeniti ponajprije incidencija i prevalencija hematoloških bolesti. Drugi važan zadatak je izrada preporuka i standarda dijagnostike i liječenja. Treba reći da je većina radnih skupina u završnoj fazi izrade preporuka, neke su već publicirane (npr. limfomi), neke predane za publikaciju (npr. esencijalna trombocitemija), a neke u završnoj fazi izrade (multipli mijelom, konična mijeloična leukemija, policitemija vera i akutne mijeloične leukemije). Zadatak koji nastojimo što prije realizirati su klinička istraživanja, ponajprije prospektivna. Unatoč mnogim prijedlozima i idejama još nismo došli do kreativne razine.

KROHEM ima svoju web stranicu koja nažalost još uvijek nije zaživjela. Upravo stoga postojala je potreba da se osnuje Centar obrade podataka KROHEM-a. Za učinkoviti rad Centra nužna je finansijska i kadrovska podrška. Stoga očekujemo od koordinatora jasnu potrku kako dalje, te konkretno sve potrebne uvjete za kvalitetan rad.

I za ovaj sastanak uspjjet ćemo tiskati Bilten KROHEM-a. Kažem uspjeti, jer ima dosta nerazumijevanja i poteškoća u realizaciji njegove pripreme, ponajprije u prikupljanju tekstova za Bilten. O čemu je riječ? Kao što znate, dogovorili smo se da se za svaki broj Biltena tiskaju rasprave, preporuke i prijedlozi prethodnog sastanka. No, to je bilo lako dogovoriti. Ali dobiti napisani tekst već je mnogo teže. Stoga bi na našem sastanku trebalo jasno raspraviti i dogovoriti kako dalje s Biltenom. Mislim da je Bilten neophodan, da svojom kvalitetom mora stalno pokazivati uzlazan »smjer« i samo takav ima mjesto a onda i prepoznatljivost.

Na sljedećem sastanku u Šibeniku održat će se izborna skupština KROHEM-a. Nakon četiri godine rada potrebno je raspraviti sve ono što smo postigli i još više ono što nas čeka u neposrednoj budućnosti. Stoga Vas pozivam da svojim konstruktivnim ali i kritičkim raspravama doprinesete boljem radu KROHEM-a.

Prof. dr. sc. Boris Labar, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutrašnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: boris.labar@inet.hr

Istraživanje progresije/evolucije B-KLL KROHEM KLL-01 – prikaz pilota

Ozren Jakšić¹, Velka Gverić-Krečak²,

Marin Kursar³, Vlatko Pejša¹

¹KB Dubrava, ²OB Šibenik; ³ŽB Čakovec

Adresa autora za kontaktiranje:

doc. dr. sc. Ozren Jakšić, dr. med.

Odjel za hematologiju, Klinička bolnica Dubrava, Zagreb

E-pošta: ojaksic@kbd.hr

Uvod

Ciljevi istraživanja progresije/evolucije B-KLL KROHEM KLL-01 su: 1) ustanoviti čimbenike pri dijagnozi koji su povezani s tipom progresivnosti bolesti; 2) ustanoviti dolazi li u pojedinim tipovima progresije do mjerljivih promjena u stanicama neoplastičnog klena (evolucija).

Istraživanje bi uključivalo sve bolesnike s tipičnim B-KLL imunofenotipom (B-KLL, MBL) koji nisu liječeni. Ukoliko postoji interes u istraživanje mogu biti uključeni kao posebne skupine: 1) KLL s atipičnim fenotipom; 2) LML s tipičnim fenotipom.

Mjere ishoda (eng. endpoints): 1) vrijeme do početka liječenja (eng. time to treatment – TTT); 2) vrijeme do početka progresije (eng. time to progression); 3) vrijeme do dosizanja određenih granica tumorske mase (TTM 9, 15).

Statistička razmatranja. U RH je incidencija oko 225 bolesnika, a 66% bolesnika na kraju zahtijeva liječenja iz čega proizlazi oko 150 očekivanih ishoda godišnje u RH. Broj ishoda u istraživanju - ovisno o zainteresiranosti istraživača i uključivanju bolesnika u istraživanje

Pilot – ispitivanje izvedivosti

U pilotu su sudjelovala 3 centra: KB Dubrava (O. Jakšić, V. Pejša), OB Šibenik (V. Gverić-Krečak) i ŽB Čakovec (M. Kursar). Planirana obrada prikaza na je u Tablici 1.

Tablica 1. Obrada bolesnika.

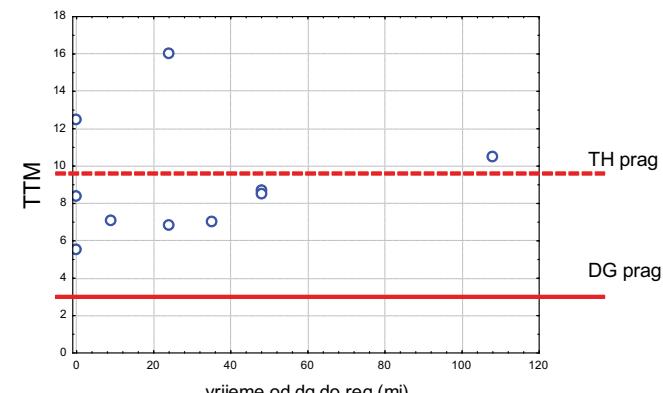
	ULAZ - REGISTRACIJA	Praćenje (3-6m)	Ishod	Praćenje nakon ishoda (6m)
Klinički pregled, KKS, DKS, TTM	X	X	X	X
Biokemija (kompletan uz B2MG, Ig)	X		X	
Imunofenotip	X		X	
Morfologija PHD, citologija	X		X	
FISH	X		X	
CT, UZ	X		X	
Pohrana (Istraživanje)	X		X	

Učinjena je "registracija" 10 bolesnika, 7 bolesnika je praćeno (najmanje 3 mjeseca) i zabilježena su 3 "ishoda". Obilježja bolesnika prikazana su u Tablici 2., dok je uznapredovalost bolesti u odnosu na vrijeme od dijagnoze prikazana na Slici 1.

Tablica 2. Obilježja bolesnika.

Spol M/Ž	7/3
Dob (medijan, raspon)	70,5 (47-78)
Vrijeme od dg do reg.	24 (0-108)
TTM	8,45 (5,5-16,0)
Rai stadiji	
0	2
I+II	5
III+IV	3
Leukociti	43,1 (26,7-122)
Beta-2 mikroglobulin	2,7 (1,6-5,7)
CD38+/Zap-70+ (%)	50/50
FISH (11q/17p) n=7	1/0
CT nije detektirao veće LČ, splenomegaliju (u odnosu na klinički pregled ili UZ)	

Slika 1. Uznapredovalost/vrijeme od dijagnoze.



Pilot istraživanje je pokazalo da je studija izvediva. Dogovorena je izrada završne verzije protokola uz usklađivanje s predloženim preporukama KROHEM-a za KLL te s iskustvima iz pilota (opservacijsko longitudinalno neinterventno istraživanje). Obzirom da predloženo istraživanja omogućuje i standardiziranu i kvalitetnu obradu svih uključenih bolesnika pri dijagnozi i prije početka liječenja – u svim centrima u RH te standardizirano praćenje zbog svoje komplementarnosti s najavljenim registrom potrebno je njihovo usklađivanje.

Standardni pristup dijagnostici akutnih leukemija

Postupnik

Pododbor za laboratorijsku hematologiju i morfologiju – citomorfologija

Ika Kardum-Skelin¹, Mirna Sučić²,

Biljana Jelić-Puškarić¹, Drago Batinić³

¹Klinička bolnica Merkur, ²Klinička bolnica Sveti Duh,

³Klinički bolnički centar Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

Doc. dr. sc. Ika Kardum-Skelin, dr. med.

Laboratorij za citologiju i hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

Klinička bolnica Merkur, Zagreb

E-pošta: ikardum@hi.t-com.hr

1. Uvod

Citomorfologija je temeljna dijagnostička metoda, odlučujuća za dijagnozu akutnih leukemija zbog karakterističnog izgleda samih leukemijskih stanica. Kao prva morfološka analiza daje dovoljno informacija za pouzdano postavljanje dijagnoze, odabir dodatnih tehnologija za klasifikaciju kako na citološkim razmazima (citokemija, imunocitokemija, određivanje proliferacijskih biljega...) tako i ostalih metoda koje koriste citološki uzorak (fentotipizacija, citogenetika, molekularna dijagnostika, itd.). Samim time postaje važan čimbenik u odabiru terapijskih protokola, prognozi i procjeni rezultata liječenja.

2. Sekcija za analitičku citologiju Hrvatskog društva za kliničku citologiju HLZ

Na prijedlog prof. dr. sc. Drage Batinića i članova Inicijativne skupine 2008. godine osnovana je Sekcija za analitičku citologiju Hrvatskog društva za kliničku citologiju HLZ. Cilj analitičke citologije jest integracija različitih disciplina sa zajedničkim ciljem u istraživanju stanica u znanstvene i primjenjene svrhe te promoviranja i unaprjeđenja stručnog i znanstvenog rada na području citologije i citodiagnostike, odnosno razvijanja novih analitičkih metoda za primjenu u biologiji i medicini. Za Predsjednika Sekcije za analitičku citologiju izabran je prof. dr. sc. Drago Batinić uz članove Upravnog odbora: Klaru Dubravčić, spec. med. biok.; doc. dr. sc. Iku Kardum-Skelin; prof. dr. sc. Rajka Kušeca; mr. sc. Ružicu Lasan-Trčić, dipl. ing. biol (tajnicu); prim. mr. sc. dr. Vesnu Mahovlić; mr. sc. dr. Irenu Seili-Bekafigo i prim. dr. sc. Silvanu Smojver-Ježek (blagajnicu). Konstituirajuća sjednica Upravnog odbora Sekcije za analitičku citologiju održana je 30. siječnja 2009. Za tajnicu je izabrana mr. sc. Ružica

Lasan-Trčić, dipl. ing. biol., a za blagajnicu prim. dr. sc. Silvana Smojver-Ježek, dr. med.

3. Formiranje radne grupe za citomorfologiju akutnih leukemija Pododbora za laboratorijsku hematologiju i morfologiju

Upravni odbor Krohema je 17. lipnja 2010. za koordinatora Pododbora za laboratorijsku hematologiju i morfologiju imenovao prof. dr. sc. Dragu Batinića, a kao koordinatore citomorfologije doc. dr. sc. Iku Kardum-Skelin i prof. dr. sc. Mirnu Sučić. Nakon toga je oformljena radna grupa za citomorfologiju - abecednim redom: mr. sc. dr. Koraljka Gjadrov Kuveždić (KBC Zagreb), dr. Biljana Jelić Puškarić (KB Merkur, Zagreb), mr. sc. dr. Gordana Kaić (KB Dubrava, Zagreb), mr. sc. dr. Branka Lončar (KBC Osijek), dr. Sunčica Ries (KBC Zagreb), dr. Tajana Štoos (KB Dubrava, Zagreb) i dr. Dinka Šundov (KBC Split).

4. Što smo učinili do sada?

- Prijedlog dijagnostičkih postupaka za akutne leukemije detaljno je opisan u Biltenu Krohema, Volumen 1., Broj 1. (Sučić M, Kardum-Skelin I, Nakić M, Marković-Glamočak M, Ries S, Gjadrov Kuveždić K).
- Definirani su Referentni centri (Tablica 2.)

5. Što nas još čeka?

- Imenovanje Referentnih centara
- Uključivanje svih centara koji se bave hematocitologijom
- Procjena svakog centra do koje razine može samostalno obavljati navedene pretrage
- Uspostava redovitih sastanaka radne grupe
- Izrada detaljnog protokola za uzimanje, pripremu i analizu preparata za svaku laboratorijsku metodu - Dodatak postupnika (Materijali i metode)
- Usaglašavanje citomorfoloških kriterija na zajedničkim sastancima uz mikroskop
- Revizija do sada dijagnosticiranih akutnih leukemija (dogovor s kliničarima koje će se vremensko razdoblje obuhvatiti)
- Redoviti sastanci Sekcije za analitičku citologiju Hrvatskog društva za kliničku citologiju HLZ
- Multidisciplinarni pristup rijetkim slučajevima

- Istraživanja
- Morfološke karakteristike blasta u odnosu na citogenetske abnormalnosti (Slika 1.)
 - Morfološke karakteristike limfoblasta u odnosu na imunofenotip (Slika 2.)
 - Morfometrijske, proliferacijske i kinetičke karakteristike blasta

Izrada postupnika, usaglašavanje i standardizacija svih postupaka (punkcije, obrade, analize i završnog mišljenja), dodatne tehnologije, kontrola kvalitete, odgovornost i formiranje nacionalnih (referentnih) centara bit će „PUN POGODAK“ u citomorfološkoj dijagnostici akutnih leukemija (Tablica 3.).

Tablica 1. Uzorci za referentni centar.

VRIJEME	UZORAK		
	KOŠTANA SRŽ	PERIFERNA KRV	LIMFNI ČVOR
DIJAGNOZA	1 obojeno stakalce po MGG* + 6 neobojenih	1 obojeno stakalce po MGG + 3 neobojena	1 obojeno stakalce po MGG
REMISIJA	1 obojeno stakalce po MGG + 2 neobojena	1 obojeno stakalce po MGG + 1 neobojeno	
RELAPS	1 obojeno stakalce po MGG + 6 neobojenih	1 obojeno stakalce po MGG + 3 neobojena	1 obojeno stakalce po MGG

Tablica 2. Uvjeti koje mora zadovoljavati Referentni centar za citomorfološku dijagnostiku akutnih leukemija.

REFERENTNI CENTAR ZA CITOMORFOLOŠKU DIJAGNOSTIKU AKUTNIH LEUKEMIJA

Kadrovske uvjeti

- specijalisti citolozi
- citotehnolozi

Rutinske metode u citodijagnostici

- standardna morfologija
- citokemija
- imunocitokemija
- mogućnost pohrane uzoraka ("banka tumora")

DODATNA DIJAGNOSTIKA IZ CITOLOŠKOG UZORKA

- imunofenotipizacija na protočnom citometru
- citogenetska analiza
- molekularna dijagnostika
- mikrobiološka obrada

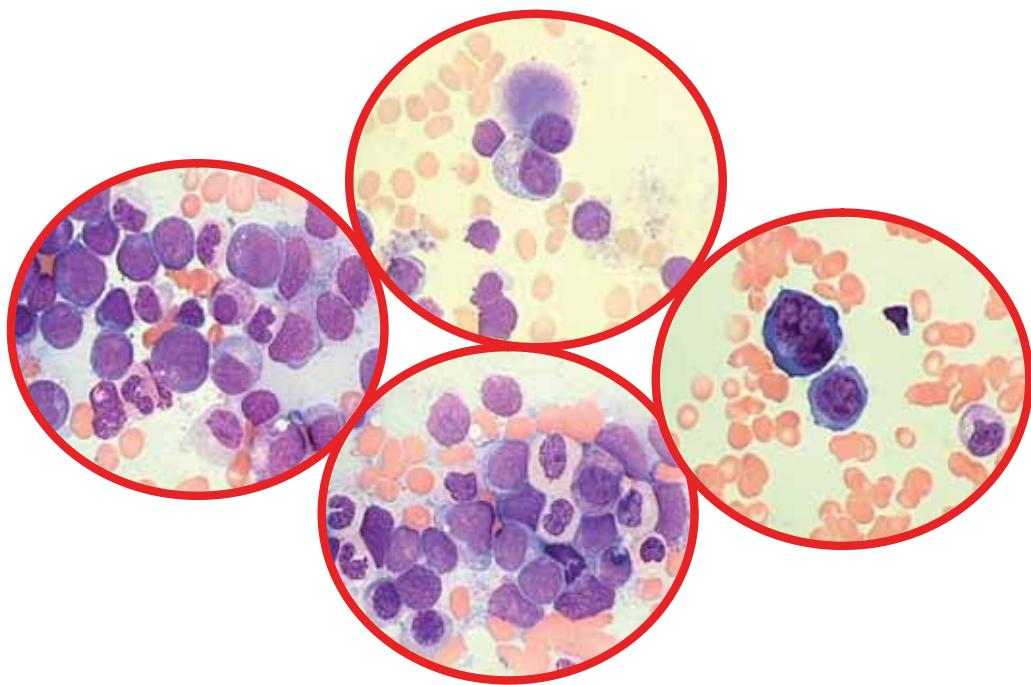
PATOHISTOLOŠKA ANALIZA

ZNANSTVENA I ISTRAŽIVAČKA DJELATNOST

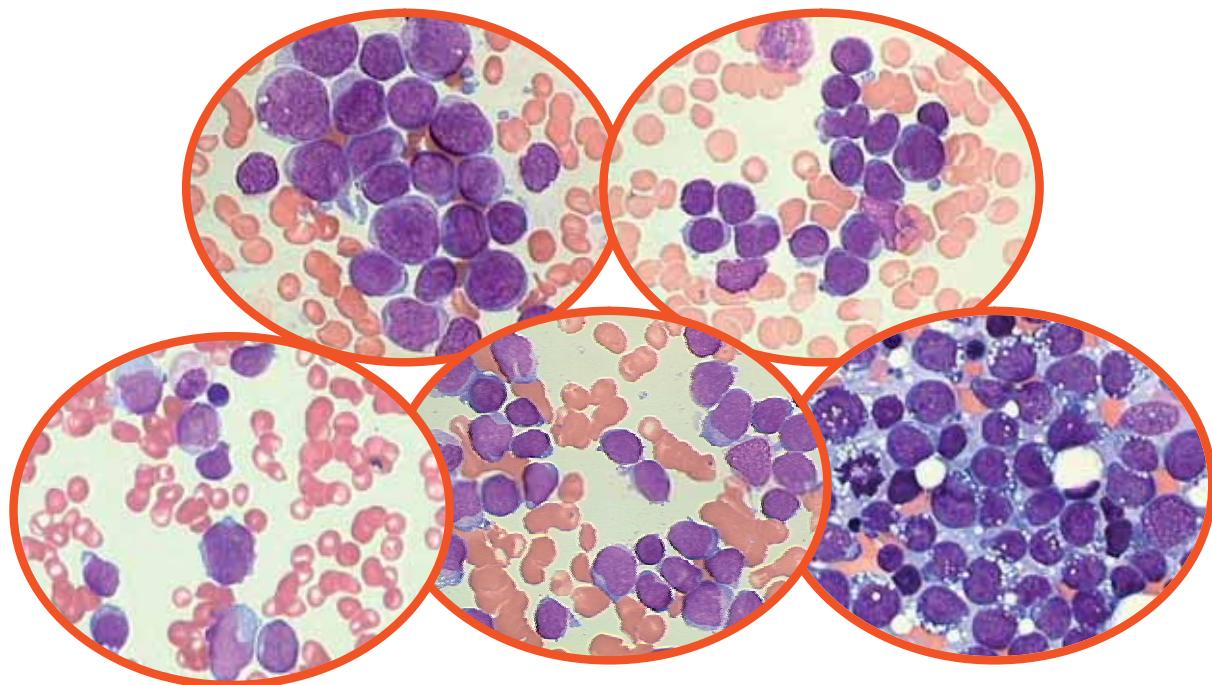
Tablica 3. Uvjeti za „pun pogodak“ u dijagnostici akutnih leukemija.

- POSTUPNIK
- USAGLAŠAVANJE
- NACIONALNI (REFERENTNI) CENTRI
- PUNKCIJA
- OBRADA
- GARANCIJA (KONTROLA) KVALITETE
- ODGOVORNOST
- DODATNE TEHNOLOGIJE
- ANALIZA
- KONAČNO MIŠNENJE





Slika 1. Akutna leukemija s multilinijskom displazijom (diserito-, disgranulo- i distrombopoezom).



Slika 2. Cитоморфолошка слика акутних лимфатичних leukemija različitog imunofenotipa.

Citomorfologija akutnih leukemija - dijagnostičke smjernice i usporedba s drugim dijagnostičkim pokazateljima

Mirna Sučić¹, Ika Kardum-Skelin²,
 Mirjana Marković-Glamočak³, Sunčica Ries³, Koraljka
 Gjadrov Kuveždić³, Boris Labar⁴
¹KB Sveti Duh, ²KB Merkur,
³Klinički zavod za patologiju i citologiju KBC Zagreb,
⁴Zavod za hematologiju KBC Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:
 Prof. dr. sc. Mirna Sučić, prim. dr. med.
 Zavod za patologiju i citologiju
 KB Sveti Duh", Sveti Duh 64, Zagreb
 E-pošta: mirna.sucic@yahoo.com

Prema staroj, klasičnoj FAB klasifikaciji (1976., 1985.) akutne leukemije (AL) se svrstavaju u dvije osnovne skupine - akutne mijeloične leukemije (AML) i akutne limfatične leukemije (ALL). AML i ALL se dijele na podtipove (AML: M0, M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7; ALL: L1, L2, L3) na temelju citomorfoloških i citokemijskih osobina blasta koje su povezane sa smjerom i stupnjem diferencijacije leukemijskih stanica. Nova klasifikacija svjetske zdravstvene organizacije (SZO) (2001., 2008.) objedinjuje morfološke, imunološke citogenetske, molekularne i kliničke pokazatelje, te se AL na temelju svih navedenih karakteristika dijele na 3 osnovne skupine:

- 1) Akutne mijeloične leukemije (AML) i druge neoplazme mijeloidnih nezrelih stanica
- 2) Akutne leukemije linijski neodređenih stanica
- 3) Neoplazme limfoidnih nezrelih stanica – akutne limfatične leukemije (ALL) / limfoblastni limfomi

1. Osnovni morfološki kriterij za dijagnozu AL

Po novoj SZO klasifikaciji nalaz od 20% ili veći postotak blasta svih hematopoeznih stanica s jezgrom u koštanoj srži (a najčešće i perifernoj krvi) kriterij je za morfološku dijagnozu AL. Time je promijenjen stari morfološki FAB kriterij po kojem je najmanje 30% blasta u koštanoj srži bio dijagnostički nalaz za AL.

Međutim, prijedlog SZO je da osnovni kriterij od 20% blasta u koštanoj srži može biti i nešto manji (u pravilu ne manji od 18%) u pojedinih tipova AL, ali samo kada se nađu i drugi bitni dijagnostički pokazatelji, primjerice t(8;21) i t(6;9). U akutnoj panmijelozi s mijelofibrozom broj blasta je tek nešto veći od 20%, te se najčešće u tom tipu AL nalazi 20% do 25% blasta. Naprotiv, u bolesnika u kojih je prije transformacije u AL prethodno dijagnosticirana mijelodisplazija (MDS), prijedlog SZO je da se bolesnik pažljivo dijagnostički prati, te da se s terapijom za AL započne kad je broj blasta iznad 30%. Takav pristup je potrebno prilagoditi svakom bolesniku s MDS i transformacijom u

AL pojedinačno ovisno o kliničkim i drugim dijagnostičkim pokazateljima. U AML-M5 i AML-M4 se uz blaste broje i promonociti koji se u tim tipovima AML smatraju jednakim blastima. U postotak blasta potrebno je u AML-M7 uvrstiti i megakarioblaste, a u AML-M3 se u blaste broje i atipični promijeloci (dio atipičnih promijelocita morfološki odgovara blastima tipa III). Kada se u AML-M6 u koštanoj srži nalazi manje od 20% blasta i više ili najmanje 50% eritroidnih stanica u svim hematopoeznim stanicama s jezgrom, potrebno je odrediti postotak blasta u ne-eritroidnim hematopoeznim stanicama s jezgrom. Kada je broj blasta u ne-eritroidnim stanicama veći od 20% postavlja se dijagnoza AML-M6, dok je broj blasta u ne-eritroidnim stanicama manji od 20% kriterij za MDS.

2. Citomorfologija blasta u morfološkim tipovima AL

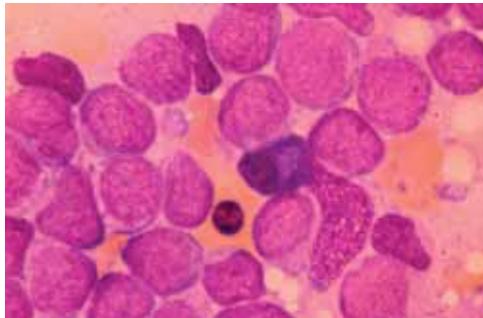
Za citomorfološko klasificiranje AL u koštanoj srži je potrebno procijeniti količnu hematopoeze (obilna, srednje obilna, oskudna), postotak blasta u ukupnom broju stanic s jezgrom (u većine AML-M6 i postotak blasta u ne-eritroidnim stanicama s jezgrom), postotak zrelih stanica granulopoeze, postotak eritroidnih stanica, postotak monocitnih stanica, postotak eozinofila i bazofila. Potrebno je opisati citomorfologiju blasta (veličina i izgled leukemijskih stаница, jezgre i citoplazme). U zrelijim tipovima AML potrebno je definirati broj blasta tipa I (bez 20 azurofilnih zrnaca u citoplazmi), blasta tipa II (do 20 azurofilnih zrnaca u citoplazmi) i blasta tipa III (više od 20 azurofilnih zrnaca u citoplazmi). Također je potrebno opisati megakariopoezu, te opisati ako se nalazi disgranulopoeza, diseritropoeza ili distrombopoeza. Uz citomorfološku analizu koštane srži i periferne krvi nakon standardnog Pappenheim (MGG) bojenja potrebno je analizirati pozitivnost blasta nakon citokemijskih bojenja: mijeloperoksidaze (MPO), Sudan Black B (SBB) bojenja, PAS bojenja, naftol-ASD-kloracetat esteraze (kloracetat esteraze), nespecifične esteraze, kisele fosfataze i toluidin bojenja. Morfološko prepoznavanje prstenastih sideroblasta (jednog od znakova diseritropoeze) analizira se nakon citokemijskog bojenja ne-hemoglobinskog željeza. Dijagnostički kriterij za diseritropoezu je postotak iznad 15% prstenatsih sideroblasta u populaciji eritroblasta.

Citomorfološki se AML dijele prema smjeru i stupnju diferencijacije leukemijskih stanica u 9 podtipova (M0-M8). Uz naziv citomorfološkog podipa navedeni su i odgovarajući nazivi prema SZO klasifikaciji koji, osim AML-M3 (po SZO svrstana u podskupinu AML s genetskim promjenama), odgovaraju nazivima podtipova 4. podskupine AML-AML, NOS (od engl. not otherwise specified) po SZO, ali i pojedinim podtipovima drugih SZO podskupina AML.

M0 (SZO - AML minimalno diferencirana)

Nalaze se citomorfološki nediferencirani blasti (Slika 1.). MPO, SBB i naftol-ASD-kloracetat esteraza su u blastima negativne (pozitivno je manje od 3% blasta). Dijagnoza M0 se postavlja na temelju imunološki pozitivnih mijeloidnih biljega. Uz mijeloidne biljege u blastima se imunološki može naći i nezrela MPO. Nezreli oblik enzima MPO nema enzimsku aktivnost pa su blasti u M0 citokemijski MPO negativni. Diferencijalna dijagnoza u M0 uključuje M7, mješovite AL i leukemijsku fazu velikostaničnog limfoma.

Slika 1. AML-M0: brojni citomorfološki nediferencirani blasti (MGG x1000)



M1 (SZO - AML bez sazrijevanja)

Blasti su srednje veliki, bez ili s vrlo malo azurofilnih zrnaca u citoplazmi (Slika 2.). Auerovi štapići (kristaloidne azurofilne citoplazmatske strukture - kondenzirana azurofilna zrnca) se u blastima nalaze iznimno rijetko. Promijelocita se nalazi manje od 3%. MPO i SBB su pozitivne u najmanje 3% blasta i najčešće nije pozitivno više od 10 do 20% blasta. Diferencijalna dijagnoza u M1 uključuje ALL kada mijeloblasti ne sadrže azurofilna zrnca ili kada se nalazi nizak postotak MPO i SBB pozitivnih blasta ili M2 kada se nalaze brojniji MPO i SBB pozitivni blasti.

Slika 2. AML-M1: nezreli mijeloblasti i po koji blast s citomorfološkim znacima sazrijevanja (MGG x1000)

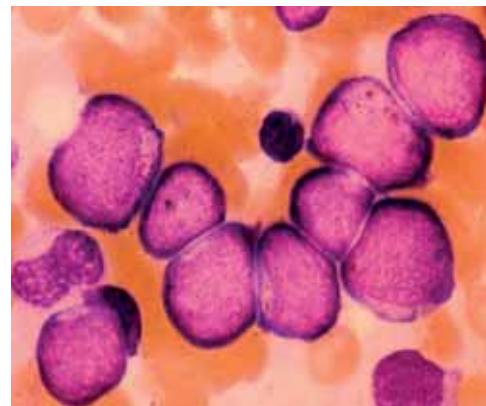


M2 (SZO - AML sa sazrijevanjem)

Nalaze se blasti bez ili s azurofilnim zrncima (Slika 3.), u citoplazmi blasta se često nalaze Auerovi štapići. Postotak monocitnih stanica je manji od 20%. Najmanje 10% leukemijskih stanica izražava citomorfološke znakove sazrijevanja pa se nalaze promijelociti i/ili zrelijе stanice od promijelocita, često uz znakove atipije (pseudo-Pelgerova anomalija jezgre, Auerovi štapići, manjak granula u cito-

plazmi ili velika-pseudoChediak granula u citoplazmi). Ponekad se nalaze brojni eozonofili (podtip M2eo), koji nemaju morfološke i citokemijske promjene kao kod M4 i citogenetskom promjenom inv(16)(p13.1q22). U M2bazo uz sve navedene morfološke karakteristike se nalaze brojni bazofili i/ili tkivni bazofili. Većina blasta (najčešće više od 25%) je MPO i SBB pozitivna. Diferencijalna dijagnoza u M2 uključuje refraktornu anemiju s ekscesom blasta (RAEB II) kada je broj blasta oko 20% ili M1 kada je broj blasta izrazito visok, te M4 u bolesnika s većim brojem monocitnih stanica.

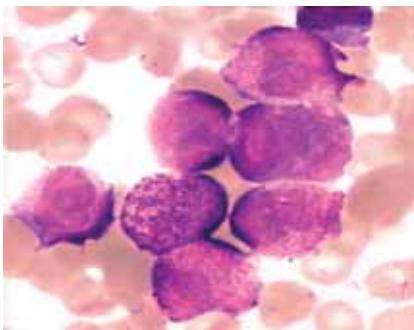
Slika 3. AML-M2: pojedini blasti s citomorfološkim znacima sazrijevanja (azurofilna zrnca u citoplazmi) (MGG x1000)



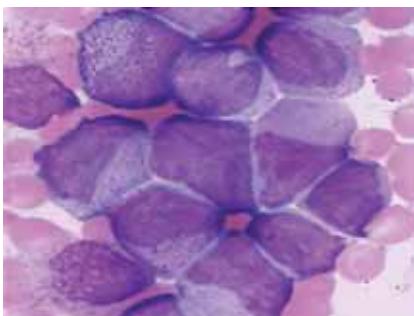
M3 (SZO - Akutna promijelocitna leukemija)

Nalaze se brojni blasti tipa II i tipa III i atipični promijelociti koji u citoplazmi sadrže brojna atipična velika azurofilna granula koja ponekad prekrivaju jezgru (Slika 4.). U citoplazmi se često nalaze i brojni Auerovi štapići koji mogu formirati i nakupine (engl. "faggots", "faggot cells"). Ponekad su Auerovi štapići još uočljiviji nakon MPO i SBB bojenja. U mikrogranularnoj varijanti M3 (M3mikro) u citoplazmi blasta se nalaze sitna - prašinasta zrnca u citoplazmi, a jezgre su često bubrežaste (Slika 5.). U M3 i M3mikro varijanti MPO i SBB su pozitivni u više od 30% blasta i atipičnih promijelocita, a najčešće je MPO i SBB pozitivno i gotovo 100% leukemijskih stanica. Nespecifična esteraza je najčešće slabo pozitivna u blastima M3 i ne inhibira se s natrijevim fluoridom (NaF), dok PAS reakcija može biti i pozitivna i negativna. U M3bazo varijanti (Slika 6.) blasti i atipični promijelociti u citoplazmi sadrže brojna azurofilna i tamno ljubičasta zrnca, a dio leukemijskih stanica sazrijeva prema bazofilima koji su toluidin i PAS pozitivni. Blasti u M3bazo mogu biti MPO i SBB negativni, ili se nalazi manji broj MPO i SBB pozitivnih blasta. Dijagnostički je M3mikro varijantu ponekad teško razlikovati od M5 ili zrelog obilka M2, dok je M3bazo varijantu potrebno razlikovati od M2bazo varijante i M8.

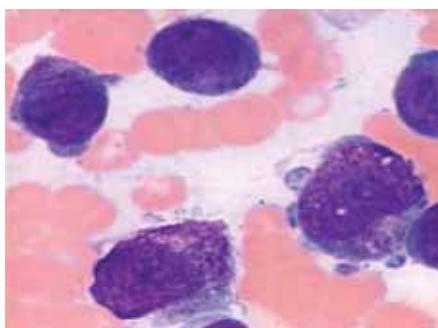
Slika 4. AML-M3: tipična hipergramularna M3 s blastima i atipičnim promijelocitima i brojnim velikim azurofilnim zrncima u citoplazmi (MGG x1000)



Slika 5. AML-M3: mikrogranularna varijanta, u citoplazmi blasta se nalaze sitna azurofilna zrnca u citoplazmi (MGG x1000)



Slika 6. AML-M3: bazofilna varijanta, u citoplazmi blasta se nalaze velika tamno ljubičasta i azurofilna zrnca u citoplazmi (MGG x1000)

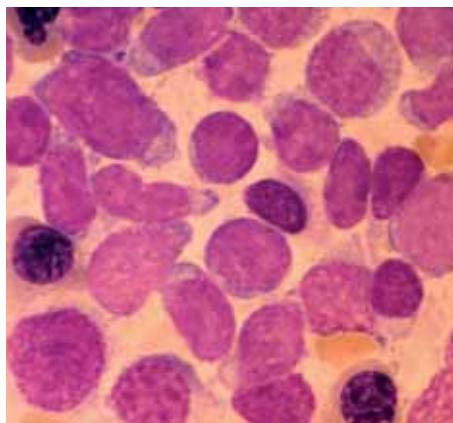


M4 (SZO - akutna mijelomonocitna leukemija)

Nalaze se dvije populacije nezrelih leukemijskih stanica, nezrele stanice granulocitne loze (MPO pozitivne) i monocitne stanice (nespecifična esteraza pozitivne) (Slika 7.), a svaka od dviju populacija leukemijskih stanica prelazi 20% svih hematopoeznih stanica s jezgrom. Ponekad je samo manji broj leukemijskih stanica MPO pozitivan, ali najmanje je MPO pozitivno 3% leukemijskih stanica. Kada se u citoplazmi blasta mogu naći Auerovi štapići. U perifernoj krvi se često nalazi veći broj monocitnih stanica ($\geq 5 \times 10^9/L$). U M4 eozinofilnoj varijanti (M4eo) nalaze se brojniji eozinofili (najčešće više od 3%) koji kada su udruženi s inv(16)(p13.1q22) izražavaju i dodatne morfološke i citokemijske promjene (veće jezgre, pseudo-Pelgerovu hiposegmentaciju jezgre, veća eozinofilna granula koja su ponekad tamno ljubičasta ili tako brojna da prekrivaju jezgru, aberantnu ekspresiju kloracetat esteraze). Diferencijalna dijagnoza uključuje M2, M5 i kroničnu mijelomonocitnu

leukemiju. Razlikovanje M4 od kronične mijelomonocitne leukemije je neobično važno zbog različite terapije, a moguće je na temelju točnog morfološkog prepoznavanja promonocita koji se ubrajaju u blaste.

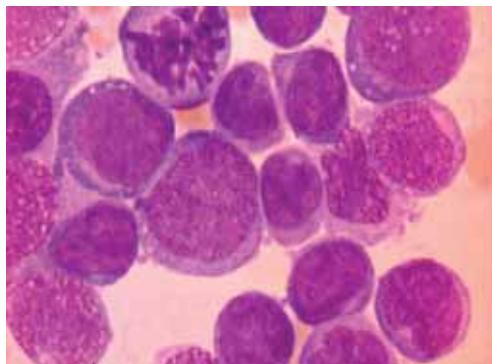
Slika 7. AML-M4: u koštanoj srži proliferiraju mijeloblasti i nezrele monocitne stanice (MGG x1000)



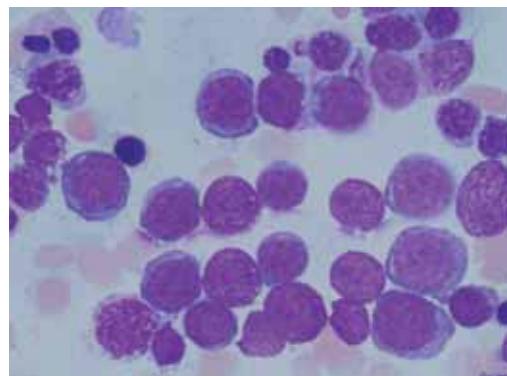
M5 (SZO - akutna monoblastna i akutna monocitna leukemija)

M5a akutna monoblastna leukemija i M5b akutna monocitna leukemija (Slika 8.) su leukemije u kojih se nalazi 80% ili više leukemijskih stanica monocitne linije (monoblasti, promonociti i monociti), a ponekad se nalazi i manji broj nezrelih stanica granulocitne loze (manje od 20%). U M5a većina monocitnih stanica su monoblasti ($\geq 80\%$), dok u M5b većinu leukemijskih stanica čine promonociti. Monoblasti su velike stanice s okruglom jezgrom, tek blago nepravilnog ruba, i obilnom bazofilnom citoplazmom, malobrojnim citoplazmatskim azurofilnim zrncima ili vakuolama. Ponekad se u citoplazmi blasta nalaze i malobrojni Auerovi štapići. Promonociti imaju nepravilnu i krovolutnu jezgru, obilnu i umjerenou bazofilnu citoplazmu s izraženijim azurofilnim zrncima i pojedinim vakuolama. Ponekad se u leukemijskim stanicama može zapaziti hemofagocitoza i eritrofagocitoza. Monoblasti, promonociti i monociti su najčešće izrazito nespecifična esteraza pozitivni i tipično je da se aktivnost nespecifične esteraze u monocitnim stanicama inhibira s natrijevim fluoridom. U 10% do 20% M5a nespecifična esteraza je u leukemijskim stanicama negativna ili vrlo slabo pozitivna, pa se točna dijagnoza postavlja na temelju imunofenotipizacije. SBB može biti pozitivan u monocitnim stanicama, MPO je obično u monoblastima negativna dok su promonociti najčešće slabo MPO pozitivni. Diferencijalno dijagnostički je M5a potrebno razlikovati od M0, M1 i M7. Ekstramedularne mijeloidne (monoblastne) sakrome je potrebno razlikovati od limfoma i sarkoma mekih tkiva. Ponekad postoje teškoće u razlikovanju M5a od prolimfocitne leukemije, a kada monoblasti imaju izrazito bazofilnu citoplazmu i brojnije vakuole i od ALL-L3. Diferencijalna dijagnoza M5b uključuje M4, M3 mikrogranularnu varijantu i kroničnu mijelomonocitnu leukemiju.

Slika 8. AML-M5b: brojni blasti i promonociti u koštanoj srži (MGG x1000)



Slika 9. AML-M6: brojni blasti i atipični eritroblasti u koštanoj srži (MGG x1000)



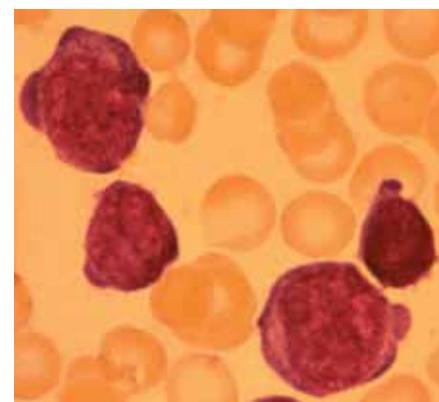
M6 (SZO - akutna eritroidna leukemija)

Dijeli se u dva podtipa: eritroidnu/mijeloidnu AML (Slika 9.) i eritroidnu AML ("čistu" eritroidnu AML). U eritroidnom/mijeloidnom podtipu M6 nalazi se više od 50% eritroidnih leukemijskih (morphološki atipičnih stanica) u svim hematopoeznim stanicama i više od 20% blasta u ne-eritroidnoj populaciji hematopoeznih stanica. Većina eritoblasta je morfološki atipična - nalaze se gigantski eritroblasti s megaloblastičnim i često binuklearnim i multinuklearnim jezgrama i vakuolizacijom citoplazme. Mijeloblasti mogu sadržavati Auerove štapiće ili azurofilna zrnca u citoplazmi. Često se nalazi diseritropoeza i distrombopoeza. Mijeloblasti mogu biti MPO, SBB i kloracetat esteraza pozitivni, dok PAS reakcija može biti difuzno ili zrnato pozitivna u eritroblastima, a mogu se naći i prstenasti oblici bojenjem ne-hemoglobinskog željeza. U eritroidnom tipu M6 nalaze se nezreli eritroblasti (nezrela forma eritroidne M6) s okruglim jezgrama s nukleolima i izrazito bazofilnom citoplazmom s pojedinim PAS pozitivnim vaukolama. Ponekad su blasti manji i nalikuju limfoblastima. MPO, SBB su u blastima eritroidne AML negativne, dok su nespecifična esteraza, PAS-reakcija i kisela fosfataza u blastima M7 obično pozitivne. Diferencijalna dijagnoza M6 eritroidnog/mijeloidnog podtipa uključuje RAEB, AML s mijelodisplastičnim promjenama, M2 u koje se nalazi eritroidna hiperplazija, te reaktivne eritroidne hiperplazije nakon terapije ili primjene eritropoetina. M6 eritroidni tip AL je diferencijalno dijagnostički potrebno razlikovati od megaloblastične anemije i tada je potrebno pokušati liječiti bolesnika s B12 ili folnom kiselinom kako bi se pomoću odgovora na terapiju postavila točna dijagnoza. Nezrelu formu eritroidne M6 potrebno je razlikovati od drugih AML podtipova, posebice od M7, te od ALL i limfoma.

M7 (SZO - akutna megakarioblastna leukemija)

Nalazi se najmanje 20% blasta i najmanje 50% leukemijskih stanica megakariocitne loze (Slika 10.). Megakarioblasti su srednje veliki i veliki (12-18 µm) s lagano nepravilnom ili zarezanom jezgrom s nukleolima, citoplazma je bazofilna s pseudopdjima i često granularna. U pojedinih bolesnika nalaze se manji blasti koji nalikuju limfoblastima, a ponekad se nalaze i veliki i mali blasti. Često se nalaze morfološki atipija stanica megakariocitne loze, posebice mikromegakariociti. Nalazi se i disgranulopoeza, diseritropoeza, u perifernoj krvi je česta citopenija i trombocitopenija, ali može se naći i trombocitoza. U pojedinih bolesnika izrazita je fibroza koštane srži te se punkcijom ne može aspirirati koštana srž. Blasti su MPO, SBB i kloracetat esteraza negativni, dok su nespecifična esteraza, PAS reakcija i kisela fosfataza u blastima M7 obično pozitivne. Diferencijalna dijagnoza uključuje M0, AML s mijelodisplastičnim promjenama, akutnu panmijelozu s mijelofibrozom, ALL, eritroidni podtip M6, blastičnu transformaciju KML ili drugih kroničnih mijeloproliferativnih bolesti.

Slika 10. AML-M7: blasti i megakarioblasti u koštanoj srži (MGG x1000)



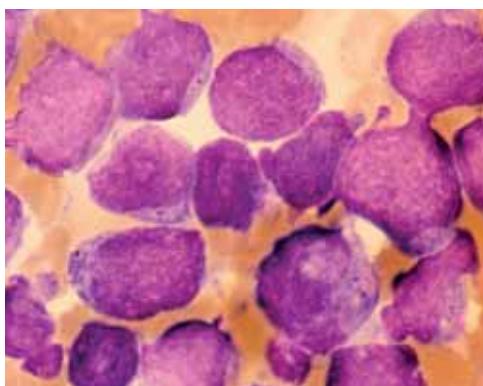
M8 (SZO - akutna bazofilna leukemija)

Blasti su srednje veliki, imaju veliku, ponekad bilobiranu jezgru s jednim do tri nukleola i oskudnu bazofilnu citoplazmu s velikim bazofilnim zrcicima (Slika 11.) koja su toluidin pozitivna (Slika 12.). Zreli bazofili su obično malo-

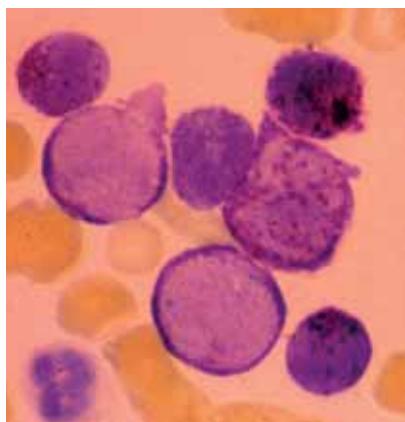
brojni i također toluidin pozitivni (Slika 12.). Često se može primjetiti i diseritropoeza. MPO, SBB, kloracetat esteraza su u blastima negativne, dok su uz toluidin blasti obično i PAS i kisela fosfataza pozitivni. Diferencijalno dijagnostički je M8 potrebno razlikovati odblastične transformacije kroničnih mijeloproliferativnih bolesti, drugih AML podtipova s brojnijim bazofilima, primjerice AML s t(6;9), mastocitnom leukemijom i vrlo rijetko od ALL s morfološki izrazitijim citoplazmatskim zrncima.

ALL se prema citomorfologiji (FAB kriteriji) dijeli na temelju citomorfoloških značajki većine blasta na ALL-L1, ALL-L2 i ALL-L3. Do 10% leukemijskih stanica se može razlikovati od većeg dijela blasta.

Slika 11. AML-M8: brojni blasti, u citoplazmi se nalazi po koja tamno ljubičasta granula (MGG x1000)



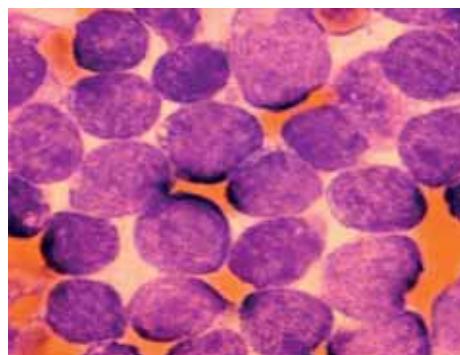
Slika 12. AML-M8: toluidin je pozitivan u po kojem blastu i zrelijim leukemijskim stanicama bazofilne loze (toluidin x1000)



ALL-L1 (SZO - ALL/NHL limfoblastni tip)

Nalaze se većinom mali limfoblasti s okruglom jezgrom i često su vidljivi maleni nabori u jezgri. Struktura kromatina je nježna i homogena. Nukleoli se ne nalaze ili su slabo uočljivi. Citoplazma je bazofilna, obično oskudna i tek s po kojom vakuolom (Slika 13.).

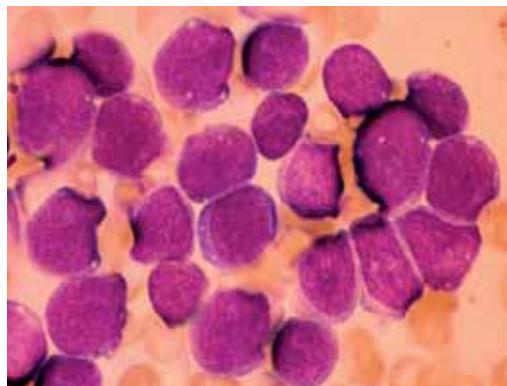
Slika 13. ALL-L1: brojni limfoblasti u koštanoj srži (MGG x1000)



ALL-L2 (SZO - ALL/NHL-limfoblastni tip)

Limfoblasti su različiti po veličini i obliku. U jezgri su istaknuti nukleoli. Blasti imaju različitu količinu citoplazme, mogu se naći malobrojne citoplazmatske vakuole, a postoje i varijacije u obojenosti citoplazme (Slika 14.).

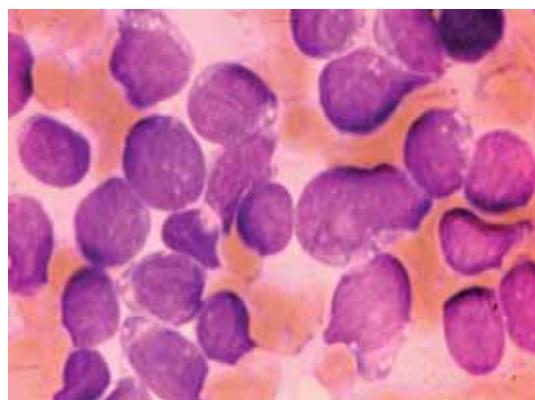
Slika 14. ALL-L2: brojni limfoblasti u koštanoj srži (MGG x1000)



ALL-L3 (SZO - leukemija Burkittovih stanica)

Često se nalaze veliki limfoblasti s okruglom jezgrom, istaknutim nukleolima i nešto tamnijim kromatinom. Citooplazma je izrazito bazofilna i vakuolizirana (Slika 15.).

Slika 15. ALL-L3: brojni blasti, većina s bazofilnom i brojnim vakuolama u citoplazmi (MGG x1000)



Cilj početnog liječenja (uvodne terapije citostaticima) bolesnika s AL je postići remisiju bolesti. Citomorfološki kriterij remisije bolesti je oporavak hematopoeze i nalaz od 5% i manje blasta u koštanoj srži, bez blasta u perifernoj krvi. Samo na temelju citomorfologije ne može se zaključiti radi li se o regeneraciji normalne hematopoeze sa skretanjem prema mlađim oblicima ili su, nakon početne terapije,

u koštanoj srži zaostale malobrojne maligne hematopoezne stanice (minimalna ostatna bolest ili MRD, od engl. minimal residual disease). Samo u dva citomorfološka tipa AL, AML-M3 i ALL-L3 se na temelju citomorfologije blasta može pretpostaviti da postoji MRD. Tu pretpostavku je potrebno potvrditi superiornijim metodama, imunofenotipizacijom, citogenetskom fluorescence in situ hybridisation-FISH tehnikom, molekularnim tehnikama (posebice polymerase chain reaction-PCR) koje imaju vrlo veliku osjetljivost u detekciji MRD, te mogu otkriti vrlo malen broj malignih stanica (10^{-4} do 10^{-6}).

3. Usporedba morfoloških tipova AL sa SZO tipovima AL

Navedeni citomorfološki tipovi AL odgovaraju različitim tipovima AL po SZO klasifikaciji. U **Tablici 1.** je navedena podjela AML po SZO kako bi se mogli usporediti citomorfološki AML podtipovi sa skupinama i podtipovima AML po SZO klasifikaciji.

Tablica 1. AML i druge neoplazme mijeloidnih stanica (SZO).

1. AML s genetskim promjenama
2. AML s mijelodisplastičnim (MDS) promjenama
3. AML nakon liječenja citostaticimai/ili zračenjem- sekundarne AL
4. AML, nespecificirane (N)
5. Mijeloidni sarkom
6. AML povezane s Down sindromom
7. Neoplazma nezrelih plazmocitoidnih dendritičkih stanica (MPO i ANAE negativni blasti; CD56 + i CD123+; CD4+, CD43+; CD45RA+)

U **Tablici 2.** prikazana je usporedba citomorfoloških AML podtipova s AML skupinama po SZO klasifikaciji.

Tako se primjerice M2 citomorfološki tip može svrstati u nekoliko SZO AML podskupina (AML-NOS, AML s genetskim promjenama: t(8;21); t (6;9); t (9;11), AML s CEBPA, sekundarne AML i AML s mijelodisplazijom. Citomorfološki tipična AML-M3 je gotovo u pravilu povezana s t(15;17) i po SZO se klasificira u AML podskupinu s citogenetskim promjenama, podtip akutnu promijelocitnu leukemiju s t(15;17). Citomorfološke M3 varijante (M3mikro i M3bazo) mogu biti povezane s klasičnom citogenetskom promjenom t(15;17) ali i s citogenetskim varijantama: t(11;17) i t(5;17) kao i s AL s NK/mijeloidnim imunofenotipom.

Tablica 2. Usporedba citomorfoloških tipova AML i AML tipova po SZO.

Morfologija blasta	SZO tipovi AML
M0	MO-N; AML s RUNX1-m; AML s FLT3-m; AML s MDS; sekundarne AML**
M1	M1-N; AML s t(9;11); AML s inv(3) ili t(3;3); AML s CEBPA-m; ponekad AML s NPM1-m; AML s MDS
M2	M2-N; AML s t(8;21); AML s t(6;9); t(9;11); AML s CEBPA-m; sekundarne AML**; AML s MDS
M3 poput M3	<ul style="list-style-type: none"> • AML s t(15;17) • AML s t(11;17); AML s (5;17); NK/mijeloidne AL
M4 s eozinofilijom M4	<ul style="list-style-type: none"> • M4-N; inv(16) ili t(16;16) • M4-N; AML s t(9;11); AML s t(6;9); AML s inv(3) ili t(3;3) <p>AML s NPM1-m; ponekad AML s CEBPA-m; sekundarne AML**</p>
M5	M5-N; AML s t(9;11); AML s NPM1-m; ponekad AML s CEBPA-m sekundarne AML**
M6	M6-N, ponekad AML s NPM1-m
M7	M7-N; AML s t(1;22); AML s inv(3) ili t(3;3) AML u djece s Down sy i GATA1-m
M8	M8-N; AML s t(6;9), AML s BCR-ABL

N-AML, nespecificirane po SZO; m-mutacije; ** sekundarne AML često povezane i s 11q23(MLL) i 21q22(RUNX1) translokacijama

Prepoznavanje M3 je neobično važno jer bolesnici često imaju kliničke i laboratorijske znakove diseminirane intravenske koagulacije (DIK). Nadalje, bolesnici s M3 i M3 varijantama i t(15;17) u pravilu imaju povoljan terapijski odgovor na ATRU, dok bolesnici s t(5;17) mogu povoljno reagirati na ATRU, a u bolesnika s t(11;17) ne postiže se terapijski odgovor s ATROM. Bolesnici s AML i citogenetskom promjenom t(9;11) također mogu imati DIK, te ekstramedularne sarkome i infiltraciju gingiva i kože. Bolesnici s AML i inv(16)(p13.1q22) također mogu imati mijeloidne sarkome. AML megakarioblastne morfologije s t(1;22) se gotovo uvijek nalazi u male djece u dobi do 3 godine. U djece s Down sindromom česta je megakarioblastna leukemija s GATA-1 mutacijom i povezana je s boljom prognozom. Bolesnici s M5, NOS često imaju koagulacijske poremećaje (ponekad i DIK), te ekstramedularne sarkome, infiltraciju gingiva i centralnog nervnog sustava. M7 je u mlađih bolesnika često povezana s tumorima zametnih stanica u mediastinumu. U bolesnika s M8 često se nalaze lezije kože, organomegalija, osteolitične lezije kostiju i simptomi hiperhistaminemije.

U **Tablici 3.** prikazana je usporedba citomorfologije blasta i SZO tipova skupine linijski neodređenih blasta. Linijski neodređene AL (AL-LN) se dijele u dvije skupine: 1) Akutne nediferencirane AL (AL-N) i 2. Akutne mješovite leukemije (MPAL od eng. *mixed phenotype acute leukemia*).

Tablica 3. Citomorfologija linijski neodređenih AL po SZO.

SZO kategorija	Citomorfologija blasta
• AL-N	Citomorfološki nediferencirani blasti i MPO, Sudan, ANAE, PAS i toluidin negativni
• MPAL s t(9;22)	limoblasti, mijeloblasti, dimorfni blasti
• MPAL s t(v;11q23) MLL rearanžiran	dimorfni blasti (monoblasti i limfoblasti), nediferencirani blasti, monoblasti
• MPAL, NOS • B/ mijeloidni imunofenotip • T/mijeloidni imunofenotip	limfoblasti, dimorfnja populacija blasta
• NK/mijeloidna AL	limfoblasti*, nediferencirani blasti*, blasti kao u M1*, blasti poput M3, blasti kao u M8

*SZO

Nediferencirane AL i akutne mješovite AL citomorfološki mogu izgledati kao nediferencirane AL, ALL, AML ili se mogu zamijetiti dvije citomorfološki i citokemijski različite populacije blasta (ovo opažanje je potrebno potvrditi imunofenotipizacijom). U NK/mijeloidnoj AL po SZO se mogu nalaziti limfoblasti, nediferencirani blasti ili blasti kao u M1. Scott AA i suradnici opisuju i M3 morfologiju blasta u NK/mijelodnoj AL a u jednog našeg bolesnika s NK/mijeloidnim imunfenotipom dijagnosticirana je citomorfološki M8.

U gotovo svim SZO tipovima skupine ALL/NHL-limfoblastni tip citomorfološki se nalaze limfoblasti (ili nediferencirani blasti) (Tablica 4.). U B-ALL/NHL, NOS nalaze se limfoblasti s pseudopodijima citoplazme (hand mirror cells), a u pojedinim se bolesnika mogu naći blasti s većim azurofilnim zrncima. U B-ALL/NHL s t(v;11q23) se uz limfoblaste mogu ponekad naći i monoblasti (imunofenotipski B/mijeloidne AL), dok se u B-ALL/NHL s t(5;14) može uz limfoblaste naći i eozinofilija. Citomorfologija ALL-L3 odgovara po SZO klasifikaciji leukemijskom obliku Burkittovog limfoma koji je po SZO svrstsan u zrele B limfoidne neoplazme. Citomorfološko razlikovanje L1 i L2 ima malenu prognostičku vrijednost za klinički tijek bolesti jer nema jasne povezanosti s imunološkim podtipovima ALL (oko 30% common ALL su L1 i oko 70% su L2). L1 je češći nalaz u djece, a u L2 u odraslih. L3 se citomorfološki jasno razlikuje od L1 i L2, po SZO klasifikaciji odgovara leukemiji Burkittovih stanica i korelira s imunološkim tipom B-ALL.

Tablica 4. Usporedba citomorfoloških tipova ALL i SZO kategorija tumora limfoidnih stanica.

SZO tipovi ALL	Morfologija blasta
B - limfoblastne ALL/NHL, NOS	L1; L2, blasti- "hand mirror cells" blasti (ponekad blasti s većim azurofilnim zrncima)
B - limfoblastne ALL/NHL s genetskim promjenama t(9;22) t(v;11q23)	L1; L2 L1;L2; ponekad uz limfoblaste i monoblasti (B/mijeloidne)
t(12;21) s hiperdiploidijom s hipodiploidijom	L1; L2 L1; L2
t(5;14)	L1; L2; eozinofilija
t(1;19)	L1;L2
T- limfoblastne ALL/NHL	L1;L2
Leukemijski oblik Burkittovog limfoma	L3

4. Primjena imunocitokemije u citomorfološkoj dijagnostici AL

Za točnu dijagnostiku AL i razlikovanje od drugih tumora nezrelih i nediferenciranih stanica ponekad je potrebno uz citomorfološku i citokemijsku analizu koštane srži i periferne krvi učiniti i imunocitokemijsku analizu. Kombinacija određenih biljega ovisi i citomorfologiji nezrelih tumorskih stanica. Tako je potrebno primjeniti određene biljege u sljedećim dijagnostičkim situacijama:

1. *Kada se nalazi tumorski oblik bolesti bez blasta u perifernoj krvi:* (diferencijacija prema nediferenciranim tumorima i tumorima malih plavih stanica) LCA (CD45), vimentin, citokeratin (EP4, MOC31), neurofilamenti, NSE, dezmin, CD138, biljeg melanocita, CD123, CD30
2. *Kada se ne može učiniti imunofenotipizacija na protočnom citometru:* cyCD3, CD7, CD19, CD79a, CD22(cy), MPO, CD33, CD13, CDw65, CD68 (CD14, lizozim), CD117 glikoforin A, megakariocitni biljezi (CD42 CD41, CD61); CD56, CD123, CD30
3. *Kada se nalaze nediferencirani blasti:* (nediferencirane AL, ALL s azurofilnim zrncima, M0 i vrlo nezrele M5, M6, M7, limfom velikih stanica, nezreli plazmobilasti, nezrele plazmocitoidne dendritičke stanice cyCD3, CD7, CD19, CD79a, CD22(cy) MPO, CD33, CD13, CDw65, CD68 (CD14, lizozim), CD117 glikoforin A, megakariocitni biljezi (CD42 CD41, CD61); CD56, CD123, CD30
4. *Morfologija blasta poput AML-M3:* PML protein (AML-M3).

6. Zaključci

- **20% i više blasta** je osnovni kriterij za dijagnozu AL. Međutim broj blasta može biti i nešto niži, primjerice kada se nađu citogenetske promjene: t(8;21); t(6;9). Naprotiv, u bolesnika s AML nakon MDS ponekad je potrebno pratiti tijek bolesti do progresije iznad 30% blasta i tada započeti terapiju za AL.
- Pojedini citomorfološki tipovi AL povezani su različitim SZO kategorijama.
- **Do 5% blasta** u koštanoj srži je kriterij za citomorfološku remisiju. Međutim i manji broj od 5% blasta s morfologijom M3 i L3 može upućivati na minimalnu ostatnu bolest.
- Citomorfološku i citokemijske analize je potrebno učiniti uz druge specifične analize:
1) kod prve dijagnoze bolesti, 2) ako se liječenjem ne postigne remisija bolesti i 3) u relapsu bolesti.
- Ponekad je za točnu dijagnostiku AL i razlikovanje od drugih tumorâa nediferenciranih i nezrelih stanicâ potrebno učiniti imunocitokemijsku analizu.

Literatura:

1. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposals for classification of acute leukemias. British Journal of Haematol 1976; 33: 451-458.
2. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. Ann Intern Med 1985; 103: 626-629.
3. Goasguen JE, Bennett JM. Classification of acute myeloid leukemia. Clin Lab Med 1990; 10: 661-681.
4. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues; Lyon: International agency for research on cancer 2001: 75-117.
5. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International agency for research on cancer; 2008:110-178.
6. Tang G, Truong F, Fadare O, Woda B, Wang A. Diagnostic challenges related to myeloid/natural killer cells, a variant of myeloblasts. Int J Clin Exp Pathol 2008; 1: 544-549.
7. Scott AA, Head DR, Kopecky KJ, Appelbaum FR, Theil KS, Grever MR, et al. HLA-DR-, CD33+, CD56+, CD16- myeloid/natural killer cell acute leukemia: a previously unrecognized form of acute leukemia potentially misdiagnosed as French-American-British acute myeloid leukemia-M3. Blood 1994; 84:244-255.
8. Suzuki R, Yamamoto K, Seto M, Kagami Y, Ogura M, Yatabe Y, et al. CD7+ and CD56+ myeloid/natural kill cell precursor acute leukemia: a distinct hematolymphoid disease entity. Blood 1997; 90: 2417-2428.
9. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. Blood 2009; 114: 5937-951.
10. Dohner H, Estey EH, Amadori S, Appelbaum FR, Thomas Buchner, Burnett AK, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. Blood 2010; 115: 453-474.
11. Castoldi GL, Liso V, Specchia G, Tomasi P. Acute promyelocytic leukemia: morphological aspects. Leukemia 1994; 8: 1441-1446.
12. Villamor N, Costa D, Aymerich M, Esteve J, Carrió A, Rozman M, et al. Rapid diagnosis of acute promyelocytic leukemia by analyzing the immunocytochemical pattern of the PML protein with the monoclonal antibody PG-M3. Am J Clin Pathol 2000; 114:786-92.

Postupnik za citogenetsku dijagnostiku akutnih leukemija

Mr. sc. Ružica Lasan Trčić

Citogenetski laboratorij, Klinika za pedijatriju,
Klinički bolnički centar Zagreb
E-pošta: lasan_ruzica@hotmail.com

Citogenetski laboratorij obavlja svoju djelatnost prema European cytogeneticists association (E.C.A.), siječanj 2006¹.

Citogenetika

Citogenetika je ključna pretraga za prepoznavanje prognostičkih kategorija akutnih leukemija dijagnosticiranjem kromosomskih/onkogenskih abnormalnosti pri dijagnosticiranju bolesti, praćenju nakon liječenja, uključujući transplantaciju koštane srž (TKS) i u relapsu/transformaciji.

Klasičnom citogenetikom (CTG) otkrivaju se klonalne abnormalnosti uključujući strukturne i numeričke promjene specifične za leukemijski klon, određene kromosomske abnormalnosti koreliraju s klasifikacijom prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO 2009)². Za citogenetsku analizu potreban je dovoljan broj stanica u diobi da se identificira klonalna evolucija. Identificiranjem normalnog kariotipa minimum analiziranih metafaza je 20, a pri identifikaciji specifične klonске abnormalnosti minimum je 10 metafaza. Ako je analiziran manji broj stanica potrebno je naznačiti razlog (može biti dobar mitotski indeks, ali loša kvaliteta kromosoma ili slab mitotski indeks). Za identifikaciju klonalnosti nužno je analizirati stanice različite kvalitete. Detekcija novih klonalnih abnormalnosti upućuje na napredovanje bolesti.³

Molekularna citogenetika – fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) interfazni/metafazni određuje mesta mesta loma pri kromosomskom preustroju, aneuploidiju, mozaicizam te identificira porijeklo nepoznatog kromosomskog materijala (marker, ring) i kimerizam u TKS. Prema rezultatima klasične CTG analize kombiniranjem multiplih kromosomskih proba identificiraju se kompleksne translokacije. Interfazni FISH povećana osjetljivost u probiru klonских stanica koje se ne dijele, također detektira kriptične translokacije koje mogu biti klinički relevantne. Pozitivni rezultati moraju biti vidljivi u nekliko metafaza, inače kompleksne translokacije mogu biti promašene. U definiranju klonalnosti analizira se 200-300 interfaznih jegara.

Rezultati klasične i molekularne citogenetike opisuju se prema *International system of human cytogenetic nomenclature* (ISCN (2009))⁴. Potrebno

je ispisati broj analiziranih klonских i neklonskih stanica klasičnom citogenetikom i tehnikom FISH. Opisati kromosomske abnormalnosti, u slučaju kompleksnog kariotipa uz broj analiziranih stanica naznačiti cp (*copositorum*) i opisno interpretirati nalaz u jednostavnom obliku.

Metode

a) klasičnom citogenetikom kariotipiziraju se stanice dobivene direktnom metodom, kratkotrajnim kultiviranjem i kultiviranjem sa sinkronizacijom (1-3 dana ovisno o dijagnozi) oprugavnjem kromosoma, najčešća primjenjena tehnika je G-pruganje.

b) molekularna citogenetika temelji se na fluorescentnoj in situ hibridizaciji (FISH), uz brojne inačice npr. multikolor FISH, spektralno kariotipiziranje (SKY) i komparativna hibridizacija genoma (CGH).

Uzorci

Za klasičnu i molekularnu citogenetsku analizu uzorci trebaju biti svježi i uzeti pod sterilnim uvjetima s primjerenum antikoagulansom (epruveta sa zelenim čepom).

Najpouzdaniji uzorak je aspirat koštane srži (KS) i periferna krv (PK). Povremeno, prema potrebi može se uzeti svježe tkivo (limfni čvor, ekstranodalni infiltrat), izljev (pleuralni, abdominalni i perikardijalni), cerebrospinalna tekućina (CFS).

- | | |
|------------------|--|
| a) koštana srž | 1-3 mL, vacutainer epruveta s litij-heparinom |
| b) periferna krv | 5-7 mL, vacutainer epruveta s litij-heparinom |
| c) razmaz | najamanje 5 stakalca (PK/KS) |
| d) svježe tkivo | vacutainer epruveta s litij-heparinom i 2 mL medija RPMI1640 |

Dostava materijala

a i b) koštana srž i krv

- transport na ambijentalnoj temperaturi
- ljeti na +4°C
- materijal treba stići unutar 24 sata od uzimanja

c) razmazi

- čuvati na -20°C do transporta
- transport na ambijentalnoj temperaturi
- ljeti na +4°C

d) svježe tkivo

- na ledu u što kraćem vremenu

Uputnica treba sadržavati

- Ime i prezime
- Dob

- Spol
- Radna dg.
- Pri praćenju minimalne ostatne bolesti ispisani CTG i FISH nalaz pri dijagnozi bolesti
- Pri TKS ispisani CTG i FISH nalaz primatelja pri dijagnozi i spol davatelja
- KKS (zadnja)

Vrijeme izdavanja nalaza analize

- Samo FISH unutar 24-48h
- 5-7 dana usmeno u hitnim slučajevima na zahtjev kliničara (mora biti dokumentirano koja informacija i kome je dana)
- 11 dana samo G-pruganjem
- kompleksna obrada primjenom više citogenetskih tehnika 21 dan (najčešće pri dijagnozi)

Indikacije za citogenetsku analizu

- Akutna leukemija pri dijagnozi
- Ako je prisutna kromosomska abnormalnost pri dijagnozi - u praćenju nakon tretmana ili u relapsu.
- Detekcija kimerizma TKS (najbolji izbor STR lokusi)

Tablica 1. Najzastupljenije strukturne i numeričke kromosomske aberacije u ALL.

Prekursorske B-stanične ALL

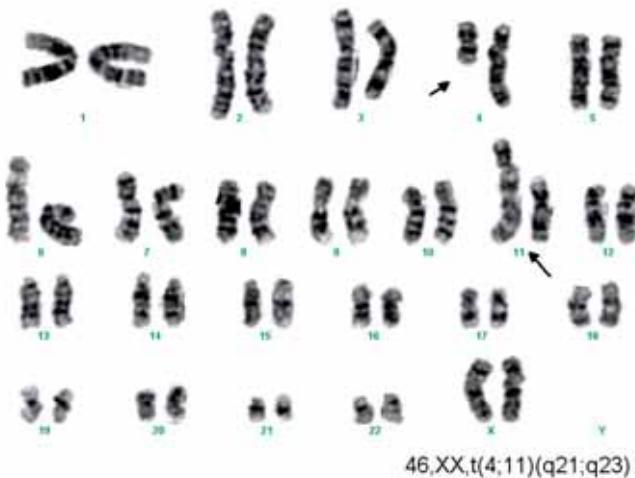
Kromosomska aberacija	Gen	Zastupljenost
t(2;8)(p11;q24)	IGK-MYC	<1%
t(8;14)(q24;q32)	MYC-IGH	2-4%
t(8;22)(q24;q11)	MYC-IGL	<1%
del/der/t(9p21-22)	CDKN2A (p16)	7-15%
t(9;22)(q34;q11.2)	ABL-BCR	20-30%
t(9;12)(q34;p13)	ABL-ETV6	<1%
t(4;11)(q21;q23)	AF4-MLL	3-7%
t(11;19)(q23;p13.3)	MLL-ENL	<1%
t(12;21)(p13;q22)	ETV6-AML1	2-3%
t(1;19)(q23;p13)	PBX1-E2A	2-4%
t(17;19)(q22;p13)	HLF-E2A	<1%
i(7)(q10)	?	<1%
dic(7;9)(p11;p11-12)	?	~1%
i(9)(q10)	?	~1%
del(12)(p11-13)	?	4-5%
+10 ili trisomija 10 zasebno*		
+15 ili trisomija 15 zasebno*		
+4 ili trisomija 4 zasebno*		
+8 ili trisomija 8 zasebno*		
-21 ili monosomija 21 zasebno*		

Prekursorske T-stanične ALL

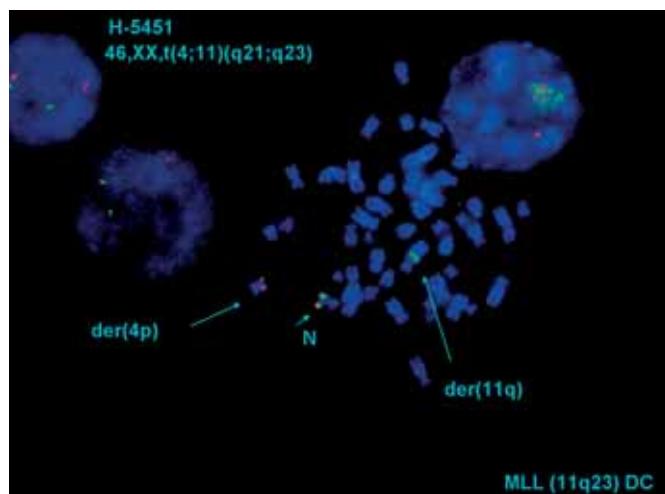
t(1;7)(p32;q35)	TAL1-TCR-b	<1%
t(1;7)(p34;q35)	LCK/TCR-b	<1%
t(7;9)(q35;q32)	TCR-b-TAL2	<1%

t(7;9)(q35;a34)	TCR-b-TAN1	<1%
t(7;10)(q35;q24)	TCR-b-HOX11	<1%
t(7;11)(q35;p13)	TCR-b-RHOM2	<1%
t(1;14)(p32-34;q11)	TAL1-TCR-d	<1%
t(8;14)(q24;q11)	MYC-TCR-a	1-3%
t(10;14)(q24;q11)	HOX11-TCR-d	2-3%
t(11;14)(p13;q11)	RHOM2-TCR-d	<1%
t(11;14)(p15;q11)	RHOM2-TCR-d	<1%
inv(14)(q11q32.1)	TCR-a-TCL1	<1%
inv(14)(q11q32.3)	TCR-a-IGH	<1%
t(4;11)(q21;p15)	NUP98-RAP1GDS1	<1%
+4 ili trisomija 4 zasebno*		
+8 ili trisomija 8 zasebno*		
11q23 rearanžmani	MLL	
12p rearanžmani	TEL	
15q13-15 rearanžmani	?	
1q32 rearanžmani	?	
9p rearanžmani	p16	
del(5q)		
del(6q)		

* prekobrojni kromosom u poliploidiji ili prekobrojni 47 kromosom



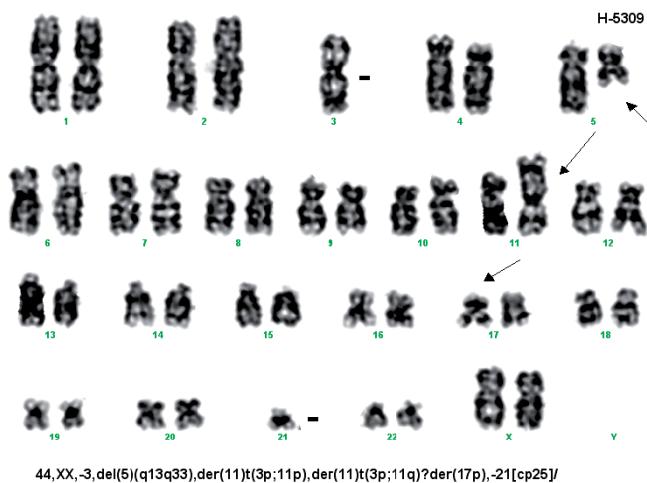
Slika 1. G-oprugani kromosomi koštane srži u ALL s translokacijom (4;11)(q21;q23)



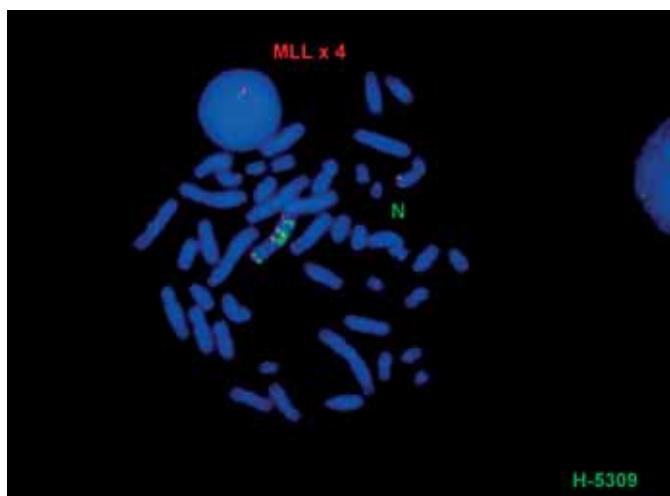
Slika 2. Metafazni FISH s MLL (11q23) probom (dvostruko obilježenom), identifikacija mesta loma u translokaciji (4;11).

Tablica 2. Kromosomske aberacije u AML prema WHO 2009.

AML s povratnim genetskim abnormalnostima	
Kromosomska aberacija	Gen
AML s t(8;21)(q22;q22)	RUNX1-RUNX1T1
AML s inv(16)(p13.1q12) ili t(16;16)(p13.1;q12)	CBFB-MYH11
APL s t(15;17)(q22;q12) AML s t(11;17)(q23;q12) AML s t(11;17)(q13;q12) AML s t(5;17)(q35;q12)	PML-RARA ZBTB16-RARA NUMA1-RARA NPM1-RARA
AML s t(9;11)(p22;q23) AML s t(6;11)(q27;q23) AML s t(11;19)(q23;p13.3) AML s t(11;19)(q23;q13.1) AML s t(10;11)(p12;q23)	MLLT3-MLL MLLT4-MLL MLL-MLLT1 MLL-ELL MLLT10-MLL
AML s t((6;9)(p23;q34)	DEK-NUP214
AML s inv(3)(q21q26.2) ili t(3;3)(q21;q26.2)	RPN1-EVI1
AML (megakarioblastična) s t(1;22) (p13;q13)	RBM15-MKL1
AML s mijelodisplastičnim pridruženim promjenama	
Kompleksni kariotip s tri ili više kromosomskih abnormalnosti	
Nebalansirane promjene	
-7 ili del(7q) -5 ili del(5q) i(17)(q10) ili t(17p) -13 ili del(13q) del(11q) del(12p) ili t(12p;v) del(9q) idic(X(q13)	
Balansirane promjene	
t(11;16)(q23;p13.3) t(3;21)(q26;q21.1) t(2;11)(p21;q23) t(5;12)(q33;p12) t(5;7)(q33;q11.2) t(5;17)(q33;p13) t(5;10)(q33;q21) t(3;5)(q25;q34)	
Akutne leukemije dvoznačne linije	
Miješani fenotip AL s t(9;22)(q34;q11.2)	
Miješani fenotip s t(v;11q23) MLL rearanžmani	



Slika 3. G-oprugani kromosomi koštane srži u AML s kompleksnim kariotipom.



Slika 4. Metafazni FISH kompleksnog kariotipa AML s MLL (11q23) probom (dvostruko obilježenom), identifikacija amplifikacije MLL gena.

Literatura:

1. Bricarelli FD, Kristofferson U, Hastings RJ, Cavani S. Cytogenetic guidelines and quality assurance. ECA 2006;17:15-32.
2. Dohner H, Estey EH, Amador S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from international expert panel, on behalf of the European leukaemiaNet. Blood 2009; 10.1182/44-52.
3. Rowley JD. Cytogenetic analysis in leukemia and lymphoma. Seminars in Hematology 2000; 37(4):315-425.
4. Shafer LG, Tommerup N, International System for Human Cytogenetic Nomenclature (Karger, 2005)

Važnost molekularnog odgovora u kroničnoj mijeloičnoj leukemiji

Prof. dr. sc. Renata Zadro¹

Prof. dr. sc. Rajko Kušec²

¹Zavod za hematologiju i koagulaciju Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb

E-pošta: rzadro@mef.hr

²Odjel molekularne dijagnostike i genetike Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku KB Dubrava

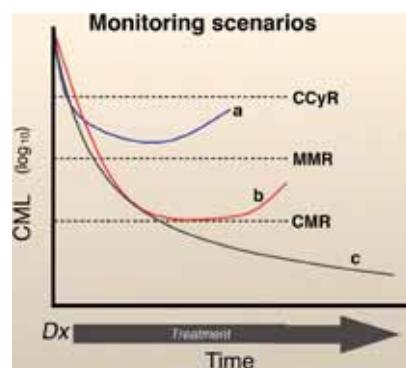
E-pošta: rkusec@mef.hr

Zašto molekularno praćenje u kroničnoj mijeloičnoj leukemiji? Zato što je molekularno praćenje danas najadekvatniji način dokumentacije odgovora na terapiju i predviđanja recidiva bolesti.

Jedinstvena recipročna translokacija koja stvara Philadelphia kromosom, odnosno fuzijski prijepis bcr-abl1, osnova je za dijagnostiku i praćenje kronične mijeloične leukemije. Sva važnost koja je svojevremeno pridavana molekularnom praćenju minimalne ostatne bolesti u transplantiranih bolesnika pokazala se snažnom i u praćenju terapije inhibitorima tirozin-kinaze. Molekularno praćenje je danas rutinski dio kliničke obrade bolesnika koji boluju od kronične mijeloične leukemije.

Kod novodijagnosticiranog bolesnika s kroničnom mijeloičnom leukemijom terapija inhibitorima tirozin-kinaze progresivno smanjuje broj stanica s Philadelphia kromosomom. Kako se broj leukemijskih stanica vremenom smanjuje, osjetljivost tehnika za praćenje bolesti se primjerenoto tome mora povećavati. To se postiže uporabom fluorescenčne *in situ* hibridizacije te uporabom kvantitativne polimerezne lančane reakcije. Prema preporukama Europske leukemijske mreže (eng. *European LeukemiaNet*) optimalne vrste molekularnog odgovora su kompletan (CMR) i značajan (MMR) molekularni odgovor, a molekularno se praćenje provodi svaka 3 mjeseca do postizanja MMR te zatim najmanje svakih 6 mjeseci za potvrdu MMR te postizanja mogućeg CMR.

Zbog čega molekularno praćenje nakon postizanja kompletног citogenetičkog odgovora (CCyR) ima veliku važnost? Slika 1. (preuzeta od Radich JP, Blood 2009) prikazuje moguće scenarije molekularnog praćenja bolesnika koji su postigli CCyR. Studija IRIS je pokazala, a druge studije potvrdile, da su bolesnici s jačim molekularnim odgovorom kod CCyR te oni koji su postigli više od MMR (<0,1% IS) imali manji rizik za progresiju bolesti od bolesnika s lošijim odgovorom (Branford i sur Leukemia 2003, Marin i sur Leukemia 2005, Press i sur Blood 2006).



Slika 1. Bolesnici s postignutim CCyR:
a - bolesnik bez MMR s porastom razine bcr-abl1 kojeg treba češće pratiti
b - bolesnik s MMR s porastom bcr-abl1 kojeg treba češće pratiti i ukoliko dođe do još većeg porasta učiniti analizu mutacija
c - bolesnik s najboljom prognozom (postignut MMR i stabilna ili padajuća razina bcr-abl1)

Cortes i sur. (Clin Cancer Res 2005) također su pokazali da rano praćenje nakon početka terapije inhibitorima tirozin-kinaze (1-3 mjeseca) može biti korisno za predviđanje odgovora na terapiju.

Ima li potvrđeni CMR značenje i treba li ga određivati i pratiti? Branford i sur. (Blood 2008) utvrdili su da ranije postizanje MMR daje veću vjerojatnost postizanja CMR i veću stabilnost odgovora. Nadalje, važnost određivanja CMR je u činjenici da se CMR postiže u većem postotku terapijom inhibitorima tirozin-kinaze druge generacije. Zbog toga je, uz promicanje standardizacije kvantifikacije fuzijskog prijepisa bcr-abl1 i analize mutacija, jedna od zadaća EUTOS for CML (eng. *European Treatment and Outcome Study*), podprojekt „Molecular Monitoring“ i definicija i standardizacija kompletног molekularnog odgovora.

PREPORUKA ZA UZIMANJE UZORKA ZA MOLEKULARNU ANALIZU:

- **uzorak koštane srži potreban je samo prilikom postavljanja dijagnoze kako bi se molekularnom analizom potvrdio fuzijski prijepis bcr-abl1 te odredila vrsta prijepisa (b2-a2, b3-a2 ili varijanta koju zasad ne možemo kvantificirati)**
- **za kvantitativni PCR potrebne su 3 velike EDTA epruvete periferne krvi (ljubičasti čep) s uputnicom za KVANTITATIVNI PCR bcr-abl1**
- **svi uzorci moraju biti dostavljeni u laboratorij na ledu tijekom redovnoga radnog vremena**

Literatura:

1. Radich JP. How I monitor residual disease in chronic myeloid leukemia. *Blood* 2009;114:3376-81.
2. Branford S, Rudzki Z, Harper A, i sur. Imatinib produces significantly superior molecular responses compared to interferon alpha plus cytarabine in patients with newly diagnosed chronic myelogenous leukemia in chronic phase. *Leukemia* 2003;17:2401-9.
3. Marin D, Kaeda J, Szydlo R, i sur. Monitoring patients in complete cytogenetic remission after treatment of CML in chronic phase with imatinib: patterns of residual leukemia and prognostic factors for cytogenetic relapse. *Leukemia* 2005;19:507-12.
4. Press RD, Love Z, Tronnes AA, i sur. BCR-ABL mRNA levels at and after the time of a complete cytogenetic response (CCR) predict the duration of CCR in imatinib mesylate-treated patients with CML. *Blood* 2006;107:4250-6.
5. Cortes J, Talpaz M, O'Brien S, i sur. Molecular responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase treated with imatinib mesylate. *Clin Cancer Res* 2005;11:3425-32.
6. Branford S, Lawrence R, Grigg A, i sur. Long term follow up of patients with CML in chronic phase treated with first-line imatinib suggests that earlier achievement of a major molecular response leads to greater stability of response (abstract). *Blood* 2008;112:2113.

Prijedlog ispitivanja rijetkih poremećaja krvarenja žena generativne dobi

Ana Boban, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutrašnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: bobanana@gmail.com

Uvod. Von Willebrandova bolest, hemofilija A i hemofilija B zajedno čine 95-97% nasljednih bolesti nedostatka koagulacijskih faktora. Ostalih 3-5% nasljednih poremećaja krvarenja čine hipofibrinogenemija i disfibrinogenemija, manjak protrombina, faktora V, kombinirani manjak faktora V i faktora VIII, manjak faktora VII, X, XI i XIII. Ovi poremećaji se nazivaju rijetkim poremećajima krvarenja. Klinička slika rijetkih poremećaja krvarenja veoma varira, od teških sklonosti spontanim krvarenjima u mišiće i zglobove i krvarenja u središnji živčani sustav koji su relativno rijetki, do krvarenja iz gastrointestinalnog i genitourinarnog trakta, menoragijske, epistakse i kožnih krvarenja. Ovi poremećaji se nasljeđuju autosomno recesivno, a prevalencija im je oko 1:500 000 stanovnika.

Međutim, smatra se da određeni broj bolesnika s rijetkim poremećajima krvarenja ostaje neprepoznat. Povod za dijagnostičku obradu poremećaja krvarenja može biti klinička slika, pozitivna obiteljska anamneza ili patološki laboratorijski nalazi dobiveni rutinskom obradom. Zbog specifičnosti dijagnostičkih testova koji se mogu napraviti samo u specijaliziranim centrima, te često urednim osnovnim parametrima koagulacije, velik dio bolesnika ostane nedijagnosticiran, osobito ako im je klinička slika krvarenja blaga.

Menoraga je relativno čest problem žena generativne dobi. Definira se kao subjektivan osjećaj obilnog krvarenja dužeg od 7 dana, odnosno objek-

tivno kao gubitak krvi veći od 80 mL. Iako se menoraga najčešće smatra posljedicom lokalne ili sistemskog ginekološke bolesti, točan uzrok obilnog ili produženog krvarenja se otkrije u manje od 50% žena. Nasljedni poremećaji krvarenja su otkriveni u značajnom postotku u žena koje su se prezentirale menoragijom. Najčešće su opisani von Willebrandova bolest (u 5-24% žena), trombocitopatijske (u oko 50% žena), recesivni blagi poremećaji krvarenja (u 1-4% žena), te žene koje su nosioci hemofilije. Menoraga, međutim ne predstavlja jedini problem u žena s poremećajima koagulacije. Uz menoragu, ove bolesnice imaju češća krvarenja pri porodu, te povećan rizik nastanka endometrioze i hemoragijske ovarijske ciste. Otkrivanje poremećaja koagulacije je vrlo bitno zbog mogućnosti terapijske intervencije. Ovisno o koagulacijskom poremećaju, u terapiji menoragijske se koriste transeksamična kiselina, dezmpresin i oralni kontraceptivi. Histerekтомija je krajnja metoda kojom je nažalost liječen velik broj bolesnica s neprepoznatim poremećajem koagulacije.

Ciljevi. Cilj ovog ispitivanja je utvrditi učestalost poremećaja krvarenja u žena generativne dobi s menoragijom. Također bismo procijenili vrijednost upitnika o sklonosti krvarenju kao metode probira za otkrivanje žena s blagim poremećajima krvarenja.

Metode. U istraživanje bismo uključili sve zainteresirane centre u Hrvatskoj. Cilj nam je obraditi 100 žena generativne dobi. Ispitanicama bismo jednokratno venepunkcijom uzeli krv za laboratorijsku obradu, te ih zamolili da ispune upitnik o menstrualnom krvarenju i simptomima krvarenja (Tablica 2.). Plan laboratorijskih testova je opisan u Tablici 3.

Osim koagulacijskih testova verificirali bismo i težinu sideropenične anemije. Također bismo sve ispitnice uputili ginekologu zbog ginekološkog pregleda i ultrazvuka kojim bismo isključili ginekološku bolest kao uzrok menoragiji. Korištenje hormonske kontracepcije nije kontraindikacija za sudjelovanje u ispitivanju, ali bi podatak o korištenju bio zabilježen.

Tablica 1. Kriteriji za uključivanje ispitanica.

Kriteriji za uključivanje:
<ul style="list-style-type: none"> • žene generative dobi • starost 18-50 godina • obilno menstrualno krvarenje • sideropenična anemija ($Hb < \text{normala}$)
Isključni kriteriji:
<ul style="list-style-type: none"> • stečeni poremećaji koagulacije • jetrena bolest • bubrežna insuficijencija • antikoagulatna i antiagregacijska terapija • trombocitopenija

Tablica 2. Upitnik o menstrualnom krvarenju i simptomima krvarenja.

	da/ne
Menstrualni simptomi	
<ul style="list-style-type: none"> • trajanje krvarenja • krvarenje pored tampona/uloška • «poplava» • ograničena svakodnevna aktivnost • jače krvarenje u usporedbi s drugima 	
Spontana krvarenja	
<ul style="list-style-type: none"> • krvarenje iz nosa (>20 puta tijekom života) • krvarenje iz nosa u djetinjstvu (>jednom mjesечно) • lako nastajanje modrica po koži • krvarenje iz usnica, desni ili jezika • produženo krvarenje nakon posjekotina 	
Pojačano krvarenje nakon zahvata	
<ul style="list-style-type: none"> • nakon vađenja zuba • nakon operativnog zahvata • nakon poroda ili pobačaja 	
Anemija i liječenje krvarenja	
<ul style="list-style-type: none"> • liječnička pomoć u zaustavljanju krvarenja • kiretaža • od ranije poznata anemija • liječenje anemije 	
Obiteljska anamneza	
<ul style="list-style-type: none"> • majka imala menoragiju • sestra imala menoragiju • sklonost krvarenju u obitelji • dokazani poremećaj koagulacije u obitelji 	

Pozivamo sve centre zainteresirane za sudjelovanje u ispitivanju da se javi dr. Ana Boban, na broj telefona 01/2388757, ili na mail ana.boban@mef.hr. Podaci ispitivanja bi bili prezentirani na jednom od sljedećih sastanaka Krohema, te publicirani u relevantnom časopisu.

Tablica 3. Laboratorijski testovi.

Laboratorijski testovi
Prva linija testiranja
<ul style="list-style-type: none"> • E, Hb, MCV • Feritin • Krvna grupa • Trc • Agregacija Trc, PFA ADP/kolagen, adrenalin/kolagen • PV, APTV, fibrinogen, trombinsko vrijeme • Vrijeme krvarenja • VWF:RCo, VWF:Ag • FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI, FXIII
Druga linija testiranja
<ul style="list-style-type: none"> • citološki razmaz periferne krvi (s pitanjem veličine trombocita) • imunofenotipizacija trombocita • antigen fibrinogena

Dijagnoza, liječenje i praćenje preopterećenja željezom u sindromu mijelodisplazije – prijedlog hrvatskih smjernica

Prof. dr. sc. Toni Valković, dr. med.¹,

Prof. dr. sc. Boris Labar, dr. med.²

¹ Zavod za hematologiju, reumatologiju i kliničku imunologiju, KBC Rijeka

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

E-pošta: toni_val@net.hr

² Zavod za hematologiju

Klinika za unutrašnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: boris.labar@inet.hr

Poštovane kolegice i kolege,
pred vama je prijedlog tj. radna verzija naših smjernica za dijagnostiku, liječenje i praćenje preopterećenja željezom u sindromu mijelodisplazije. Molimo vas da ga kritički proučite te sve kritike, sugestije i prijedloge dostavite elektronском поштом prof. dr. sc. Borisu Labaru ili prof. dr. sc. Toniju Valkoviću kako bi se oblikovao konačni tekst hrvatskih smjernica. Pozdrav i hvala.

UVODNE NAPOMENE

Sindrom mijelodisplazije (SM) heterogena je klonalna hematološka bolest obilježena poremećajem proliferacije i diferencijacije stanica mijeloidne loze, njihovim morfološkim (displastičkim) promjenama te nefektivnom hematopoezom, što rezultira smanjenim brojem krvnih stanica na periferiji, poglavito anemijom, zbog čega se oboljeli često liječe transfuzijama krvi (1,2). Bolest se često transformira u akutnu leukemiju čemu doprinosi pridodavanje novih genetskih promjena onim već postojećim u zločudno pretvorenim prekursorskim stanicama. Incidencija SM je oko 3-4 oboljela na 100000 stanovnika, učestalost bolesti raste s godinama te se najčešće javlja oko 70. godine. Trenutno je važeća klasifikacija ove bolesti po Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (3), a najčešće rabljeni prognostički sustav je IPSS (od engl. "International Prognostic Scoring System"), koji u obzir uzima broj prisutnih citopenija, postotak blasta te citogenetske promjene u koštanoj srži (4). Po IPSS-u bolesnici pripadaju jednoj od sljedećih prognostičkih skupina: grupa niskog rizika (prosječno preživljenje je 5,7 godina), grupa *intermedijarnog-1* rizika (prosječno preživljenje je 3,5 godina), grupa *intermedijarnog-2* rizika (prosječno preživljenje je 1,2 godine) te grupa viso-

kog rizika (prosječno preživljenje je 0,4 godine). Još noviji prognostički sustav je WPSS (od engl. "World Health Organization Classification-based Prognostic Scoring System"), koji u obzir uzima i učestalost transfuzija kojima se bolesnik liječi (5).

Samo jedna transfuzijska jedinica deplazmatiziranih eritrocita sadrži oko 200 mg željeza, a ukupna količina željeza u organizmu odrasla čovjeka iznosi oko 4 g! Ljudsko tijelo ne posjeduje učinkovite mehanizme za uklanjanje suviška željeza pa će višekratne transfuzije krvi, ukoliko nisu istovremeno praćene gubitkom krvi, dovesti do njegova preopterećenja. Suvišak željeza oštećuje ljudski organizam na više načina: oštećenjem stanica uslijed nagomilavanja željeza koje je vezano u proteinske spojeve feritin i hemosiderin te štetnim djelovanjem nevezanog (slobodnog) plazmatskog željeza koje nije vezano za transferin i koje dovodi do stvaranja vrlo toksičnih slobodnih radikala (6,7).

Vezano željezo isprva se nagomilava u sustavu tkivnih makrofaga, a kada se kapacitet ovog sustava potroši, počinje se odlagati u parenhimske stanice jetre, srca, žljezda s unutrašnjim izlučivanjem dovodeći do njihova oštećenja i kliničkih manifestacija (8). Istraživanja Jensa i suradnika ukazuju da se, na sreću, željezo prije nagomilava u jetri, a tek onda u srcu (obično kada serumski feritin premašuje vrijednost od 1800 ug/L) pa je jetra svojevrsna "linija obrane" od srčane sideroze (9).

Hematološka bolest u kojoj najčešće dolazi do preopterećenja željezom uslijed ponavljajućih transfuzija krvi je SM, ali se ono javlja i u aplastičnoj anemiji, izoliranoj aplaziji crvene loze, primarnoj ili sekundarnoj mijelofibrozi, kao i talasemiji major, bolesti srpastih stanica te nekim drugim vrstama naslijednih anemija koje su u nas rijetke.

Medicina temeljena na dokazima pruža nam dokaze o štetnosti preopterećenja željezom. Bolesti srca kao posljedica nagomilavanja željeza u srčanom mišiću vodeći su uzrok smrti bolesnika s talasemijom major (10,11), a bolesnici s anemijom srpastih stanica i preopterećenjem željezom imaju značajno višu smrtnost nego li oni bez preopterećenja (12). Više je retrospektivnih studija u bolesnika sa SM ukazalo da preopterećenje željezom dovodi do oštećenja ciljnih organa tj. pridonosi njihovu oštećenju (8,13,14,15,16). Poznata studija Malcovatia i suradnika utvrdila je da bolesnici sa SM koji su ovisni o transfuzijama krvi imaju značajno kraće preživ-

ljenje i veću učestalost transformacije u akutnu leukemiju od onih koji nisu ovisni o transfuzijskom liječenju (17). Isto tako, ustanovljeno je da bolesnici koji su značajno preopterećeni željezom (kao mjeru za značajnije preopterćenje željezom autori su predložili serumski feritin 1000 ug/L) žive kraće od onih koji nisu preopterećeni ovim metalom (17). Nadalje, fatalni slučajevi zatajenja jetre ili srca zabilježeni su upravo u bolesnika čija je vrijednost serumskog feritina premašivala 1000 ug/L (9). U većine bolesnika s kroničnim anemijama ta će razina serumskog feritina biti postignuta nakon primjene više od 20 jedinica deplazmatiziranih eritrocita. Jensen i suradnici su ustanovili povišene vrijednosti alanin-amino-transferaze u svih bolesnika čiji je serumski feritin premašivao 2500 ug/L (13). Međutim, od ukupnog broja primljenih jedinica deplazmatizirane krvi u nekog bolesnika, čini se da je još važnija, učestalost (frekvencija) transfuzijskog liječenja (izražena kao broj jedinica deplazmatiziranih eritrocita na mjesec). Tako je spomenuta studija Malcovatia i suradnika pokazala da je u skupni bolesnika s refraktornom anemijom (RA), refraktornom anemijom s prstenastim sideroblastima (RARS, od eng. “*refractory anemia with ring sideroblasts*”) te izoliranom delećijom 5q kromosoma (-5q sindrom) upravo učestalost transfuzijskog liječenja, a ne ukupna količina dobivenih jedinica deplazmatiziranih eritrocita značajno povezana s preživljnjem bolesnika (17).

Isto tako, Cazzola i suradnici su utvrdili da bolesnici koji mjesечно primaju 2 ili više jedinica deplazmatiziranih eritrocita imaju značajno kraće preživljjenja od onih koji se liječe manjom učestalošću transfuzija (15). Preopterećenje željezom naročito je važno u niskorizičnim inačicama SM (RA, RARS, -5q sindrom) te bolesnicima s niskim rizikom prema IPSS-u budući da je njihovo očekivano vrijeme života dovoljno dugo da se ispolje neželjene posljedice nagomilavanja željeza. Rezultati nekoliko studija pokazali su da uporaba kelatora željeza u bolesnika sa SM dovodi do smanjenja vrijednosti serumskog feritina, kao i količine željeza u jetri i srcu te poboljšavanja vrijednosti aminotransferaza u serumu (18,19,20). Isto tako, studija Leitcha i suradnika pokazala je da je preživljjenje bolesnika sa SM čiji je IPSS *nizak* ili *intermedijarni-1*, a koji su tretirani kelatorima željeza, značajno dulje od onih koji nisu tretirani ovim lijekovima (21). Slične rezultate pokazala je i studija Rosea i suradnika (22).

Preopterećenje željezom može imati utjecaj na rezultate transplantacijskog liječenja. U bolesnika sa SM koji su prije alogeničke transplantacije krvotvor-

nih matičnih stanica imali feritin viši od 2515 ug/L rizik od smrtnog ishoda tj. mortalitet vezan uz transplantaciju je značajno viši od onih s nižim vrijednostima feritina (23). Zbog toga bi bolesnici sa SM koji su kandidati za transplantacijsko liječenje mogli imati posebnu korist od liječenja kelatorima.

Međutim, valja naglasiti da je velika većina dosadašnjih istraživanja koja se bave ovom problematikom retrogradna s često nevelikim brojem bolesnika pa je “razina dokaza” i “stupanj (snaga) preporuka” koji iz njih proizlazi kao i smjernice koje se na njima temelje relativno ograničene (najčešće se radi o “razini dokaza” III te “stupnju preporuke” B) te su za snažnije znanstvene dokaze potrebne daljnje randomizirane prospektivne kliničke studije s većim brojem ispitanika.

Prilikom izrade ovog prijedloga korištene se i razmatrane već postojeće smjernice vezane uz preopterećenje željezom u SM: talijanske smjernice (24), britanske smjernice (25), smjernice iz Nagasakija (26), NCCN smjernice (27,28), japanske smjernice (29), smjernice “MDS Foundation” (30), kanadske smjernice (31), austrijske smjernice (32). Temeljem ovih smjernica, a uvažavajuće naše specifične okolnosti, donesen je aktualni prijedlog hrvatskih smjernica.

KAKO PRATITI PREOPTEREĆENJE ŽELJEZOM?

Preopterećenje željezom valja pratiti određivanjem serumskog feritina, uz istovremeno određivanje C-reaktivnog proteina i aminotransferaza u serumu kako bi se isključile sustavne upale i oštećenje jetre kao mogući uzroci povišene vrijednosti feritina u serumu. Vrijednost serumskog feritina uputno je nadopuniti zasićenjem transferina. Ostale metode za utvrđivanje i praćenje preopterećenja željezom (slikovne - npr. magnetska rezonanca; direktno kemijsko određivanje količine željeza u biopsiji jetre; procjena količine željeza u biopsiji kosti) su korisne, ali ne nužne u rutinskom praćenju te ih valja koristiti u posebnim indikacijama (npr. kada bolesnik sa SM ima i neku dugotrajnu upalnu bolest ili kroničnu bolest jetre). Od najveće je važnosti vođenje dnevnika transfuzijskog liječenja u kojima se bilježi vrijeme i količina dobivenih transfuzija krvi.

KADA ZAPOČETI S PRAĆENJEM MOGUĆEG PREOPTEREĆENJA ŽELJEZOM?

Pri postavljanju dijagnoze SM potrebno je odrediti vrijednost feritina u serumu (i zasićenje transferina) te nakon toga periodički ponavljati pretrage

(svakih 6-12 mjeseci). Bolesnici s inicijalno visokim serumskim feritinom zahtijevaju dodatnu obradu (dokazivanje eventualnih sustavnih upala, bolesti jetre, ranijih transfuzija krvi, primarne hemokromatoze). U bolesnika koji se liječe i transfuzijama krvi preporuča se svaka 3-4 mjeseca odrediti vrijednost feritina u serumu (i zasićenje transferina) uz povremeno kliničko i laboratorijsko praćenje i uočavanje eventualnih znakova oštećenja ciljnih organa (određivanje vrijednosti aminotransferaza i glukoze u serumu, ultrasonografija srca). Ukoliko se bolesnik zbog preopterećenja željezom lijeći kelatorom željeza vrijednost feritina u serumu (i zasićenje transferina) treba određivati svaka 3 mjeseca.

KADA TREBA ZAPOČETI LIJEČENJE KELATOROM ŽELJEZA OBZIROM NA TRANSFUZIJSKI STATUS I VRIJEDNOST FERITINA U SERUMU?

Liječenje kelatorima željeza trebalo bi započeti kada je serumski feritin veći od 2000 ug/L u bolesnika koji se opetovano liječe transfuzijama krvi, neovisno o ukupnom broju do tada primljenih jedinica deplazmatiziranih eritrocita i frekvenciji njihove primjene. Prije započinjanja liječenja povišenu vrijednost feritina u serumu valjalo bi provjeriti i potvrditi u 2 navrata tijekom 2 mjeseca.

Također, liječenje bi trebalo započeti ako bolesnici dobivaju 2 ili više jedinica deplazmatiziranih eritrocita na mjesec tijekom 1 godine, neovisno o koncentraciji feritina u serumu.

KOJI BOLESNICI MOGU IMATI KORIST OD KELACIJSKE TERAPIJE, ODNOSNO KOJE BI BOLESNIKE TREBALO LIJEĆITI?

Od liječenja kelatorima željeza moguću korist mogli bi imati:

- bolesnici s očekivanim trajanjem života duljim od 2 godine i bez teških pridruženih bolesti
- bolesnici s nisko-rizičnim inačicama SM (refraktorna anemija, refraktorna anemija s prstenastim sideroblastima, sindrom izolirane delecije 5q), oni koji imaju IPSS *nizak* ili *intermedijarni-1*, eventualno i oni s višim rizikom, ali duljim očekivanim trajanjem života
- kandidati za alogenu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica
- bolesnici kojima treba očuvati od ranije oštećenu funkciju organa koji su obično zahvaćeni nagomilavanjem željezom.

KADA PREKINUTI LIJEČENJE KELATORIMA ŽELJEZOM?

Liječenje kelatorima željeza trebalo bi prekinuti:

- ukoliko serumski feritin padne ispod 1000 ug/L i više nije potrebno liječenje transfuzijama krvi
- ukoliko serumski feritin padne ispod 500 ug/L neovisno o tome hoće li se bolesnik u budućnosti transfuzijski liječiti
- ukoliko to više nije u interesu bolesnika iz bilo kojeg razloga.

PREVENCIJA PREOPTEREĆENJA ŽELJEZOM

Prevencija preopterećenja željezom zapravo se svodi na smanjenje potrebe za transfuzijskim liječnjem. Prije svega, prepisivanje deplazmatizirane krvi treba biti što restriktivnije, rezervirano za bolesnike koji imaju simptome i znakove anemijске hipoksije uvažavajući pritom opće stanje bolesnika, njegove prateće bolesti i aktivnost u životu, a ne samo određenu vrijednost hemoglobina u krvi. Nadalje, rano liječenje SM danas dostupnim lijekovima (čimbenici rasta crvenih i bijelih krvnih stanica, imunomodulatorni lijekovi, citostatici, imunosupresivni lijekovi) doprinosi poboljšavanju anemije i smanjenju potrebe za transfuzijskim liječenjem.

KELATORI ŽELJEZA

U svijetu se koriste 3 kelatora željeza: deferoksamin, deferipron te deferasiroks.

Deferoksamin se koristi od 70-ih godina prošlog stoljeća. To je velika molekula s kratkim vremenom poluživota što dovodi do potrebe dugotrajne primjene (8 do 12 sati na dan tijekom 5-7 dana u tjednu), u dozi od 20-60 mg/kg/dan. Aplicira se u vidu kontinuirane potkožne infuzije i posebnih potkožnih aplikatora što nije previše podesno za bolesnike sa SM koji često imaju pridruženu trombocitopeniju. Deferoksamin je učinkovit lijek s prihvatljivim sigurnosnim profilom. Neželjeni učinci primjene su oštećenje oka te uha, reakcije preosjetljivosti i povećana sklonost infekcijama s Yersiniom.

Deferipron je kelator željeza koji se uzima na usta u dozi od 75-100 mg/kg/dan. Obzirom da je najozbiljnija neželjena pojava pri primjeni ovog lijeka neutropenija tj. agranulocitoza upitna je njegova primjena u SM. Ostale neželjene pojave liječenja obuhvaćaju probavne smetnje, oštećenje jetre, artralgije i nedostatak cinka.

Deferasiroks je najnoviji kelator željeza koji je od nedavno u primjeni, a dostupan je i u našoj zemlji. Primjenjuje se u vidu tableta za oralnu suspenziju, u

dozi od 20-30 mg/kg/dan. Budući da se radi o malo molekuli s dugim poluvremenom života (8-16 sati) primjenjuje se jednom na dan uz postizanje 24-satne kelacije slobodnog i vezanog željeza. Dokazana je neinferiornost deferasiroksa u odnosu na deferoksamini te prihvatljiv sigurnosni profil (33,34). Deferasiroks se koristi u monoterapiji, a kombinacije s drugim kelatorima željeza nisu ispitane. Opisane neželjene pojave deferasiroksa su: probavne smetnje, kožni osipi, porast serumskog kreatinina (obično blag, neprogresivan i prolazan) te aminotransfereaza, žučni kamenci, kao i oštećenje vida te sluha.

LITERATURA

1. Mufti GJ. Pathobiology, classification and diagnosis of myelodysplastic syndrome. Best Pract Res Clin Haematol. 2004;17:543-57
2. Bennett JM, Komrokji RS. The myelodysplastic syndromes: diagnosis, molecular biology and risk assessment. Hematology. 2005; 10:258-69
3. Brunning RD, Bonnett JM, Flandrin G, et al. Myelodysplastic syndromes. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. WHO Classification of Tumors. Pathology and Genetics. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Vol. 1. IARC Press Lyon; 2001. pp.62-73
4. Greenberg P, Cox C, LeBeau, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood. 1997; 89:2079-88
5. Malcovati L, Germing U, Kuendgen A, et al. Time-dependent prognostic scoring system for predicting survival and leukemic evolution in myelodysplastic syndromes. J Clin Oncol. 2007; 25:3503-10
6. Kushner JP, Porter JP, Olivieri NF. Secondary iron overload. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program) 2001;47-61
7. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. N Engl J Med. 1999; 341:1986-95
8. Schafer AL, Cheron RG, Dluhy R, et al. Clinical consequences of acquired transfusional iron overload in adults. N Engl J Med. 1981; 304:319-24
9. Jensen PD, Jensen FT, Christensen T, et al. Evaluation of myocardial iron by magnetic resonance imaging during iron chelation therapy. Blood. 2003; 101:4632-9
10. Gabutti V, Piga A. Results of long-term iron-chelating therapy. Acta Haematol. 1996; 95:26-36
11. Olivieri NF, Brittenham GM. Iron-chelating therapy and treatment of thalassemia. Blood. 1997; 89:739-61
12. Ballas SK. Iron overload is a determinant of morbidity and mortality in adult patients with sickle cell disease. Semin Hematol. 2001; 38:30-6
13. Jensen PD, Jensen FT, Christensen T, et al. Relationship between hepatocellular injury and transfusional iron overload prior to and during iron chelation with desferrioxamine: a study in adult patients with acquired anemias. Blood. 2003; 101:91-6
14. Jeager M, Aul C, Sohngen D, et al. Secondary hemochromatosis in polytransfused patients with myelodysplastic syndromes. Beitr Infusionther. 1992; 30:464-8
15. Cazzola J, Barosi G, Gobbi PG, et al. Natural history of idiopathic refractory sideroblastic anemia. Blood. 1988; 72:305-12
16. Delea TE, Hagiwara M, Phatak PD. Retrospective, nested, case-control study of the association between transfusion frequency and potential complication of iron overload in patients with myelodysplastic syndrome and other acquired hematopoietic disorders. Blood. 2006; 108:Abstract 968
17. Malcovati L, Porta MG, Pascutto C, et al. Prognostic factors and life expectancy in myelodysplastic syndromes classified according to WHO criteria: a basis for clinical decision making. J Clin Oncol 2005; 23:7594-603
18. Takatoku M, Uchiyama T, Okamoto S, et al. The Japanese National Research Group on idiopathic bone marrow failure syndromes. Eur J Haematol 2007; 78:487-94
19. Kersten MJ, Lange R, Smeets Me, et al. Long-term treatment of transfusional iron chelator deferiprone (L1): a Dutch multicenter trial. Ann Hematol 1996; 73:247-52
20. Gattermann N, Cazzola M, Greenberg P, et al. The efficacy and tolerability of ICL670, a once-daily oral iron chelator, in patients with myelodysplastic syndrome (MDS) and iron overload. Leuk Res. 2005; 29:S67
21. Leitch HA, Goodman TA, Wong KK, et al. Improved survival in patients with myelodysplastic syndrome (MDS) receiving iron chelation therapy. Blood. 2007; 108 (Abstract 249)
22. Rose C, Brechnignac S, Vassilieff D, et al. Positive impact of iron chelation therapy (CT) in regularly transfused MDS patients. A prospective analysis by the GFM. Blood. 2007; 110 (Abstract 249)
23. Armand P, Kim HT, Cutler CS, et al. Prognostic impact of elevated pretransplantation serum ferritin in patients undergoing myeloablative stem cell transplantation. Blood. 2007; 109:4586-8
24. Alessandrino EP, Amadori S, Barosi G, et al: Italian Society of Hematology. Evidence-and consensus-based practice guidelines for therapy of primary myelodysplastic syndromes. A statement from the Italian Society of Hematology. Hematologica. 2002; 87:1286-306
25. Bowen D, Culligan D, Jowitt S, et al. UK MDS Guidelines Group. Guidelines for the diagnosis and therapy of adult myelodysplastic syndromes. Br J Haematol. 2003; 120:187-200
26. Gattermann N, Porter JB, Lopes LF, et al. Consensus statement on iron overload in myelodysplastic syndromes. Hematol Oncol Clin North Am. 2005; 19:18-25
27. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Myelodysplastic Syndromes. V1.2007. National Comprehensive Cancer Network 2007. (dostupno na internetskim stranicama)
28. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Myelodysplastic Syndromes. V2.2010. National Comprehensive Cancer Network 2007. (dostupno na internetskim stranicama)
29. Suzuki T, Tomonaga M, Miyazaki Y, et al. Japanese epidemiological survey with consensus statement on Japanese guidelines for treatment of iron overload in bone marrow failure syndromes. Int J Hematol. 2008; 88:30-5
30. Gattermann N. Guidelines on iron chelation therapy in patients with myelodysplastic syndromes and transfusional iron overload. Leukemia Research. 2007; 31S3:S10-15 (dostupno na internetskim stranicama)
31. Wells RA, Leber B, Buckstein R, et al. Iron overload in myelodysplastic syndromes: A Canadian consensus guideline. Leukemia Reseach. 2008; 32:1338-1353 (dostupno na internetskim stranicama)
32. Valnet P, Krieger O, Stauder R, et al. Iron overload in myelodysplastic syndromes (MDS)- diagnosis, management and response criteria: a proposal of the Austrian MDS platform. Eur J Clin Invest. 2008; 38:143-149
33. Cappellini MD, Bejaoui M, Agaoglo L, et al. Prospective evaluation of patient-reported outcomes during treatment with deferasirox or deferoxamine for iron overload in patients with beta-thalassemia. Clin Ther. 2007; 29:909-17
34. Piga A, Galanello R, Forni GL, et al. Randomized phase II trial of deferasirox (Exjade, ICL670), a once-daily, orally-administered iron chelator, in comparison to deferoxamine in thalassemia patients with transfusional iron overload. Haematologica. 2006; 91:873-80

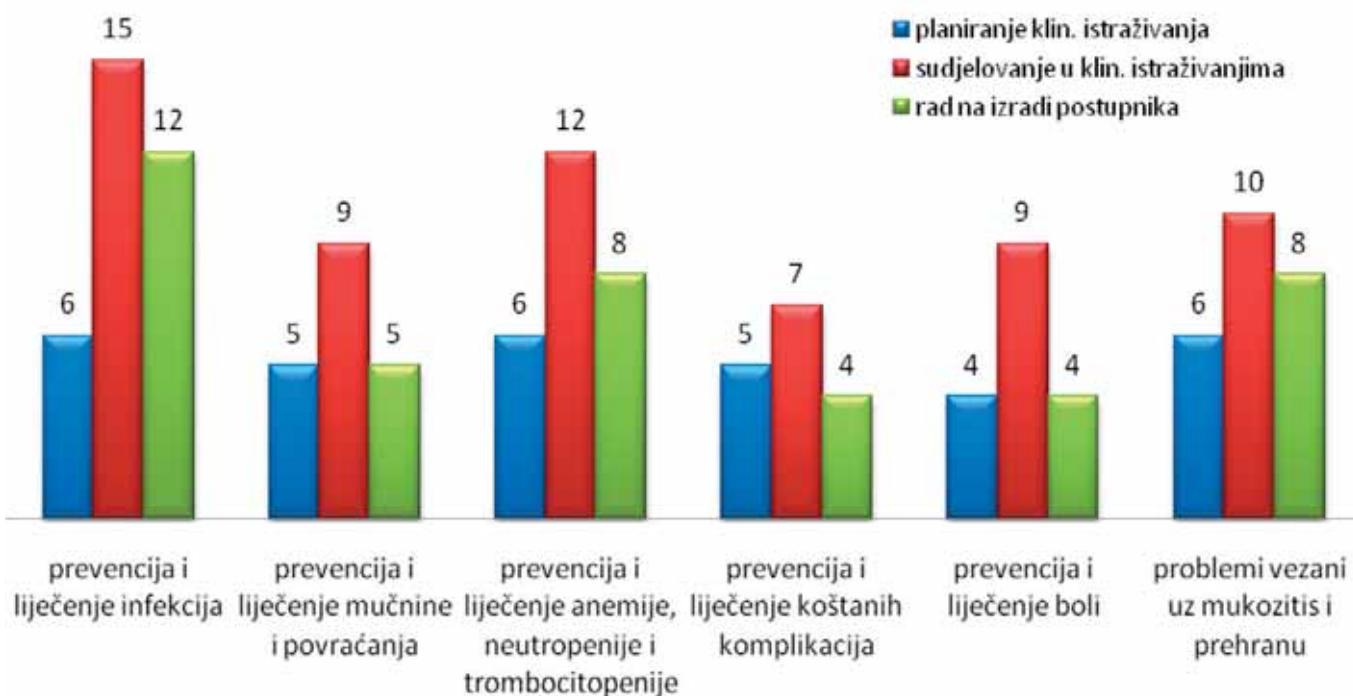
Radna skupina KROHEM-a za potpornu terapiju

Doc. dr. Radovan Vrhovac, dr. med.
Zavod za hematologiju
Klinika za unutarnje bolesti
Klinička bolnica Merkur, Zagreb
E-pošta: radovan.vrhovac@zg.t-com.hr

Na sastanku KROHEM-a u Splitu predstavljen je djelokrug, ciljevi i plan rada nove Radne skupine za potpornu terapiju. Nakon sastanka je svim članovima KROHEM-a poslan elektronski obrazac kojem je cilj bio ispitati namjeru sudjelovanja u ovoj radnoj skupini, odnosno pojedinim njenim aktivnostima. Obrazac su ispunila 23 člana KROHEM-a. Najveći je interes iskazan za sudjelovanjem u kliničkim istraživanjima iz različitih područja potporne terapije u hematologiji, dok je nešto manje zanima-

nje pokazano za rad na izradi postupnika. Članovi KROHEM-a koji su odgovorili na elektronski obrazac pokazali su i interes za planiranje kliničkih istraživanja s ovog područja hematologije u sklopu KROHEM-a, odnosno izradu istraživačkih protokola. Interes po pojedinim predloženim područjima prikazuje Slika 1. Osim navedenih područja, članovi KROHEM-a su predložili da se u sklopu ove radne skupine raspravljaju i problemi kvalitete života bolesnika sa zločudnim hematološkim bolestima, psihološkoj potpori tim bolesnicima, poremećaju kognitivnih funkcija uzrokovanih malignom bolešću i kemoterapijom te problemima u opterećenju bolesnika željezom.

**Slika 1. Interes članova KROHEMA za sudjelovanjem u radu
Radne skupine za potpornu terapiju u hematologiji**



Registri za kroničnu mijeloičnu leukemiju

Zinaida Perić, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutrašnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: zina_peric@yahoo.com

Na Sastanku Krohema u Splitu, u svibnju 2010., Radna skupina za kroničnu mijeloičnu leukemiju (KML) predstavila je dva registra: registar ELN-a, koji je dio Europske studije za kroničnu mijeloičnu leukemiju (eng. *European Treatment and Outcome Study for CML, EUTOS for CML*), te registar u nastajanju, Hrvatski registar za kroničnu mijeloičnu leukemiju

1. "EUTOS for CML" registar

"EUTOS for CML" je europska studija za kroničnu mijeloičnu leukemiju, nastala jedinstvenom suradnjom skupine stručnjaka ujedinjenih u European LeukemiaNet (ELN-a) i farmaceutske tvrtke Novartis, s ciljem boljeg razumijevanja i zbrinjavanja ove bolesti. EUTOS studija sastoji se od 4 podprojekta: uz KML registar, podrazumijeva projekt Molekularno praćenje (čiji je cilj standardizacija molekularnih pretraga u dijagnostici i praćenju KML-a), potom projekt Farmakološko praćenje (za procjenu vrijednosti mjerjenja koncentracije imatiniba u svakodnevnoj kliničkoj praksi) te projekt Širenje izvrsnosti (putem kontinuirane edukacije te promicanja ELN smjernica za dijagnostiku, liječenje i praćenje KML-a).

KML registar nastao je s ciljem prikupljanja važnih epidemioloških (do sada nepoznatih) podataka, a koji će služiti i procjeni stvarne vrijednosti ELN smjernica u svakodnevnoj kliničkoj praksi, stvaranju novih prognostičkih modela, a potom i individualizaciji liječenja temeljem navedenih modela. I ovaj registar sadrži nekoliko podregistara: "in-study" pacijente (a to su pacijenti uključeni u kliničke studije imatiniba kao prve linije liječenja između 2002. i 2006. godine), zatim "out-study" pacijente (pacijenti iz već postojećih registara, neovisno o prvoj liniji liječenja) te "population-based" registar (to su novodijagnosticirani pacijenti od 2009. godine u pojedinih europskim zemljama i regijama). S obzirom na poznatu incidenciju KML-a, predviđa se da će u ovaj posljednji registar u godinu dana prospektivno biti uključeno oko 1700 pacijenata. Uključivanje pacijenata upravo u ovaj registar započela je i Hrvat-

ska u studenom 2009. godine, a u našoj se zemlji u godinu dana očekuje oko 40 novodijagnosticiranih pacijenata.

U svibnju 2010. bili smo "na pola puta", te je, u skladu s predviđenom brojkom, novodijagnosticiranih pacijenata bilo 19, prema sljedećem rasporedu po centrima: u Zagrebu 9, u Osijeku 3, u Šibeniku 3, u Splitu 2, u Zadru i u Dubrovniku po jedan pacijent. Upisivanje ovih pacijenata u europski se registar vrši uz pripadajuće lozinke iz jednog centra (na KBC-u Zagreb), a putem elektroničkih "case report" formulara na stranicama ELN-a. Iznimnom suradnjom svih naših centara te dobrom komunikacijom hrvatskih hematologa, u svibnju 2010., od novodijagnosticiranih 19 pacijenata, u "EUTOS for CML" registar bilo je upisano njih čak 15 (Slika 1.). Ta nas je činjenica svrstala među nekoliko prvih zemalja po broju upisanih pacijenata, a ispred mnogih velikih europskih zemalja, te motivirala za daljnju suradnju u budućnosti.

Iako se radi o tek polovici pacijenata, te su nam dostupni podaci koji u "case report" formularu podrazumijevaju "baseline data" (odnosno demografske, kliničke i hematološke podatke, skor rizika, te citogenetske, FISH i molekularne nalaze pri dijagnozi; Slika 2.), ukratko iznosimo zanimljivosti dobivene obradom navedenih podataka.

Medijan dobi kod naših pacijenata pri dijagnozi iznosio je 51 godinu (raspon 41-73 godine), s nešto većom učestalosti kod muškaraca (M:Ž - 8:7), te s ECOG skorom 1 kod većine pacijenata pri dijagnozi. Ozbiljnije ugroženog općeg stanja (ECOG 4) bio je samo jedan pacijent pri dijagnozi zbog rupture slezene, a većina pacijenata (43%) bila je posve bez simptoma uz diskretno povećenu slezenu u samo 5 pacijenata (33%). Svi ovi podaci svrstavali su naše pacijente najčešće (u 53% slučajeva) u intermedijarnu skupinu rizika i po Hasfordovom i po Sokalovom skoru rizika. Što se tiče dijagnostičkih citogenetskih i molekularnih pretraga pri dijagnozi, dobili smo zanimljiva saznanja da je klasična citogenetika rađena kod 80% pacijenta, te da je kvantitativni PCR rađen kod tek nešto više od polovice pacijenata. Upravo su ova saznanja potaknula raspravu, te otvorila mogućnost napredovanju i usaglašavanju svih naših dijagnostičkih centara s ELN smjernicama.

U preostalih 6 mjeseci nas čeka daljnje uključivanje novodijagnosticiranih pacijenata, kao i upisivanje podataka o praćenju i liječenju uključenih pacijenata po isteku godine dana nakon dijagnoze. S

obzirom na dosadašnji uspjeh pri uključivanju prvih pacijenata u EUTOS registar, kao i vrijedna epidemiološka saznanja koja nam ova studija može donijeti, i u budućnosti se nadamo vrlo dobroj suradnji svih naših centara.

2. Krohemov KML registar

Na sastanku u Splitu predstavljen je i Hrvatski registar za KML, koji je pobudio interes među našim hematolozima, ali izazvao zanimanje i međunarodnih gostiju, kao i dobio pohvale za vizualni izgled (Slika 3.).

Hrvatski je registar, poput već postojećih Krohemovih registara, namijenjen upisivanju naših pacijenta s otprije poznatom dijagnozom, te novodijagnosticiranih pacijenata s KML-om, a s ciljem dobivanja epidemiološke slike naše populacije pacijenata, te unaprjeđenja dijagnostike, liječenja i praćenja ove bolesti u skladu s postojećim smjernicama.

Podaci naših pacijenata u registar će biti upisivani putem nekoliko obrazaca: Opći podaci (koji podrazumijevaju osnovne podatke o pacijentu), Značajke

KML-a (koji se odnose na demografske, kliničke, hematološke, citološke i patološke podatke te skor rizika pri dijagnozi; Slika 4.), Citogenetski i molekularni nalaz (koji će se moći višestruko upisivati te tako služiti pri dijagnostici kao i praćenju pacijenata; Slika 5), potom Liječenje (obrazac podijeljen u liječenje kronične faze, ubrzane faze te blastične krize) i naposljetku Ishod liječenja (obrazac stvoren u skladu s ELN smjernicama).

Liječnici će pacijente upisivati "pod svoju ustanovu", uz pomoć svojih korisničkih imena i zaporki, tako da će biti u mogućnosti pregledavati sve pacijente upisane u vlastite ustanove, ali će moći mijenjati podatke samo o svojim pacijentima.

Svjesni smo da ovaj Registar tek započinje s aktivnim radom, te da će u početku postojati kako tehnički tako i logički nedostaci, ali i uvjereni da ćemo uz upornost i dobру volju već u bliskoj budućnosti imati prve upisane pacijente, te ih prikazati na idućem sastanku Krohema u Vodicama.

The screenshot shows a list of patients from HR-1/Croatia. The columns include Country/Region, Patient ID, and Date of birth. The data is as follows:

Country/Region	Patient	Date of birth [DD/MM/YYYY]
HR-1/Croatia	HR-1-001	14/07/1967
HR-1/Croatia	HR-1-002	14/02/1966
HR-1/Croatia	HR-1-003	17/12/1961
HR-1/Croatia	HR-1-004	04/09/1959
HR-1/Croatia	HR-1-005	05/08/1961
HR-1/Croatia	HR-1-006	30/03/1967
HR-1/Croatia	HR-1-007	17/10/1952
HR-1/Croatia	HR-1-008	27/03/1955
HR-1/Croatia	HR-1-009	04/01/1952
HR-1/Croatia	HR-1-010	08/09/1967
HR-1/Croatia	HR-1-011	21/03/1938
HR-1/Croatia	HR-1-012	30/08/1940
HR-1/Croatia	HR-1-013	03/01/1960
HR-1/Croatia	HR-1-014	26/03/1959
HR-1/Croatia	HR-1-015	13/09/1954

Slika 1. Hrvatski pacijenti upisani u "EUTOS for CML" registar.

The screenshot shows the "Baseline section" of the EUTOS for CML Registry eCRF. The sections listed are:

- Country/Region - Patient: HR-1/Croatia
- Date of diagnosis [DD/MM/YYYY]: 10/12/2009
- Informed consent: closed
- Demographic data: closed
- Clinical data before any treatment: closed
- Hematologic data: closed
- Risk score: closed
- Cytogenetic data: closed
- FISH data: closed
- Molecular biology: closed

Slika 2. "Baseline section" sastoji se od podataka o informiranom pristanku, općih demografskih podataka, kliničkih podataka pri dijagnozi, hematoloških podataka pri dijagnozi, skora rizika pri dijagnozi, citogenetskog nalaza, FISH-a te molekularnog nalaza.

Register oboješih - KML						
Pretraživanje						
Šifra	Ime	Prijeme	Stanje	Datum rođenja	Datum primjene	Ugovoreno
10280	Ane	Petar	Ziveti	12.2.1981	Zagreb	Doprni
11101	Andrea	Mario	mrtvi	18.2.1980		Izvješće
11207	Anđela	Stefan	mrtvi	3.1.1982		Hrvatska Dubica
01118	Bogdan	Bojan	Ziveti	18.10.1982		Zagreb
11279	Igor	Stjepan	mrtvi	21.7.1984		Hrvatska Dubica
11282	Jovana	Dragana	Ziveti	10.10.1985		Zagreb
707	Iva	Petar	mrtvi	14.2.1930	Zagreb	Zagreb
10003	Ivana	Hrvoje	mrtvi	28.9.2003		Izvješće
11280	Ivana	Cvetko	Ziveti	30.10.1984		Zagreb
10027	Jerome	Marko	mrtvi	22.6.1984		Hrvatska Most.
10229	Mario	Marko	mrtvi	12.7.1981		Hrvatska Most.
11239	Mirna	Marko	mrtvi	9.5.1986		Zagreb
11240	Pauline	Marko	mrtvi	9.8.1982		Zagreb
11219	Rozeli	Luka	mrtvi	10.3.1982		Zagreb
10442	Srdan	Stjepan-Miroslav	mrtvi	17.7.1981		Vukovar-Podravina
11206	Terezija	Mario	mrtvi	25.5.1981	Zagreb	Zagreb
0071	Vesna	Petar	Ziveti	29.10.1986		Kočevje
10000	Vesna	Petar	mrtvi	1.8.1982		Izvješće
11480	Zorica	Nikola	mrtvi	15.11.1984		Vukovar
11221	Zorka	Luka	mrtvi	28.2.1980		Vukovar-Domžale

Slika 3. Izgled hrvatskog registra za KML.

Register oboješih - KML

Vlasnik	Spoljni primatelj	Stanje u kojem živi	Demografske podatke	Gesprek	Ugovoreno
Vlasnik:	Ime:	Stanje u kojem živi:	Demografske podatke:	Gesprek:	Ugovoreno:
POZOR! Upute: Unos podataka je potreban za prezentaciju rezultata.					
Prisutstvo drugih bolesti					
<input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Da <input type="radio"/> Ne poznato Druge bolesti: <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Hemoroidi <input type="checkbox"/> Karboksikarburetni sindrom <input type="checkbox"/> Hipertenzija <input type="checkbox"/> Lipidemija <input type="checkbox"/> Aterosklerotični sindrom <input type="checkbox"/> Arterijska hipertenzija <input type="checkbox"/> Drugo 					
Ostali demografski podaci Status poljoprivrede: <input type="radio"/> Polj. <input checked="" type="radio"/> Ne <input type="radio"/> Ne poznato Operativni red: <input type="radio"/> Da <input checked="" type="radio"/> Ne <input type="radio"/> Ne poznato U pogledu na poljoprivredu: <input type="radio"/> Da <input checked="" type="radio"/> Ne <input type="radio"/> Ne poznato Bratice sestre: <input type="radio"/> Sestrice (sestre) <input checked="" type="radio"/> Bratice (bratovi) Šestostopnja: <input type="radio"/> Ne poznato <input checked="" type="radio"/> Ne poznato Radni status: <input type="radio"/> Ne poznato <input checked="" type="radio"/> Ne poznato					

Slika 4. Obrazac Značajke KML

Register oboješih - KML

Datum primjene:	01.11.2003	Datum primjene:	01.11.2003
Ugovoreno:	Ne poznato		
Citogenetski i molekularni nalaz			
Citogenetski program: <input type="radio"/> Molekularni program: <input type="radio"/> Uspjehnost rasta stanicne kulture: 20 sati: <input type="radio"/> Da <input checked="" type="radio"/> Ne 40 sati: <input type="radio"/> Da <input checked="" type="radio"/> Ne Ternera program: <input type="radio"/> Uspjeli <input checked="" type="radio"/> Ne Citogenetski rezultat: <input type="radio"/> Uspjeli Metaboličke: Bio-ekspresivnost metabolita: <input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Uspjeli Skizometabolita u prisustvu: <input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Uspjeli Nekromatoliticki indikatori: <input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Uspjeli Prostata: <input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Uspjeli Druga kromosomske promjene: <input type="radio"/> Da <input checked="" type="radio"/> Ne FISH analiza: <input type="radio"/> Uspjeli <input checked="" type="radio"/> Ne Haplizni program: <input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Uspjeli Brz pozitivni rezultat: <input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Uspjeli Proliferativni program: <input type="radio"/> Ne <input checked="" type="radio"/> Uspjeli Dodatna kromosomske promjene: <input type="radio"/> Da <input checked="" type="radio"/> Ne			

Slika 5. Obrazac Citogenetski i molekularni nalaz.

Registar oboljelih od multiplog mijeloma

Josip Batinić, dr. med.

E-pošta: batinic.josip@gmail.com

Zavod za hematologiju

Klinika za unutrašnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Registrar oboljelih od multiplog mijeloma i drugih poremećaja plazma stanica započeo je s aktivnim radom u listopadu 2008. godine, te je, uzevši u obzir početne tehničke nedostatke, početak rada registra bio poprilično dobar i obećavajući i u prvih mjesec dana u registar su upisani podaci za 71 bolesnika iz sedam centara. Od tada, registar je više puta bio predstavljan na različitim sastancima, uključujući i sastancima Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (Krohem), na kojima se izvještavalo o stanju u registru, raspravljalo se o eventualnim nedostatcima i načinima kako unaprijediti registar, a ujedno i motiviralo sudionike na aktivno sudjelovanje u izradi i popunjavanju registra. Takve aktivnosti su, polako, ali sigurno, imale uspjeha te je broj podataka u registru rastao i sada se u njemu nalazi već respektabilan broj upisanih bolesnika.

Na posljednjem predstavljanju registra na "Krohemu" u Splitu, u registar su uneseni podaci za ukupno 442 bolesnika, iz šesnaest centara od ukušno dvadeset, kako je prikazano u Tablici 1.

Tablica 1.

CENTAR	BROJ UPISANIH BOLESNIKA
KBC Zagreb	120
OB Koprivnica	41
KBC Split	39
KB Dubrava	35
KBC Osijek	33
OB Karlovac	28
OB Šibenik	27
KBC Rijeka	24
OB Varaždin	22
KB Merkur	20
OB Dubrovnik	16
KB "Sestre milosrdnice"	12
OB Slavonski Brod	10
OB Virovitica	10
OB Sisak	3
OB Zadar	2
KB Sveti Duh; OB Čakovec; OB Požega; OB Pula	0
UKUPNO	442

Iz navedenih podataka jasno je vidljivo da se broj upisanih bolesnika povećao najviše zahvaljujući aktivnom uključivanju sve više centara u registar; u većači su to učinila dva centra (Karlovac i Dubrovnik), a u svibnju tri (Virovitica, Sisak i Zadar); a manjim dijelom unosom podataka za novi broj bolesnika od svakog centra. Upravo je to naša sljedeća zadaća; motivirati i privoliti sami sebe da jednom kada počnemo upisivati podatke to nastavimo činiti i dalje, sustavno i redovito. Ne samo povećavati broj unesenih podataka tj. bolesnika u registru, već i ažurirati podatke za već upisane bolesnike, npr. jesu li transplantirani, započeli s novom linijom terapije, te na kraju krajeva jesu li živi. Samo tako će registar ispuniti svoju pravu funkciju, a to je da bude vrsta zdravstveno-epidemiološke baze podataka koja će svima služiti za epidemiološke, edukativne, znanstvene i druge ciljeve i potrebe. Nadamo se da će ovaj tekst doprinijeti kako točnijem i uspješnijem upisivanju podataka u registar, tako i zajedničkom rješavanju postojećih i budućih nedostataka, i motivirati centre koji još ne sudjeluju aktivno u registru da to i učine, odnosno centre koji već upisuju podatke da ispunjavaju gore navedene zadaće. Na kraju, podsjećamo Vas još jednom na internetsku stranicu na kojoj se nalazi registar, www.mijelom.net, i na adresu elektroničke pošte na koji možete slati svoje prijedloge i pitanja vezane uz registar (podrska@mijelom.net).

Osam dana Hodgkinovog limfoma: (neobičan) prikaz slučaja

Prof. dr. sc. Mladen Petrovečki, dr. med.

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Kliničke bolnice Dubrava u Zagrebu i Katedra za medicinsku informatiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci
E-pošta: mladenp@kbd.hr

Prikaz je mogao biti započet i zgotovljen kao jedan u nizu prikaza slučajeva, tek ovaj osobit po nekoj posebnosti ili neobičnosti koja do sada nije zamijećena, viđena, opisana, opažena. I onda bismo uvodnim slovima saznali da je bolesnik muškarac u dobi od 39 godina, dobre tjelesne kondicije, a u siječnju 2008. se javlja u bolnicu s izraženim znakovima vrlo jake prehlade koja uz kašalj traje već peti dan, s temperaturom od 38 °C, blijed, znojan, već iscrpljen. Laboratorijski nalazi iskazuju povećane vrijednosti serumskih znakova akutne upale, a rutinska radiološka snimka srca i pluća pokazuje nazočnost mediastinalne solidne tvorbe promjera oko 10 cm, nakon čega se bolesnik hospitalizira u Kliničkom bolničkom centru Rijeka radi liječenja akutne upale i desne torakotomije s biopsijom tkiva tumora radi određivanja dijagnoze. I koji dan potom tumor se prepoznaže kao Hodgkinov limfom tipa nodularne skleroze smješten u timusu, po čemu slijedi hospitalizacija bolesnika u Bolnici Merkur u Zagrebu gdje određivanjem stadija II B započinje polikemoterapija... Ali ovo nije takav prikaz, ovo je doživljaj kako ga vidi treći u priči, ni onaj koga boli ni onaj koji bol liječi, netko sa strane, točnije – ona, koja sluša, vidi, čuje, pa osjeća kao da nju samu boli, a sve to ne iskaže ni riječima ni pokretom nego – kistom.



Slika 1. Spoznaja (akril na papiru, 53x50 cm)

Spoznaja (Slika 1.) nastaje u trenutku kako većina spoznaja nastaje, kada ih najmanje očekujemo ili ih, kao ovu i njoj slične ne očekujemo uopće i uopće ih ne želimo. Ali one dođu, telefonskim pozivom ili nenajavljenom posjetom, uvjek nekako dođu, uđu, banu i budu napisane ili izrečene.

Nije dobro, samo se to spoznaje kako nije dobro, pa se bijelo iz neke nevidljive tintarnice razlike uokvireno i oštrim rubovima po crnom papiru, kao svjetlost koja se lomi o nevidljive prepreke, a sve obrnuto od trenutka koji se živi, bijelo na crnom u svijetu koji je u trenu izgubio sve druge razloge i boje.



Slika 2. Plašt (akril na papiru, 37x30 cm)

Neizvjesnost je golema i pretače se u strepnju i strah, sekunde se pretvaraju u minute, sati u dane i vrijeme se isteže, treba se povući ili pobjeći, treba zaogrnuti Plašt (Slika 2.) da se sačuva ono malo sebe što se još ima, treba pomoći i štograd dobrog učiniti, a nitko ne traži i ne zna... Ali tko je unutar toga plašta koji se nacrtao potezima zaplakane ruke, onaj koga boli jer ga treba zaogrnuti, ona koja gleda sa strane i strepi ili neka nevidljiva prilika koja dolazi i zastrašuje, spoznaja sama, kao kazna? Odnekuda se iz kista probiju tragovi žute boje, tek naznačeni ali ostave traga, bit će dobro, mora biti dobro, kako drugčije misliti nego da će biti dobro. Što li će razotkriti torakotomija?



Slika 3. Bolest (akril na platnu, 140x110 cm)

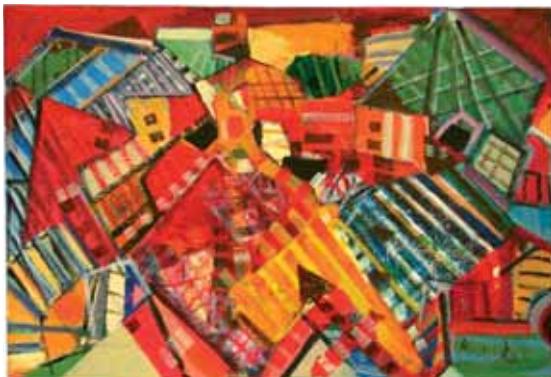
A onda se otkriva, Bolest (Slika 3.), sama se, zastrašuju-

će zlom, iskazuje teškim ljubičastim trokutima, kvadratima i trapezoidnim ploštinama sivim i izravnanim do oblačnosti neba koje neće prestati kišiti i koje tek što u potpunosti nije prekrilo šarenilo bitka. Miješa se nerazumljivo stapanje boja, rubova, ravnina i slojeva s nerazumijevanjem stvarnosti priče u kojoj dijelovi timusnoga tkiva sa cističnim prostorima obloženim epitelom bivaju oduzeti tumorskim nodulima u kojima zasjedaju orijaške stanice. Bolest. Ali bolest ne znači kraj, treba se boriti, prepreke su za to da budu svladane, da pokažu kako možemo i više kad zatreba. Oni koji liječe znaju, dozivaju ono što je opasnije i od bolesti same, i ukroćeno. Kemoterapija (Slika 4.), neman s četiri glave (adriablastin, bleomicin, vinblastin i dacarbazine,



Slika 4. Kemoterapija (akril na papiru, 70x100 cm)

kako neobično i umirujuće zvuče pročitane na glas) razara u šest napada, mjesecima se pjeni bojno polje. A misao se na platnu iscrtava plavom, tonu i površine koja je hladna, sažeta, zgusnuta, otrovna, usmjerena, mučna i neizbjegnja, netko pati, boli ga, bori se, ne zna kamo to vodi i što se događa, ali važno je – bori se, šarenilo leptirastih krila postrance leprša lakoćom koja mora doći. Kontrolni pregledi ne pokazuju znakove uvećanih limfnih čvorova, uspjeh, no zbog veličine početne tvorbe ordinira se i zračenje, mediastinum i desni hilus TD 36 Gy u 18 frakcija, desna akcila, infraklavikularno i supraklavikularno desno TD 60 Gy, brojke, oznake i kratice nejasne svima osim onima koji znaju i liječe, i čekanje svih ostalih puno strahopštovanja. Uistinu, nezamislivo plavo.



Slika 5. Dušobrižnici (akril na papiru, 70x100 cm)

A uz bolest i Dušobrižnici (Slika 5), oni kojih se treba

čuvati, opasno se pojave niotkuda a da ih se ništa ne pita i ne traži, dijele savjete, sve znaju i razumije više od drugih, imaju iskustva, znaju brojne primjere gdje je bolje i što i kako treba, nije sve zapisano samo u učenim knjigama onih koji liječe, mnogo je toga, ako ne i više izvan razumljivoga i objašnjenoga, mnoge sile ne poznajemo i mnogo još tvari nismo raščlanili, nije sve u hipotezama i dokazima, treba još toga činiti, još ljudi pitati, mudraca, šamana i vračeva, bioenergetičara, rukopolagača i travara. Vuku lažni dušobrižnici svaki na svoju stranu i varaju u svom neznanju pokazujući u svim smjerovima, remete ono malo posložena mira i prave nered, ometaju onoga kojeg boli na njegovu putu koji je ionako uzak, težak i strm, a s njima još strmiji i bolniji.



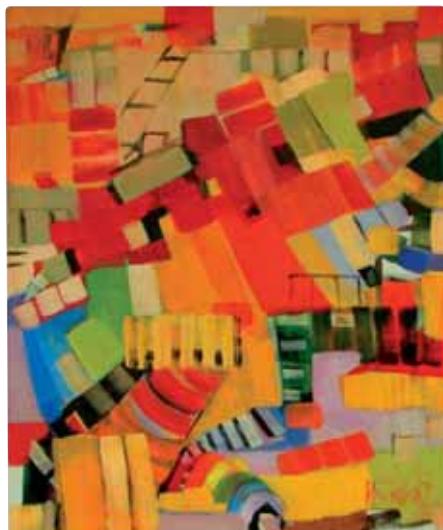
Slika 6. Kraj liječenja (akril na platnu, 140x110 cm)

Ali Kraj liječenja (Slika 6.) se dostiže, o vidi toga drukčjega šarenila, probija se prštavo i s novim snagama onaj koga sve manje boli kroz kvadrate bolesti koji gube jakost i prestaju biti sivi i ljubičasti, probija se glavom i rukama i nogama, svaka svoj dio stvarnosti osvaja, oporavljuje se i slika i život u novom crvenilu i istiranosti ploha, pokretna, slojeva i likova. Kolebanja i nada (Slika 7.) u završnom



Slika 7. Kolebanje i nada (akril na papiru, 52x62 cm)

obračunu, razmiču se sve lošije i krhkije prepreke nesigurnosti, pitanja, sumnji i kolebanja, a probija se nada, polako, sigurno, u malim usporednim ploštinama koji se slažu poput palisada, gradi se život kao iznova, pun snage, početka. Svi pregledi urednih nalaza, kontrolni PET-CT potvrđuje punu remisiju, daljnje liječenje nije potrebno, neki novi svijet biva iznova otkriven i probija se na površinu, točno pred naše oči u Osmi dan (Slika 8.), pedesetosmi dan



8. Ozdravljenje (akril na platnu, 73x90 cm)

ili četiristodvadesetosmi dan slikanja i postojanja, vrijeme više nije važno, vatromet čistih boja bez rubova navire pre-

ko šarenog tunela kojim se izlazi na svjetlost i kupa se u njoj (kao da je prije nije ni bilo), pa ne zna čovjek što bi od dragosti i miline, pjevao i svirao i vikao, ili samo plesao jer može plesati, igrao nogomet u starim, zamalo odbačenim ošarenjenim nogometnim čarapama, trčao bos na posao i s posla doma na malo odmora, pa još s više obojene snage natrag, toliko putova pred nama da više ne znamo kojeg odabrat, samo ih treba ugledati, omirisati, treba otvoriti oči, samo to...

I sve to je naslikala jedna Marinka crtanjem vlastitih osjećaja, strahova, grčeva, pitanja, nejasnoća, intime, strepnji, kolebanja, sumnji i nada, slikarica i umirovljena radio-loška tehničarka rođena u Rijeci 1946. Gospođa Marinka Premuš članica je Hrvatskog društva likovnih umjetnika. Kako su drugi o njoj izrekli i zapisali, život prikazuje upravo onakvim kakav on jest u svojoj istinskoj biti, slikajući ga akrilom i uljem na platnu ili papiru svake veličina i oblika, pretvarajući misli i osjećaje u slike lakoćom kojom samo rijetki stvarnost mogu pretvarati u umjetnost. Zato ovaj prikaz slučaja i jest neobičan. Sasvim neobičan.

Napomena. Podatci su pribavljeni i objavljeni u suglasnosti s liječnicom bolesnika, dr. sc. Slobodankom Ostojić. Podatke za prikaz uredila je dr. sc. Lidija Bilić-Zulle, slike je izradila gospođa Marinka Premuš, a slike u visokoj rezoluciji fotografirao je gospodin Tomislav Smolčić.



