

19. Matheson A. The ICMJE Recommendations and pharmaceutical marketing – strengths, weaknesses and the unsolved problem of attribution in publication ethics. *BMC Medical Ethics* 2016 Apr 4;17:20. doi: 10.1186/s12910-016-0103-7.
20. Gasparyan AY, Ayyavazyan L, Gorin SV, Kitas GD. Upgrading instructions for authors of scholarly journals. *CMJ* 2014;55:271–80.
21. Schriger DL, Arora S, Altman DG. The content of medical journal instructions for authors. *Ann Emerg Med* 2006;48:743–9.
22. Stojanovski J. Do Croatian open access journals support ethical research? Content analysis of instructions to authors. *Biochem Med* 2015;25:12–21.
23. Hrčak: portal znanstvenih časopisa Republike Hrvatske [Internet]. Zagreb: SRCE; 2016. Dostupno na: <http://hrca.srce.hr/>. Datum pristupa: 27. 12. 2016.
24. Ministarstvo znanosti i obrazovanja Republike Hrvatske. Kriteriji za financijsku potporu znanstvenim časopisima i časopisima za popularizaciju znanosti (od 16. svibnja 2016.). Zagreb: MZO RH; 2016. Dostupno na: <http://public.mzos.hr/Default.aspx?sec=3804>. Datum pristupa: 12. 1. 2017.
25. *Directory of Open Access Journals* [Internet]. 2016. Dostupno na: <https://doaj.org/>. Datum pristupa: 12. 12. 2016.
26. *Sherpa/Romeo: Publisher copyright policies & self-archiving* [Internet]. Nottingham: University of Nottingham; 2016. Dostupno na: <http://www.sherpa.ac.uk/romeo/index.php?la=en&fIDnum=&mode=simple>. Datum pristupa: 12. 12. 2016.
27. DOAJ. DOAJ to remove approximately 3300 journals. Posted on 09.05.2016. Dostupno na: <https://blog.doaj.org/2016/05/09/doaj-to-remove-approximately-3300-journals/>. Datum pristupa: 6. 7. 2017.
28. *International Committee of Medical Journal Editors*. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *N Engl J Med* 1997;336:309–16.
29. *International Committee of Medical Journal Editors*. Journals following the ICMJE recommendations. 2016. Dostupno na: <http://www.icmje.org/journals-following-the-icmje-recommendations/>. Datum pristupa: 15. 12. 2016.
30. *American Psychological Association*. Publication Manual of the American Psychological Association. 5. izd. Washington: American Psychological Association; 2001.
31. Kilkenny C, Brown WJ, Cuthill IC, Emerson M, Altman DG. Improving bioscience research reporting: The ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS Biol* 2010;8(6):e1000412. doi: 10.1371/journal.pbio.1000412.
32. *Creative Commons*. About the licences. Dostupno na: <https://creativecommons.org/licenses/>. Datum pristupa: 25. 1. 2017.
33. Wager L. Do medical journals provide clear and consistent guidelines on authorship? *MedGenMed* 2007;9:16.
34. Rosenberg J, Bauchner H, Backus J i sur. The new ICMJE recommendations. *Dan Med J* 2013;60:1–2.
35. Igi R. Conflicting interests involved in the process of publishing in biomedical journals. *J BOUN* 2015;20:1373–7.
36. *International Committee of Medical Journal Editors*. ICMJE form for disclosure of potential conflicts of interest. 2016. Dostupno na: <http://icmje.org/conflicts-of-interest/>. Datum pristupa: 25. 1. 2017.
37. *ClinicalTrials.gov* [Internet]. 2017. Dostupno na: <https://clinicaltrials.gov/>. Datum pristupa: 10. 7. 2017.
38. Stojanovski J. Pohrana radova u OA repozitorij i autorska prava. Dostupno na: <https://lib.irb.hr/web/vijesti/item/1924-open-access-repository-author-rights/1924-open-access-repository-author-rights.html?lang=hr&tmpl=component&type=raw>. Datum pristupa: 7. 7. 2017.
39. Hebrang Grgić I. Citatna prednost znanstvenih radova objavljenih u otvorenom pristupu. U: Lasić Lazić J, ur. Informacijska tehnologija u obrazovanju. Zagreb: Zavod za informacijske studije Odsjeka za informacijske i komunikacijske znanosti Filozofskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu; 2014, str. 155–169.
40. Barić H, Polšek D, Andrijašević L, Gajović S. Open access – is this the future of medical publishing? *Croat Med J* 2013;54:315–8.
41. *Hrvatski sabor*. Strategija obrazovanja, znanosti i tehnologije. Narodne novine 2014;124:2364.
42. Mašić I, Begić E, Donev DM i sur. Sarajevo Declaration on integrity and visibility of scholarly publications. *Croat Med J* 2016;57:527–9.

FLUDARABIN, CIKLOFOSFAMID I RITUKSIMAB (FCR) U LIJEČENJU BOLESNIKA S KRONIČNOM LIMFOCITNOM LEUKEMIJOM (KLL): ISKUSTVO KLINIČKOGA BOLNIČKOG CENTRA ZAGREB

FLUDARABINE, CYCLOPHOSPHAMIDE AND RITUXIMAB (FCR) IN THE TREATMENT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA (CLL): UNIVERSITY HOSPITAL CENTRE ZAGREB EXPERIENCE

IVAN KREČAK, SANDRA BAŠIĆ-KINDA, DINO DUJMOVIĆ, IDA HUDE, IVO RADMAN-LIVAJA,
KLARA DUBRAVČIĆ, KORALJKA GJADROV KUVEŽDIĆ, IVANA ILIĆ, IGOR AURER*

Deskriptori: Kronična limfocitna leukemija – farmakoterapija, komplikacije; Vidarabin – analozi i derivati, način uporabe i doziranje, nuspojave, terapijska primjena; Ciklofosfamid – način uporabe i doziranje, nuspojave, terapijska primjena; Rituksimab – način uporabe i doziranje, nuspojave, terapijska primjena; Protutumorski lijekovi – način uporabe i doziranje, nuspojave, terapijska primjena; Kombinirani protutumorski kemoterapijski protokoli – način uporabe i doziranje, nuspojave, terapijska primjena; Ishod liječenja; Indukcija remisije; Preživljenje bez progresije bolesti

Sažetak. U kliničkim je studijama kombinacija fludarabina, ciklofosfamida i rituksimaba (FCR) pokazala odlične rezultate u liječenju bolesnika s kroničnom limfocitnom leukemijom (KLL) i postala zlatni standard u prvoj liniji liječenja takvih

* Odjel interne medicine, OB Šibensko-kninske županije (Ivan Krečak, dr. med.), Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb (prim. Sandra Bašić-Kinda, dr. med.; dr. sc. Dino Dujmović, dr. med.; Ida Hude, dr. med.; prim. Ivo Radman-Livaja, dr. med.; prof. dr. sc. prim. Igor Aurer, dr. med.), Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinička jedinica za staničnu imunodijagnostiku i postupke *in vitro*, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb (Klara Dubravčić, mag. med. bio-

kem.), Klinički zavod za patologiju i citologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb (dr. sc. Koraljka Gjadrov Kuveždić, dr. med.; dr. sc. Ivana Ilić, dr. med.)

Adresa za dopisivanje: Dr. I. Krečak, Odjel interne medicine, Opća bolnica Šibensko-kninske županije, Stjepana Radića 83, 22000 Šibenik; e-mail: kreckak.ivan@gmail.com

Primljeno 13. veljače 2017., prihvaćeno 24. srpnja 2017.

bolesnika bez znatnijih komorbiditeta. Cilj rada bio je ispitati terapijsku djelotvornost, toksičnost i provedivost ovog protokola u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Retrospektivno su analizirani tijek i ishodi liječenja 43-oje bolesnika s KLL-om sa Zavoda za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkoga bolničkog centra Zagreb. Shema primjene rituksimaba razlikovala se od one u kliničkim studijama; primjenjivan je infuzijski u dozi od 375 mg/m² u svim ciklusima, u ukupno osam doza u prvoj, odnosno šest u kasnijim linijama liječenja. Na liječenje je odgovorilo 95% bolesnika, a 83% postignulo je kompletnu remisiju. Trogodišnje preživljenje i preživljenje bez progresije bolesti u prvoj liniji liječenja (29 bolesnika) bilo je 90 i 80%, a u kasnijim linijama 86 i 62%. Teške neutropenije zabilježene su u 46% bolesnika, a teške infekcije u 9% bolesnika. Ishodi liječenja i toksični profil u svakodnevnom kliničkom radu usporedivi su s onima iz kliničkih studija.

Descriptors: Leukemia, lymphocytic, chronic, B-cell – complications, drug therapy; Vidarabine – administration and dosage, adverse effects, analogs and derivatives, therapeutic use; Cyclophosphamide – administration and dosage, adverse effects, therapeutic use; Rituximab – administration and dosage, adverse effects, therapeutic use; Antineoplastic agents – administration and dosage, adverse effects, therapeutic use; Antineoplastic combined chemotherapy protocols – administration and dosage, adverse effects, therapeutic use; Treatment outcome; Remission induction; Disease-free survival

Summary. In clinical trials the combination of fludarabine, cyclophosphamide and rituximab (FCR) demonstrated superior results and became the gold standard for first-line treatment of fit patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). The aim of this study was to evaluate the efficacy, toxicity and feasibility of this protocol in everyday clinical practice. We retrospectively analyzed the outcomes of 43 CLL patients treated at the Division of Haematology, Department of Internal Medicine, University Hospital Centre Zagreb. The dosing of rituximab differed from that in clinical trials, we administered 375mg/m² of rituximab per cycle, in previously untreated patients for eight and in relapsed/refractory patients for six cycles. The response rate was 95% with 83% of complete remissions. Twenty-nine patients received FCR as a front-line therapy; three-year overall and progression-free survival were 90% and 80%, respectively. In relapsed/refractory disease three-year overall and progression-free survival were 86% and 62%, respectively. Severe neutropenias occurred in 46% and serious infections in 9% of patients. According to these results, the toxicity profile and treatment outcomes in everyday routine clinical practice are similar to those reported in clinical trials.

Liječ Vjesn 2017;139:210–215

Kronična limfocitna leukemija (KLL) najčešća je vrsta leukemije u Bijelaca, a incidencija se procjenjuje na nešto više od 4 na 100.000 stanovnika.¹ To je tipično bolest starije dobi s medijanom pojavljivanja od 65 do 70 godina, no sve je više mlađih bolesnika.^{2–4} Poznati nepovoljni prognostički čimbenici jesu: starija životna dob,^{5,6} muški spol,^{5,7} uznapredovali klinički stadij (Raiev 3 – 4 i Binetov C),^{8,9} velika totalna tumorska masa (TTM) ≥ 9 ,¹⁰ prisutnost genetske greške del 17p (mutacija *p53*),^{11–14} povišena serumska vrijednost β_2 -mikroglobulina,^{15,16} nemutiranost IgVH-gena (engl. *Immunoglobulin Variable Heavy Chain*)^{17–19} te visoki izražaji aktivacijskog biljega CD38 i signalne molekule ZAP-70 na klonskim limfocitima.^{20–26} Liječenje KLL-a znatno je napredovalo posljednjih nekoliko godina. Više od nekoliko desetljeća bolesnici su liječeni uglavnom alkilirajućim agensima, poglavito monoterapijom klorambucilom.²⁷ Pravi napredak u liječenju javlja se uvođenjem purinskih analoga, ponajprije fludarabina^{28–30} u kombinaciji s ciklofosamidom (FC)³¹ i rituksimabom (FCR). FCR je prvo evaluiran u dvije studije autora iz MD Anderson Cancer Centra i pokazao se iznimno aktivnom kombinacijom u liječenju bolesnika s KLL-om. Na terapiju je odgovorilo 95% prethodno neliječenih bolesnika sa 77% kompletnih remisija (KR). Nakon medijana praćenja od 6 godina ukupno preživljenje (OS) bilo je 77%, a preživljenje bez progresije bolesti (PFS) 51%. U skupini prethodno liječenih bolesnika ukupan je odgovor bio 73%, a KR je postignulo 25% bolesnika.^{32–34} Njemačka studijska grupa u randomiziranoj je studiji CLL8 pokazala da bolesnici liječeni FCR-om imaju znatno veću stopu KR-a te bolje OS i PFS nego oni liječeni FC-om.³⁵

FCR je toksičan, dovodi poglavito do mijelosupresije i visoke incidencije infekcija, a potencijalni rizik jest i razvoj sekundarnih zloćudnih tumora. U studiji CLL8 incidencija sekundarnih tumora nakon medijana praćenja od tri godine bila je 9,9%.³⁵ Bolesnici liječeni FCR-om imaju višu stopu

razvoja sekundarne akutne mijeloične leukemije/mijelodisplastičnog sindroma (5,1%) i Richterove transformacije (RT) (9%).³⁶

Izvan kliničkih studija liječenje FCR-om zbog navedenih je razloga često kompromitirano slabijom suradljivošću bolesnika i liječničkom sklonošću da se snizi doza ili prekine liječenje. Cilj našeg rada bio je ispitati terapijsku djelotvornost, toksičnost i provedivost protokola u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Bolesnici i metode

Bolesnici

Retrospektivno su identificirana 43 bolesnika koja su započela liječenje FCR-om u razdoblju između kolovoza 2007. i rujna 2015. u KBC-u Zagreb. Za 29 bolesnika to je bila prva linija liječenja, 14 ih je primalo FCR u drugoj ili kasnijim linijama liječenja. Značajke bolesnika, indikacije za liječenje, stadij bolesti, citogenetički profil i ranije linije liječenja prikazani su na tablici 1.

Dijagnoza

Dijagnoza KLL-a postavljena je sukladno smjernicama Međunarodne skupine za kroničnu limfocitnu leukemiju (engl. *The International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia – IWCLL*)³⁷ iz 2008.: broj limfocita u perifernoj krvi veći od $5 \times 10^9/L$, citomorfologija odgovara zrelim limfocitima bez vidljive jezgice, imunofenotipizacijom pozitivnost na jedan ili više B-staničnih biljega (CD19, CD20 i CD23), uz koekspresiju biljega CD5 i restrikciju lakih lanaca Ig (kappa/lambda), a prolimfociti čine manje od 55% limfocita ili manje od $15 \times 10^9/L$. Trajanje limfocitoze nije bilo kriterij, ali je morala biti kronična.

Liječenje

Indikacije za početak liječenja naših bolesnika bile su u skladu sa smjernicama IWCLL-a:³⁷ anemija (Hgb < 110

Tablica 1. *Kliničke karakteristike bolesnika liječenih FCR-om*
 Table 1. *Clinical characteristics of patients treated with FCR*

| | |
|--|---------------------|
| Broj bolesnika / Number of pts | 43 |
| Spol M/Ž / Sex M/F | 31/12 |
| Prva linija liječenja/Kasnije linije liječenja / Front-line therapy/Later lines of therapy | 29/14 |
| Dob pri početku liječenja (god.)/medijan (raspon) / Age at the time of treatment (year)/median (range) | 60 (32 – 71) |
| Citogenetički profil (del 13, del 11, tris 12, del 17p, normal, complex, n/a) / Cytogenetic profile (del 13, del 11, tris 12, del 17p, normal, complex, n/a) | 8/4/3/4/6/1/15 |
| Trajanje bolesti od dijagnoze do početka liječenja (mj.)/medijan (raspon) / Disease duration from diagnosis to treatment (mo)/median (range) | 30 (1 – 183) |
| <i>Stadij bolesti / Disease stage</i> | |
| Raiev (1/2/3/4), Binetov (A/B/C) | 4/19/10/10, 2/20/21 |
| <i>Prethodna terapija / Previous therapy</i> | |
| Rituksimab + klorambucil / Rituximab + chlorambucil | 6 |
| Klorambucil / Chlorambucil | 5 |
| Fludarabin + ciklofosfamid / Fludarabine + cyclophosphamide | 2 |
| R-CVP (rituksimab, vinkristin, ciklofosfamid, prednizon) / R-CVP (rituximab, vincristine, cyclophosphamide, prednisone) | 1 |
| <i>Indikacije za liječenje / Indications for treatment</i> | |
| Progresija limfocitoze / Progression of lymphocytosis | 43 |
| Supresija hematopoeze / Suppression of haematopoiesis | 18 |
| Velika tumorska masa (TTM \geq 9) / Large tumor burden (TTM \geq 9) | 16 |
| B-simptomi / B-symptoms | 6 |
| Autoimunosni fenomeni / Autoimmune phenomena (AIHA; ITP; Evansov sindrom/Sy Evans) | 3 |
| Više od jednog razloga za liječenje / More than one indication for treatment | 31 |

* n/a = nije učinjeno; n/a = not available

g/L), trombocitopenija ($< 100 \times 10^9/L$), limfadenopatija (> 10 cm), rastuća i/ili bolna splenomegalija (> 6 cm pod lijevim rebrenim lukom), progresija bolesti (progresivna anemija, trombocitopenija, stupanj splenomegalije i/ili limfadenopatije ili brzo udvostručenje totalne tumorske mase (TTM)), slabo kontrolirana autoimunosna hemolitička anemija (AIHA) ili imunotrombocitopenija (ITP), konstitucijski simptomi, udvostručenje broja limfocita za manje od 6 mjeseci ili porast od 50% ili više u dvomjesečnom razdoblju.

FCR se sastojao od fludarabina u dozi od $25 \text{ mg/m}^2/\text{dan}$ i ciklofosfamida u dozi od $250 \text{ mg/m}^2/\text{dan}$ u infuziji od 1. do 3. dana ciklusa te rituksimaba u dozi od 375 mg/m^2 u infuziji, obično 1. dana. Zbog velikog broja limfocita ili iz tehničkih razloga prva je doza rituksimaba u nekih bolesnika bila odgođena.

Ciklusi su ponavljani svaka 4 tjedna, primjenjivano je ukupno 6 ciklusa FC-a i 8 ciklusa rituksimaba u prvoj, odnosno 6 doza u kasnijim linijama liječenja. Svi bolesnici primali su profilaktički aciklovir i kotrimoksazol. Primarna profilaksa G-CSF-om primjenjivana je nesustavno, prema ordinarijusovoj procjeni.

Promatrani ishodi

Analizirani su: ukupan odgovor na liječenje (OR), stope odgovora (KR, parcijalna remisija (PR), stabilna bolest

(SB), progresivna bolest (PB)), OS, PFS i postizanje eradicacije minimalne rezidualne bolesti (MRD). Analizirani su i toksičnost liječenja, pojavnost sekundarnih tumora, kao i utjecaj nekih prognostičkih čimbenika na ishod liječenja. Toksičnost je gradirana prema CTCAE v4.0 (engl. *Common Terminology Criteria for Adverse Events*).³⁸ Teškim nuspojavama smatrali smo one 3. i 4. stupnja.

Odgovor na liječenje

Odgovor na liječenje definiran je prema IWCLL-u.³⁶ KR je definiran kao potpuna rezolucija limfadenopatije, hepatomegalije, splenomegalije i konstitucijskih simptoma, normalizacija krvnih nalaza (neutrofil $> 1,5 \times 10^9/L$, trombociti $> 100 \times 10^9/L$, limfociti $< 4 \times 10^9/L$) i normalizacija citološkog nalaza koštane srži ($< 30\%$ limfocita). PR je definiran kao prijelaz s Binetova stadija C na stadij A i B ili stadija B na stadij A ili kao više nego 50%-tno smanjenje apsolutnog broja limfocita, stupnja limfadenopatije, hepatomegalije ili splenomegalije uz broj neutrofila $> 1,5 \times 10^9/L$, broj trombocita $> 100 \times 10^9/L$ i koncentraciju hemoglobina $> 110 \text{ g/L}$. SB je definiran kao neuspjeh u postizanju KR-a i PR-a, ali bez znakova progresije bolesti. Negativnost MRD-a definirana kao $< 1\% \text{ CD5} + \text{CD19} + \text{CD23} + \text{kappa}/\text{lambda} + \text{stanica}$ u koštanoj srži ispitana je u 29 bolesnika protočnom citometrijom.

Prognostički čimbenici

Analiziran je utjecaj ovih, potencijalno nepovoljnih prognostičkih čimbenika: dob pri početku liječenja ≥ 65 godina, muški spol, visoki klinički stadij (Raiev 3 i 4, Binetov C), TTM ≥ 9 , prisutnost del 17p (mutacije *p53*), povišene serumske razine β_2 -mikroglobulina ($> 2,5 \text{ mg/L}$) i LDH ($> 240 \text{ IU/L}$), izražaj CD38 $\geq 30\%$ i izražaj ZAP-70 $\geq 20\%$.

Statistička analiza

Dob bolesnika, vrijeme praćenja, simptomi, stadij bolesti, indikacije za liječenje, citogenetički profil, prethodne metode liječenja i toksičnost liječenja prikazani su deskriptivnom statistikom. Trajanje najboljeg odgovora i preživljenja bolesnika prikazani su Kaplan-Meierovom metodom. Za usporedbu preživljenja između pojedinih skupina upotrijebljen je log-rank-test. Za usporedbu značajki bolesnika rabljen je χ^2 -test.

Rezultati

Medijan praćenja svih bolesnika bio je 41 mjesec (4 – 97), u prvoj liniji liječenja 41 (11 – 97), a u kasnijima 40 (4 – 82). Medijan broja primijenjenih ciklusa bio je 6 (2 – 6).

Učinkovitost

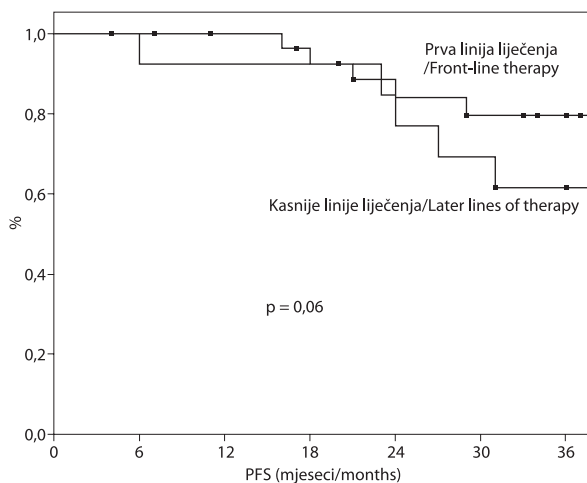
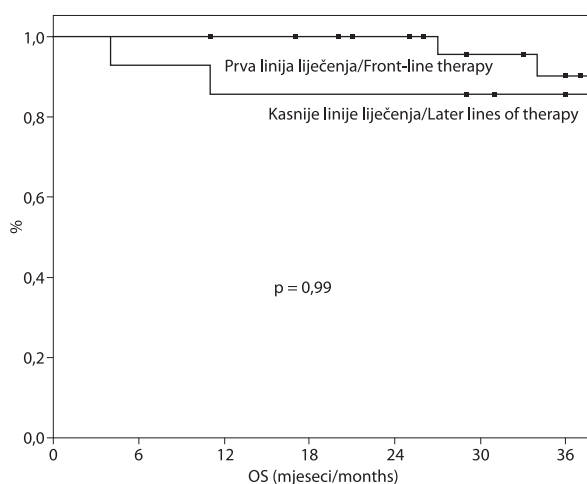
Od 42 bolesnika koji su završili liječenje na terapiju je odgovorilo 95%, KR je postiglo 83% bolesnika, PR 12%, a SB 5%. Nijednom bolesniku bolest nije progredirala tijekom liječenja, a jedna je bolesnica preminula nakon drugog ciklusa terapije. Kod 23 bolesnika u KR-u te 4 bolesnika u PR-u bez limfocitoze ili infiltracije srži evaluirali smo nakon završenoga sustavnog liječenja MRD. Ukupno je 18 onih u KR-u (78%) (9 od 14 testiranih u prvoj i 9 od 9 testiranih u kasnijim linijama liječenja) i 2 u PR-u (50%) (po 1 od 2 testirana u prvoj i kasnijim linijama liječenja) postignulo negativnost MRD-a. Bolesnici liječeni u prvoj liniji postizali su češće KR, no ova razlika nije bila statistički značajna ($p = 0,601$). Odgovor na liječenje sumarno je prikazan na tablici 2.

Tablica – Table 2. *Odgovor na liječenje / Treatment response*

| | Prva linija liječenja / Front-line therapy | Kasnije linije liječenja / Later lines of therapy | Ukupno / Total |
|---|--|---|----------------|
| KR / CR | 25 (86%) | 10 (71%) | 35 (83%) |
| od toga MRD-neg. / of these MRD neg. | 9/14 (64%) | 9/9 (100%) | 18/23 (78%) |
| PR | 3 (10%) | 2 (14%) | 5 (12%) |
| od toga MRD-neg. / of these MRD neg. | 1/2 (50%) | 1/2 (50%) | 2/4 (50%) |
| SB / SD | 1 (3%) | 1 (7%) | 2 (5%) |
| Umrli tijekom liječenja / Died during treatment | 0 | 1 (7%) | 1 (2%) |

Ni u jednog bolesnika bolest nije progredirala tijekom liječenja / There was no disease progression during treatment

MRD je raden u bolesnika s PR-om koji nisu imali limfocitozu niti infiltraciju srži / MRD was assessed in patients with PR without lymphocytosis or bone marrow infiltration

Slika 1. *Preživljenje bez progresije bolesti kod bolesnika liječenih FCR-om*Figure 1. *Progression-free survival in patients treated with FCR*Slika 2. *Ukupno preživljenje bolesnika liječenih FCR-om*Figure 2. *Overall survival in patients treated with FCR*

U dvadeset i pet bolesnika (58%) bolest nije progredirala tijekom praćenja. Medijani PFS-a za 1. i kasnije linije liječenja bili su 61 (48 – 74) i 49 mjeseci (23 – 75), a trogodišnji PFS 80% i 62% (slika 1.). Tijekom praćenja umrlo je 8 bolesnika (6 u prvoj i 2 u kasnijim linijama liječenja). Medijan preživljenja je 97 mjeseci, trogodišnji OS u prvoj liniji 90%, a u kasnijima 86% (slika 2.).

Toksičnost liječenja

Trideset tri bolesnika (77%) primila su svu predviđenu terapiju, dok je kod 10 (23%) morala biti prekinuta. Razlozi za to bili su teške neutropenije (šest bolesnika), teške infekcije (tri bolesnika) i pojava sekundarnog tumora (jedna bolesnica). Četvero bolesnika nastavilo je liječenje samo rituksimabom. Ciklusi su odgađani kod 20 bolesnika (47%), zbog neutropenije u 17 (40%), a kod tri (7%) zbog infekcije. Doza lijekova reducirana je u dva bolesnika.

U 58% ciklusa primijenjena je potpora G-CSF-om. Teška neutropenija javila se u 20 bolesnika (47%), a teška anemija i trombocitopenija u po pet bolesnika (12%). Osam (19%) imalo je blaže infekcije koje su liječene ambulantno, a četiri (9%), od toga dva s teškom neutropenijom, teške zbog kojih su hospitalizirani. Većina bolesnika (65%) s teškom neutropenijom nije imala infekcije. Deset bolesnika (23%) podnijelo je terapiju bez ikakvih nuspojava. Jedna bolesnica u dugotrajnoj pancitopeniji preminula je u snu nakon drugog ciklusa terapije, a prema odluci obitelji nije obducirana.

Sekundarni tumori

Sekundarni zloćudni tumori javili su se u 9 bolesnika (21%). Richterova transformacija u difuzni B-velikostanični limfom javila se kod četiri bolesnika, jednu, dvije (dva bolesnika) i četiri godine nakon završetka liječenja. Od solidnih zloćudnih tumora dijagnosticirani su karcinom mokraćnog mjehura, lokalizirani melanom kože, planocelularni karcinom kože i adenokarcinom debelog crijeva (Duke-ov stadij C). Jednom bolesniku dijagnosticiran je bazoceleularni karcinom kože lica, a nekoliko godina kasnije i slabo diferencirani metastatski karcinom limfnog čvora vrata bez poznatoga primarnog sijela. Nije bilo statistički značajne razlike u pojavnosti sekundarnih tumora ovisno o liniji liječenja ($p = 0,955$).

Prognostički čimbenici

Žene su preživljavale duže (96% : 68%; $p = 0,013$), no nije bilo razlike u PFS-u i stopi KR-a. Bolesnici s nižim Raievim kliničkim stadijem (0 – 2) imali su bolji PFS i OS u odnosu prema onima s višim stadijem ($p = 0,004$ i $p = 0,042$). Bolesnici s nižim Binetovim kliničkim stadijem (A i B) imali su bolji PFS nego oni s višim stadijem (C) ($p = 0,04$), no bez razlike u OS-u. Jednake stope KR-a postignute su neovisno o Raievu i Binetovu kliničkom stadiju. TTM, ZAP-70, CD38, β_2 -mikroglobulin i LDH u naših bolesnika nisu pokazali utjecaj na ishode liječenja. Utjecaj prognostičkih čimbenika na ishode liječenja sumarno je prikazan na tablici 3.

Četiri su bolesnika (9%) imala del 17p (mutaciju *p53*). Jedna je bolesnica preminula nakon drugog ciklusa terapije. Od tri bolesnika koja su završila liječenje jedan je postigao KR, drugi PR, a treći SB. Bolesnik koji je postigao CR živ je, bolest mu je progredirala nakon 5 godina i bilo je potrebno započeti novu liniju liječenja. Bolesnici s PR-om i SB-om preminuli su zbog RT-a, jednu i dvije godine nakon završetka liječenja.

Tablica 3. Utjecaj prognostičkih čimbenika na ishode liječenja FCR-om
Table 3. Prognostic factors for treatment outcomes with FCR

| Prognostički čimbenik / Prognostic factor | KR/CR (%) | <i>p</i> | 3 g./3 y PFS (%) | <i>p</i> | 3 g./3 y OS (%) | <i>p</i> |
|---|-----------|----------|------------------|----------|-----------------|----------|
| < 65/≥ 65 (god./years) | 89/81 | 0,725 | 75/67 | 0,301 | 100/91 | 0,826 |
| Spol M/Ž / Sex M/F | 82/84 | 0,875 | 68/74 | 0,450 | 68/96 | 0,013 |
| Raiev 0 – 2/3 – 4 | 88/78 | 0,403 | 90/51 | 0,004 | 100/88 | 0,042 |
| Binetov A – B/C | 86/80 | 0,580 | 89/56 | 0,04 | 94/89 | 0,111 |
| TTM < 9/≥ 9 | 87/73 | 0,272 | 100/89 | 0,707 | 74/69 | 0,169 |
| ZAP-70 < 30%/≥ 30%* | 90/79 | 0,459 | 90/88 | 0,898 | 100/90 | 0,242 |
| CD38 < 20%/≥ 20%** | 87/88 | 0,945 | 70/61 | 0,609 | 100/92 | 0,3 |
| β2-mikroglobulin (≤ 2,5 mg/L/> 2.5 mg/L) | 93/79 | 0,242 | 65/60 | 0,161 | 92/90 | 0,801 |
| LDH (≤ 240 IU/L/> 240 IU/L) | 84/80 | 0,746 | 78/60 | 0,098 | 100/88 | 0,546 |

* ZAP-70 određen je u 25 bolesnika (58%), a izražaj ≥ 30% detektiran je u 14 (56%)/ZAP-70 was measured in 25 patients and the expression ≥ 30% was detected in 14 patients (56%)

** CD38 određen je u 32 bolesnika (74%), a izražaj ≥ 20% detektiran je u 16 (50%)/CD38 was measured in 32 patients (74%) and the expression ≥ 20% was detected in 16 patients (50%)

Rasprava

FCR je zlatni standard u liječenju mladih bolesnika s KLL-om bez znatnijih komorbiditeta i bez del 17p, odnosno mutacije *p53*. Toksični profil i rezultati liječenja naših bolesnika u svakodnevnom kliničkom radu usporedivi su s onima iz kliničkih studija. Shema primjene rituksimaba u naših bolesnika liječenih FCR-om razlikovala se od one u navedenim studijama (s obzirom na zakonsku regulativu u Republici Hrvatskoj), no čini se da to ne utječe na ishode liječenja. Naši su rezultati (trogodišnji OS i PFS u prethodno neliječenih bolesnika 90 i 80%) slični onima MD Anderson Cancer Centra (88 i 74%)³²⁻³⁴ i studije CLL8 (87 i 65%).³⁵ Nešto bolji PFS u našoj je seriji vjerojatno posljedica razlika u intenzitetu praćenja bolesnika između studija i rutinske kliničke prakse. FCR je kod naših bolesnika doveo do odlične stope MRD-negativnih KR-a (78%), i u prvoj i u kasnijim linijama liječenja. Navedeni rezultati ohrabruju budući da je negativnost MRD-a povezana s dugotrajnim remisijama i preživljenjem.^{39,40} Slabiji rezultati postignuti su kod bolesnika s del 17p (mutacijom *p53*), što je i u skladu s do sada objavljenim istraživanjima.^{11-14,34,35}

Hematološka toksičnost bila je očekivana, ali infekcije nisu bile česte. U našoj je seriji učestalost teških neutropenija bila nešto veća (47% slučajeva prema 34%), a teških infekcija nešto manja (9% : 25%), nego u studiji CLL8.³⁵ Čak dvije trećine bolesnika s teškom neutropenijom nisu imale infekcije. Manju učestalost infekcija u naših bolesnika mogli bismo objasniti češćom primjenom antivirusne i antibakterijske profilakse (aciklovir i kotrimoksazol) koju bolesnici u studiji CLL8 nisu rutinski dobivali. Teška anemija i trombocitopenija bile su razmjerno rijetke.

Kod većine bolesnika bilo je nužno modificirati liječenje. U otprilike 1/4 bolesnika liječenje je ranije prekinuto, uglavnom zbog teške neutropenije i/ili infekcije. U dva puta više bolesnika (47%) terapija je morala biti odgođena, a u 5% doza lijekova reducirana.

Sekundarni zloćudni tumori javili su se u otprilike 1/5 bolesnika, neovisno o liniji liječenja. Dominirali su kožni tumori (tri bolesnika) i transformacija u difuzni B-velikostanični limfom (četiri bolesnika), što je u skladu s do sada objavljenim istraživanjima.^{35,36}

Stariji su bolesnici (≥ 65 god.) dobro podnosili liječenje. Većina (šest bolesnika) primila je svu predviđenu terapiju i

postignula dugotrajne remisije. Ženski spol i niži Raiev stadij povezani su s dužim OS-om, a niži Raiev i Binetov klinički stadij s boljim PFS-om. Surogatni biljezi mutiranosti IgVH (ZAP-70, CD38) u naših bolesnika nisu pokazali statističku značajnost u OS-u, PFS-u i odgovoru na liječenje. Nasuprot studiji CLL8 povišena serumska vrijednost β₂-mikroglobulina nije se pokazala prognostički značajnom,³⁵ kao ni povišena serumska vrijednost LDH. Ove su razlike vjerojatno posljedica malog broja bolesnika u našoj seriji.

Naši rezultati potvrđuju da je FCR vrlo učinkovit protokol i u svakodnevnoj kliničkoj praksi, znatne, ali prihvatljive toksičnosti. Glavna je nuspojava neutropenija koja se može smanjiti upotrebom G-CSF-a, što je vjerojatno bolje nego snižavanje doze lijekova. Uz odgovarajuću antimikrobnu profilaksu učestalost teških infekcija nije velika. Noviji rezultati pokazuju da se, u bolesnika koji postanu MRD-negativni nakon 3 ciklusa FCR-a, terapija može prekinuti nakon 4. ciklusa, a da to ne utječe nepovoljno na PFS i OS.⁴⁰ Time se smanjuje izloženost citostaticima, a vjerojatno i toksičnost poput mijelosupresije, infekcija ili sekundarnih zloćudnih bolesti. S druge strane, raniji prekid liječenja nije u skladu sa smjernicama IWCLL-a pa se za sada ne može općenito preporučiti. Zaključno, FCR se i u nas može smatrati zlatnim standardom u prvoj liniji liječenja mladih bolesnika s KLL-om bez del 17p (mutacije *p53*), a dobre rezultate pokazuje i u liječenju bolesnika s relapsnom, odnosno refraktornom bolesti.

LITERATURA

1. *Union for International Cancer Control*. 2014 review of cancer medicines on the WHO list of essential medicine. URL: http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/20/applications/CLL.pdf. Datum pristupa: 5. 6. 2017.)
2. *Brenner H, Gondos A, Pulte D*. Trends in long-term survival of patients with chronic lymphocytic leukemia from the 1980s to the early 21st century. *Blood* 2008;111:4916-21.
3. *Auer I, Radman I, Sertić D, Mikulić M, Labar B*. Zloćudni tumori limfocita. U: *Labar B, Hauptmann E*, ur. *Hematologija*. Zagreb: Školska knjiga; 2007, str. 243-300.
4. *Parikh SA, Rabe KG, Kay NE i sur*. Chronic lymphocytic leukemia in young (≤ 55 years) patients: a comprehensive analysis of prognostic factors and outcomes. *Haematologica* 2014;99:140-7.
5. *Catovsky D, Fooks J, Richards S*. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia: the importance of age, sex and response to treatment in survival. A report from the MRC CLL 1 trial. *MRC working party on leukaemia in adults*. *Br J Haematol* 1989;72:141-9.

6. Shanafelt TD, Rabe KG, Kay NE *i sur.* Age at diagnosis and the utility of prognostic testing in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2010;116:4777–87.
7. Catovsky D, Wade R, Else M. The clinical significance of patients' sex in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2014;99:1088–94.
8. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975;46:219–34.
9. Binet JL, Auquier A, Dighiero G *i sur.* A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981;48:198–206.
10. Jaksic B, Vitale B. Total tumour mass score (TTM): a new parameter in chronic lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol* 1981;49:405–13.
11. Foa R, Del Giudice I, Guarini A, Rossi D, Gaidano G. Clinical implications of the molecular genetics of chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2013;98:675–85.
12. Karnofsky IN. Cytogenetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia. *Folia Med (Plovdiv)* 2000;42:5–10.
13. Zenz T, Eichhorst B, Busch R *i sur.* TP53 Mutation and Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28:4473–9.
14. Strati P, Keating MJ, O'Brien SM *i sur.* Outcomes of first-line treatment for chronic lymphocytic leukemia with 17p deletion. *Haematologica* 2014;99:1350–5.
15. Keating MJ, Lerner S, Kantarjian H *i sur.* Serum β -2 microglobulin level is more powerful than stage in predicting response and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1995;86(Suppl 1):606a.
16. Shvidel L, Hofstein R, Berrebi A. Serum β -2 microglobulin as a marker of B-cell activation in chronic lymphoid malignancies. *Am J Hematol* 1996;53:148–9.
17. Fais F, Ghiotto F, Hashimoto S *i sur.* Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest* 1998;102:1515–25.
18. Rajewsky K. Clonal selection and learning in the antibody system. *Nature* 1996;381:751–8.
19. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated IgV(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94:1848–54.
20. Damle RN, Wasil T, Fais F *i sur.* IgV gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94:1840–7.
21. Del Poeta G, Maurillo L, Venditti A *i sur.* Clinical significance of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001;98:2633–9.
22. Hamblin TJ, Orchard JA, Ibbotson RE *i sur.* CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood* 2002;99:1023–9.
23. Chen L, Widhopf G, Huynh L *i sur.* Expression of ZAP-70 is associated with increased B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002;100:4609–14.
24. Crespo M, Bosch F, Villamor N *i sur.* ZAP-70 Expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2003;348:1764–75.
25. Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z *i sur.* ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* 2004;363:105–11.
26. Rassenti LZ, Huynh L, Toy TL *i sur.* ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2004;351:893–901.
27. Galton DAG, Wiltshaw E, Szur L, Dacie JV. The use of chlorambucil and steroids in the treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1961;7(1):73–98.
28. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR *i sur.* Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343:1750–7.
29. Lepage M, Chevret S, Cazin B *i sur.* Randomized comparison of fludarabine, CAP, and ChOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients for the French cooperative group on chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001;98:2319–25.
30. Johnson S, Smith AG, Löffler H *i sur.* Multicentre prospective randomised trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukaemia. The French cooperative group on CLL. *Lancet* 1996;347:1432–8.
31. Catovsky D, Richards S, Matutes E *i sur.* Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;370:230–9.
32. Keating MJ, O'Brien S, Albitar M *i sur.* Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23:4079–88.
33. Wierda W, O'Brien S, Wen S *i sur.* Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23:4070–8.
34. Tam CS, O'Brien S, Wierda W *i sur.* Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008;112:975–80.
35. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G *i sur.* Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010;376:1164–74.
36. Benjamini O, Jain P, Trinh L *i sur.* Second cancers in patients with chronic lymphocytic leukemia who received frontline fludarabine, cyclophosphamide and rituximab therapy: distribution and clinical outcomes. *Leuk Lymphoma* 2015;56:1643–50.
37. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D *i sur.* Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the international workshop on chronic lymphocytic leukemia updating the national cancer institute-working group 1996 guidelines. *Blood* 2008;111:5446–56.
38. National Cancer Institute. Common terminology criteria for adverse events (CTCAE). v. 4.0. URL: http://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06-14_QuickReference_5x7.pdf. Datum pristupa: 8. 6. 2017.
39. Thompson PA, Wierda WG. Eliminating minimal residual disease as a therapeutic end point: working toward cure for patients with CLL. *Blood* 2016;127:279–86.
40. Strati P, Keating MJ, O'Brien SM *i sur.* Eradication of bone marrow minimal residual disease may prompt early treatment discontinuation in CLL. *Blood* 2014;123:3727–32.

