

Akutna mijeloična leukemija u djece: analiza kliničkih i bioloških značajki te rezultata liječenja u Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Rijeka

Acute myeloid leukemia in children: the study of clinical and biological features and results of the treatment at the Department of pediatrics, Clinical Hospital Centre Rijeka

Jelena Roganović^{1*}, Tatjana Čučak², Irena Seili-Bekafigo³, Klara Dubravčić⁴, Ružica Lasan-Trčić⁵

¹Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka, Rijeka

²Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Rijeka, Rijeka

³Zavod za kliničku citologiju, KBC Rijeka, Rijeka

⁴Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, KBC Zagreb, Zagreb

⁵Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb, Zagreb

Sažetak. Cilj: Ispitati kliničke i biološke (citomorfologija, imunofenotipizacija, citogenetika) značajke te stopu preživljenja pedijatrijskih pacijenata s akutnom mijeloičnom leukemijom (AML) liječenih u tercijarnom centru. **Ispitanici i metode:** Epidemiološko, retrospektivno, deskriptivno istraživanje u koje su uključeni pacijenti s novodijagnosticiranim AML-om mlađi od 18 godina, u razdoblju od 1. 1. 2002. do 31. 12. 2013. godine. **Rezultati:** U dvanaestogodišnjem razdoblju hospitalizirano je devetero djece s AML-om, 5 (55,6 %) djevojčica i 4 (44,4 %) dječaka. Prosječna dob bila je 11 (\pm 3,8 SD) godina. Najčešći simptomi i znaci bili su astenija (66,7 %), perzistentna vrućica (55,6 %), bljedoća (44,4 %) i krvarenje (44,4 %). Limfadenopatija i hepatomegalija su bile prisutne u 3 (33,3 %), a splenomegalija u jednog (11,1 %) pacijenta. Jedan (11,1 %) pacijent imao je inicijalno zahvaćen središnji živčani sustav. Trombocitopenija je bila prisutna u 8 (88,9 %) pacijenata, anemija u 7 (77,8 %) pacijenata, leukocitoza u 4 (44,5 %) pacijenta, a leukopenija u 3 (33,3 %) pacijenta. Svi su pacijenti imali blaste u razmazu periferne krvi. Utvrđeno je 7 citomorfoloških podtipova s karakterističnim imunofenotipskim značajkama. Sedam (77,8 %) pacijenata imalo je numeričke i strukturne aberacije kromosoma. Tri (33,3 %) pacijenta svrstana su u skupinu standardnog rizika, a 6 (66,7 %) u skupinu visokog rizika. Remisija je postignuta petnaestog dana kemoterapije u 6 (66,7 %) pacijenata. Alogena transplantacija krvotvornih matičnih stanica učinjena je u 3 (33,3 %) pacijenta. Osam (88,9 %) pacijenata je u kompletnoj remisiji s medijanom praćenja od 10,1 godina. Smrtni ishod je nastupio u jednog pacijenta (11,1 %) zbog septičkog šoka. **Zaključci:** Pedijatrijski AML je heterogena hematološka neoplazma. Agresivna kemoterapija i transplantacija krvotvornih matičnih stanica omogućuju visoku stopu izlječenja.

Ključne riječi: akutna mijeloična leukemija; dijete; liječenje

Abstract. Objective: To investigate clinical and biological (cytomorphology, immunophenotyping, cytogenetics) features and the survival rate of pediatric patients with acute myeloid leukemia (AML) in a tertiary centre. **Material and Methods:** Epidemiological, retrospective, descriptive study involving patients with newly diagnosed AML younger than 18 years, from January 1st 2002 to December 31st 2013. **Results:** In a 12-year period, 9 children with AML were hospitalized, 5 (55.6 %) girls and 4 (44.4 %) boys. The median age was 11 (\pm 3.8 SD) years. The most common symptoms were asthenia (66.7 %), persistent fever (55.6 %), pallor (44.4 %) and bleeding (44.4 %). Lymphadenopathy and hepatomegaly were present in 3 patients (33.3 %), and splenomegaly in one (11.1 %) patient. One (11.1 %) patient had initial central nervous system involvement. Thrombocytopenia was present in 8 (88.9 %) patients, anemia in 7 (77.8 %)

*Dopisni autor:

Prof. dr. sc. Jelena Roganović, prim., dr. med.
Odjel za hematologiju i onkologiju
Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka
Istarska 43, 51 000 Rijeka
e-mail: roganovic.kbcrci@gmail.com

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

patients, leukocytosis in 4 (44.5 %) patients, and leukopenia in 3 (33.3 %) patients. All patients had blasts in the peripheral blood smear. Seven cytomorphic subtypes with characteristic immunophenotypic features were found. Seven (77.8 %) patients had numeric and structural chromosome aberrations. Three (33.3 %) patients were classified in standard-risk group and 6 (66.7 %) in high-risk group. Remission was achieved in 6 (66.7 %) patients on day 15 of chemotherapy. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation was performed in 3 (33.3 %) patients. Eight (88.9 %) patients are in complete remission with a median follow-up of 10.1 years. The death occurred in one (11.1 %) patient due to septic shock. **Conclusions:** Pediatric AML is a heterogeneous hematologic neoplasm. Aggressive chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation provide a high cure rate.

Key words: acute myeloid leukaemia; child; treatment

UVOD

Akutna mijeloična leukemija (AML) rijetka je bolest s udjelom od 15 do 20 % svih pedijatrijskih akutnih leukemija i s incidencijom od 7 slučajeva na milijun djece mlađe od 15 godina¹. Pedijatrijski AML je vrlo heterogena hematološka neoplazma u odnosu na morfolologiju, imunofenotipizaciju i genetske abnormalnosti malignih stanica, kao i kliničko ponašanje. Biološke značajke u kombinaciji s ranim odgovorom na terapiju su najvažniji prognostički čimbenici ishoda bolesti, koji se u većini kliničkih protokola koriste u stratifikaciji pacijenata u skupine rizika. Intenziviranje terapije i terapija prilagođena skupinama rizika u okviru međunarodnih protokola te učinkovito suportivno liječenje posljednjih su desetljeća rezultirali značajnim napretkom u liječenju sa stopom dugotrajnog preživljenja od 70 %^{2,3}.

Cilj rada je ispitati biološke i kliničke značajke te rezultate liječenja pedijatrijskih pacijenata s AML-om u Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Rijeka.

ISPITANICI I METODE

Ispitanici

Istraživanjem su obuhvaćena djeca s novodijagnosticiranim AML-om liječena na Odjelu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra (KBC) Rijeka, u razdoblju od 1. siječnja 2002. do 31. prosinca 2013. godine. Hospitalizirano je devetero djece, 5 (55,6 %) djevojčica i 4 (44,4 %) dječaka. Prosječna dob pa-

cijenata iznosila je 11 godina ($\pm 3,8$ SD) s medijanom 10,2 godine. Najmlađi pacijent imao je 4,8, a najstariji 17 godina. Osam ispitanika (88,9 %) bilo je školske dobi. Prosječna dob djevojčica bila je 9,6 godina, a dječaka 12,9 godina.

Metode

Dijagnoza AML-a postavljena je na osnovi citomorfologije, citokemije, imunofenotipizacije i citogenetike aspirata koštane srži. Citomorfologija i

Akutna mijeloična leukemija u djece je heterogena hematološka neoplazma. Posljednjih desetljeća postignut je izvanredan napredak u liječenju. Sve bolje razumijevanje molekularnih mehanizama leukemogeneze, stratifikacija u skupine rizika i terapija prilagođena skupinama rizika, transplantacija krvotvornih matičnih stanica te ciljana terapija omogućuju daljnje poboljšanje rezultata liječenja pedijatrijskih pacijenata.

citokemija (mijeloperoksidaza, Sudan B crnilo, nespecifične i specifične esterase) koštane srži i periferne krvi učinjene su u Zavodu za kliničku citologiju KBC-a Rijeka. Imunofenotipizacija stanica koštane srži učinjena je u Kliničkoj jedinici za staničnu imunodijagnostiku i postupke *in vitro* u Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Zagreb. Za imunofenotipizaciju korišten je protočni citometar BD FACSCalibur™ (BD Biosciences, San Jose, CA, Sjedinjene Američke Države). Svi stanični parametri analizirani su pomoću računalnog programa CellQuest™Pro (BD Biosciences, San Jose, CA, Sjedinjene Američke Države). Citogenetske analize učinjene su u Citogenetskom laboratoriju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb, i to konvencionalnom metodom GTG (Gimza-Tripsin-Gimza) pruganja i molekularnom metodom fluorescentne *in situ* hibridizacije, FISH (engl. *Fluorescence In Situ Hybridization*). Za interpretaciju promjena kariotipa korišten je Internacionalni sustav za klasifikaciju (engl. *International System for Human Cytogenetic Nomenclature*; ISCN), ISCN 2005⁴ i ISCN 2009⁵. Kao izvor podataka korištena je medicinska dokumentacija pacijenata iz koje su izdvojeni sljedeći podatci: datum hospitalizacije, spol, dob (u vrije-

me postavljanja dijagnoze); simptomi; status (periferni limfni čvorovi, jetra, slezena) kod prijema; inicijalni laboratorijski nalazi: hemoglobin, trombociti, leukociti, neutrofili, diferencijalna krvna slika (DKS), prisutnost blasta (postotak, apsolutni broj) u perifernoj krvi; cerebrospinalni likvor (broj i morfologija stanica) i prisutnost druge ekstrapomedularne zahvaćenosti (koža, gingive); koštana srž – AML podtip prema FAB (engl. *French–American–British Cooperative Group*) klasifikaciji^{6,7}; imunofenotipizacija stanica koštane srži; prisutnost i vrsta citogenetskih aberacija u blastima; prisutnost ili odsutnost kliničke i laboratorijske remisije 15. i 30. dana kemoterapije; vrsta terapije: kemoterapija, radioterapija središnjeg živčanog sustava (SŽS; engl. *central nervous system*; CNS), transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) ili koštane srži; stanje bolesti (remisija, recidiv, smrt); vrijeme proteklo od početka liječenja do posljednje kontrole.

Akutne mijeloične leukemije razvrstane su prema FAB klasifikaciji: AML-M0/M1 (AML bez sazrijevanja / AML s minimalnom diferencijacijom) u 1 pacijenta; AML-M2 (AML s diferencijacijom) s Auerovim štapićima u 2 pacijenta; AML-M2 bez Auerovih štapića u 1 pacijenta; AML-M3 (akutna promijelocitna leukemija) u 1 pacijenta; AML-M4 (akutna mijelomonocitna leukemija) u 1 pacijenta; AML-M5 (akutna monocitna leukemija) u 2 pacijenta; AML-M7 (akutna megakariocitna leukemija) u 1 pacijenta. U jednog pacijenta je postavljena citomorfološka dijagnoza akutne mješovite leukemije s dimorfnim blastima (monoblasti i limfoblasti).

Za obradu podataka korištena je deskriptivna statistika; metode grupiranja, izračunavanja aritmetičke sredine i standardne devijacije.

REZULTATI

Glavni simptomi i znaci kod inicijalne dijagnoze su bili astenija (66,7 %), perzistentna vrućica (55,6 %), bljedoća (44,4 %), hemoragijske manifestacije (44,4 %), gubitak apetita (33,3 %) te bolovi u kostima i mišićima (22,2 %). Kod prijema je troje (33,3 %) djece imalo limfadenopatiju i hepatomegaliju. U po jednog (11,1 %) pacijenta bila je prisutna splenomegalija, hiperplazija gingiva i leukemijski kožni infiltrati (tablica 1). Jedan (11,1 %) pacijent imao je inicijalno zahvaćen središnji živčani sustav. U pacijenta s akutnom mješovitom leukemijom njegova je zahvaćenost nastupila tijekom bolesti.

Kod inicijalne dijagnoze anemija (definirana kao koncentracija hemoglobina ispod dvije standardne devijacije od srednjih vrijednosti za dob i spol) je bila prisutna u 7 (77,8 %) pacijenata. Osam (88,9 %) pacijenata imalo je trombocitopeniju. Broj leukocita bio je povišen u 4 (44,4 %) pacijenta, normalan u 2 (22,2 %) pacijenta, a snižen u 3 (33,3 %) pacijenta. Šest (66,7 %) pacijenata imalo je neutropeniju. U svih pacijenata bili su prisutni blasti u razmazu periferne krvi (tablica 2).

Imunofenotipizacijom koštane srži utvrđene su fenotipske značajke leukemijskih stanica tipične za pojedine podtipove AML-a (tablica 3). Konvencionalnom citogenetikom utvrđene su aberacije u 7 (77,8 %) pacijenata, dok su 2 (22,2 %) pacijenta imala uredan kariotip. Udružene strukturne i numeričke aberacije nađene su u 2 pacijenta, strukturne u 4, a numeričke u 1 pacijenta. Najčešća aberacija bila je translokacija t(8;21) prisutna u 3 (33,3 %) pacijenta; 1 pacijent (FAB AML M2) imao je t(8;21) udruženu s hipodiploidijom, 1 pacijent (FAB AML M2) udruženu s delecijom del(10q), a 1 pacijent (FAB AML M4) u sklopu kompleksnih promjena kariotipa (pseudodiploidija, trisomija 8). Po jedan pacijent imao je t(15;17), t(11;16), trisomiju 8 i deleciju 9. U svih pacijenata s t(8;21) je FISH metodom dokazan fuzijski gen *AML1/ETO*. U pacijenata (FAB M3) sa specifičnom translokacijom t(15;17) FISH metodom je potvrđen *PML/RAR α* fuzijski transkript.

Pacijenti su stratificirani u skupine rizika na osnovi citomorfoloških i citogenetskih obilježja leukemijskih stanica. Odgovor na indukcijsku terapiju (punkcija koštane srži 15. dana kemoterapije) bio je dodatni kriterij za (re)stratifikaciju u skupine rizika. Šest (66,7 %) pacijenata stratificirano je u skupinu visokog rizika (HR), a 3 (33,3 %) pacijenta u skupinu standardnog rizika (SR). Biološke značajke blasta i skupine rizika u djece s novodijagnosticiranim AML-om prikazane su u tablici 3.

Pacijent s promijelocitnom (AML M3) leukemijom liječen je prema ICC-APL 01 protokolu. Ostali pacijenti liječeni su prema protokolu AML-BFM (Berlin-Frankfurt-Münster); četvero pacijenata

Tablica 1. Inicijalni simptomi i znaci u pedijatrijskih pacijenata s AML-om; Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka

Simptomi /znaci	Broj/ ukupan broj pacijenata
Astenija	6/9
Perzistentna vrućica	5/9
Bljedoća	4/9
Krvarenja	4/9
Gubitak apetita	3/9
Bolovi u kostima i mišićima	2/9
Limfadenopatija	3/9
Hepatomegalija	3/9
Splenomegalija	1/9
Hiperplazija gingiva	1/9
Kožni infiltrati	1/9

Tablica 2. Laboratorijski nalazi u pedijatrijskih pacijenata s AML-om; Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka

Laboratorijski parametar		Broj/ ukupan broj pacijenata
Leukociti	Povišeni	4/9
	Normalni	2/9
	Sniženi	3/9
Hemoglobin	Normalan	2/9
	Snižen	7/9
Trombociti	Normalni	1/9
	Sniženi	8/9
Neutrofili	Normalni	3/9
	Sniženi	6/9
Blasti u perifernom razmazu		9/9

prema AML-BFM 98 protokolu i četvero prema protokolu AML-BFM 2004. Kemoterapija pedijatrijskih AML-a sastoji se od indukcijske terapije (Indukcija 1 i Indukcija 2) kojoj je cilj postizanje remisije, postremisijske terapije konsolidacije, intenzifikacije i terapije održavanja. Sastavni dio protokola je terapija središnjeg živčanog sustava (intratekalna kemoterapija sa ili bez kranijalne radioterapije). Prva remisija postignuta je u svih pacijenata. U 6 (66,7 % pacijenata) remisija je postignuta 15. dan kemoterapije (nakon Indukcije 1), u jednog pacijenta 28. dan kemoterapije (na-

kon Indukcije 2), a u 2 pacijenta 56. dan kemoterapije (nakon konsolidacije). U troje (33,3 %) pacijenata s AML-om visokog rizika učinjena je alogena srodna transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) u prvoj remisiji. Dvojici pacijenata učinjena je transplantacija u Kliničkom bolničkom centru Zagreb, a jednome u Sveučilišnoj klinici u Grazu. Osam (88,9 %) pacijenata je u kompletnoj remisiji s medijanom praćenja 10,1 godina. Prosječan period praćenja je 8,2 (\pm 3,9 SD) godine. Smrtni ishod je nastupio u 1 (11,1 %) pacijenta zbog septičkog šoka 4 mjeseca od početka liječenja.

Tablica 3. Citomorfologija, imunofenotipizacija i citogenetika blasta te skupine rizika u djece s novodijagnosticiranim AML-om; Klinika za pedijatriju, KBC Rijeka

Pacijent	FAB (AML)	Imunofenotipizacija	Citogenetika/ molekularne promjene	Skupina rizika
1	M0/M1	MPO+CD11b-CD13+CD14-CD33+CD61-CD64-lizozim-CD34+ CD117+HLADR+TdT-CD3-CD7-CD10-CD19-CD20-CD56- (AML)	46,XY	Visoka
2	M2 (Auerovi štapići +)	MPO+CD11b-CD13+CD14-CD15-CD33-lizozim-CD34+CD117+HLADR+TdT-CD3-CD7-CD10-CD19-CD79a+ (Ly+AML)	46,XY,t(8;21)(q22;q22), der(9), del(10q) FISH: AML1/ETO +	Standardna
3	M2 (Auerovi štapići +)	MPO+CD13+CD14-CD15-CD33+lizozim+CD34+CD117ntHLADR+TdT-CD3-CD7-CD19-CD79a- (AML)	45,X-X,t(8;21)(q22;q22) FISH: AML1/ETO +	Standardna
4	M2 (Auerovi štapići -)	MPO+CD4-CD11b-CD13ntCD14-CD15-CD33+CD64-CD34+ CD117+HLADR+TdT-CD3-CD7-CD19-CD56-CD79a- (AML)	47,XY,+8	Visoka
5	M3	MPO+CD4-CD11b-CD13+CD14-CD15-CD33+CD34- CD117+HLADR-TdT-CD2-CD3-CD7-CD19-CD56-CD79a- (AML fenotipa promijelocita)	46,XX, t(15;17) (q22;q21) FISH: PML/RAR α +	Standardna
6	M4	MPO+CD4-CD11b-CD13-CD14-CD15+CD33+CD64-CD34+CD117+HLADR+TdT+CD2-CD3-CD7-CD10-CD19+CD22-CD56-CD79a+ (BAL B+My)	46,X,-X, +8,t(8;21)(q22;q22) FISH: AML1/ETO +	Visoka
7	M5	MPO+CD11b+CD13+CD14+CD15+CD33+CD64+lizozim+CD34-CD117-HLADR+TdT-CD2-CD3-CD7-CD10-CD19-CD56-CD79a- (AML s monocitnom diferencijacijom)	46,XX	Visoka
8	M5/ALL	Ly: MPO-CD4-CD11b+CD13+CD14-CD15-CD33-lizozim-CD34+ CD117-HLADR+TdT-CD2-CD3-CD7-CD10+CD19+CD20-CD22+CD56-CD79a+ M: MPO-CD4-CD11b+CD13+CD14+CD15-CD33+lizozim+CD34+CD117-HLADR+TdT-CD2-CD3-CD7-CD10+CD19+CD20+CD22+CD56-CD79a- (Bilinijska AL)	46,XY, del(9p) FISH: ish del(9)(p21)(CDKN2A-)	Visoka
9	M7	MPO-CD4-CD13-CD14-CD15-CD33+CD41+CD61+CD235a-CD34+CD117+HLADR-TdT-CD1a-CD2-cytCD3+CD5-CD7-CD8-CD10-CD19-CD56+ (Ly+AML tipa megakarioblasta)	46,XX,t(11;16)(q13;q24)	Visoka

Kratice: FAB = klasifikacija prema Francusko-američko-britanskoj kooperativnoj skupini (engl. *French–American–British Cooperative Group*); AML = akutna mijeloična leukemija; M0/M1 = AML bez sazrijevanja / AML s minimalnom diferencijacijom; M2 = AML s diferencijacijom; M3 = akutna promijelocitna leukemija; M4 = akutna mijelomonocitna leukemija; M5 akutna monocitna leukemija; M7 = akutna megakariocitna leukemija; ALL = akutna limfatična leukemija; BAL = bifenotipska akutna leukemija; AL = akutna leukemija; CD = razlikovni biljeg (engl. *cluster of differentiation*); MPO = mijeloperoksidaza; HLA = humani leukocitni antigen; TdT = terminalna deoksiribonukleotidil transferaza; Ly = limfoidni antigen; M = mijeloidni antigen; FISH = fluorescentna *in situ* hibridizacija

RASPRAVA

AML čini 15 do 20 % svih pedijatrijskih leukemija⁸. Incidencija ovisi o dobi i iznosi 1,5 na 100.000 dojenčadi godišnje, 0,9 na 100.000 djece dobi od 1 do 4 godine, 0,4 na 100.000 djece od 5 do 9 godina, a zatim se postupno povećava do odrasle dobi⁹. Klinička prezentacija je varijabilna, a većinom je posljedica bujanja leukemijskih stanica (astenija, gubitak apetita, neobjašnjiva perzistentna vrućica, mišićno-koštani bolovi, hepatosplenomegalija, limfadenopatija) i sekundarne medularne insuficijencije (bljedoća, krvarenja, infekcije)^{10,11}. U krvnoj slici najčešće je prisutna anemija i trombocitopenija, a broj leukocita može biti povišen, normalan ili snižen, s blastima u perifernom razmazu. Hiperleukocitoza s hiperviskozitetom može uzrokovati plućne ili centralne simptome¹². Ekstramedularna bolest prisutna je u 20 do 40 % pedijatrijskih pacijenata¹³. CNS leukemiju karakterizira likvorska pleocitoza ili CNS infiltrat, a klinički glavobolja, mučnina/povraćanje, poremećaj svijesti, smetnje vida ili pareze kranijalnih živaca (najčešće ličnog živca i abducensa). Akutna promijelocitna leukemija često je udružena s diseminiranom intravaskularnom koagulacijom, a monoblastična s gingivalnom hiperplazijom^{12,14}. Naše je ispitivanje također pokazalo da su najčešći simptomi i znaci AML-a rezultat leukemijske infiltracije, s astenijom, perzistentnom vrućicom, krvarenjima i bljedoćom. Inicijalnu CNS leukemiju imalo je 11,1 % pacijenata, što je u skladu s prijašnjim ispitivanjima u kojima je postotak zahvaćenosti CNS-a od 5 % do 15 %^{15,16}. Najveći broj pacijenata imao je anemiju i trombocitopeniju. Broj leukocita bio je varijabilan, a u svih su bili prisutni blasti u perifernom razmazu. Prema citomorfološkoj FAB klasifikaciji, koja se zasniva na staničnom podrijetlu, AML se dijeli u sljedeće podskupine: M0 (minimalno diferencirana AML), M1 (AML bez sazrijevanja), M2 (AML s granulocitnim sazrijevanjem), M3 (akutna promijelocitna leukemija, APL), M4 (akutna mijelomonocitna leukemija), M4Eo (akutna mijelomonocitna leukemija s eozinofilijom u koštanoj srži), M5 (akutna monoblastična leukemija), M6 (akutna eritroidna leukemija) i M7 (akutna megakarioblastična leukemija)⁷. Pedeset do 60 % djece s AML-om ima podskupine M1, M2, M3, M6 ili

M7. Četrdeset posto svih pedijatrijskih pacijenata ima podskupinu M4 ili M5, a oko 80 % djece mlađe od 2 godine¹⁰. U ovom ispitivanju 55,6 % pacijenata imalo je navedene najčešće podskupine, a 33,3 % podskupinu M4 ili M5. Razdioba citomorfoloških podskupina u naših pacijenata odgovara podatcima iz literature.

Danas imunofenotipizacija ima značajniju ulogu u postavljanju dijagnoze i praćenju bolesti. Tipično, AML blasti su pozitivni na CD13 ili CD33, a negativni na limfoidne biljege kao CD3/CD7 (T-stanice) ili CD19/CD20/CD2 (prekursori B-stanica)³.

Klasifikacija Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) iz 2001. godine objedinila je citomorfološka, citokemijska, imunofenotipska, citogenetska i molekularna obilježja leukemijskih stanica¹⁷. Godine 2008. revidirana je SZO-ova klasifikacija, s uvrštenjem novih informacija dobivenih citogenetskim i molekularnim analizama¹⁸. AML se klasificira u 7 skupina (AML s rekurentnim genetskim abnormalnostima, AML s promjenama vezanim uz mijelodisplaziju, AML vezan uz terapiju, mijeloidni sarkom, mijeloidna proliferacija vezana uz Downov sindrom, blastična plazmocitoidna neoplazma dendritičkih stanica, AML koji nije drugdje uvršten), a svaka od skupina sadrži više deskriptivnih podskupina¹⁹.

Konvencionalna kariotipizacija može identificirati specifične abnormalnosti koje su, osim za dijagnozu i klasifikaciju, korisne i za stratifikaciju u skupine rizika i prognozu pedijatrijskog AML-a²⁰. Specifične citogenetske abnormalnosti udružene s FAB subtipovima su: t(8;21)(q22;q22) i t(6;9)(p23;q34) u M2; t(15;17)(q22;q12) u M3; inv(16)(p13.1q22) ili t(16;16)(p13.1;q22) u M4Eo, preuređenja MLL (engl. *Mixed Lineage Leukemia*) gena u M5 i t(1;22)(p13;q13) u M7³. AML je molekularno također heterogena bolest. Somatske i epigenetičke aberacije uključene u leukemogenezu imaju značajne biološke i terapijske implikacije²¹. Daljnje sekvencioniranje genoma pruža nova saznanja o klonalnoj evoluciji pedijatrijskog AML-a od dijagnoze do relapsa i pomaže identifikaciji gena kandidata i ključnih signalnih puteva za ciljanu terapiju^{22,23}.

U ovom ispitivanju potvrđena je heterogena priroda pedijatrijskog AML-a. Imunofenotipizacija je potvrdila značaj u ranoj dijagnozi AML-a, otkrivanju specifičnih fenotipskih biljega leukemijskih

stanica i praćenju tijekom bolesti²⁴. Nalazi imunofenotipizacije su u visokoj podudarnosti s citološkim i citogenetskim nalazima. U ¾ naših pacijenata utvrđene su kromosomske aberacije, što je sukladno rezultatima velikih studija koje opisuju klonalni kariotip u više od 70 % djece s AML-om^{25,26}. Također je pokazana udruženost citogenetskih abnormalnosti sa specifičnim molekularnim biljezima.

Rezultati liječenja djece s AML-om značajno su poboljšani posljednjih nekoliko desetljeća, s današnjom stopom preživljenja od 70 %¹. Ovaj napredak je rezultat bolje stratifikacije u skupine rizika i terapije prilagođene skupinama rizika, agresivnije kemoterapije i TKMS-a te izvrsne potporne terapije^{2,27}. Stratifikacija u skupine rizika zasniva se na biološkim obilježjima leukemijskih stanica (prvenstveno citogenetskim) u kombinaciji s ranim odgovorom na kemoterapiju. Prema AML-BFM 2004 protokolu pacijenti su bili stratificirani u SR i HR skupinu. Sadašnji AML-BFM 2012 protokol stratificira pacijente u SR skupinu, skupinu intermedijarnog rizika i HR skupinu, na osnovi citogenetskih i molekularno-genskih obilježja blasta te odgovora na liječenje (minimalna ostatna bolest) nakon prve i druge indukcijske terapije. Protokoli liječenja sastoje se od 4 do 5 ciklusa intenzivne kemoterapije a tipično uključuju citozin-arabinozid i antracikline^{28,29}. CNS-usmjerena intratekalna terapija standardni je dio protokola³⁰. Terapija održavanja općenito nije pokazala učinkovitost, osim u pacijenata s AML M3³¹. Alogeni TKMS u postremisijskoj konsolidacijskoj terapiji u prvoj remisiji indiciran je za selekcionirane podskupine pacijenata, s obzirom na značajnu ranu i kasnu toksičnost^{32,33}. Oko 5 % djece s AML-om ima refraktornu bolest i 30 % doživi relaps²⁹. Internacionalna studija o relapsnom AML-u (Relapsed AML 2001/01) potvrdila je da je rani odgovor na terapiju najvažniji prognostički čimbenik³⁴. Alogeni TKMS je općenito indiciran u drugoj remisiji³⁵.

Većina pacijenata u ovom ispitivanju pripadala je HR skupini. Provedena je intenzivna kemoterapija usmjerena skupinama rizika prema protokolima za pedijatrijski AML (AML-BFM 98 i AML-BFM 2004, ovisno o godini liječenja) te kombinacija kemoterapije i ciljane terapije prema protokolima ICC-APL 01 za AML M3. Kompletna remisija posti-

gnuta je u svih pacijenata. Indikacija za alogeni TKMS postavljena je u trećine pacijenata prema smjernicama. Uključenje naših pacijenata u međunarodne protokole liječenja rezultiralo je izvrsnom stopom dugotrajnog preživljenja.

ZAKLJUČCI

Pedijatrijski AML rijetka je i heterogena hematološka neoplazma. Dijagnostička klasifikacija sastoji se od kombinacije citomorfologije, imunofenotipizacije, citogenetike i molekularne genetike. Terapija prilagođena skupinama rizika uključuje intenzivnu kemoterapiju, ciljanu terapiju i alogenu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica. Posljednjih desetljeća postignut je velik napredak u liječenju djece s AML-om, sa stopom dugotrajnog preživljenja od 70 %. Nova znanja o molekularnim mehanizmima leukemogeneze, razvoj ciljanih anti-leukemijskih lijekova i intenziviranje međunarodne suradnje omogućit će u idućim desetljećima daljnje poboljšanje rezultata liječenja.

Izjava o sukobu interesa: Autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

1. Creutzig U, van den Heuvel-Eibrink MM, Gibson B, Dworzak MN, Adachi S, de Bont E et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012;120:3187-205.
2. de Rooij JD, Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink M. Pediatric AML: From biology to clinical management. *J Clin Med* 2015;4:127-49.
3. Zwaan CM, van den Heuvel-Eibrink MM. (2011). Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Acute Leukemia – The Scientist's Perspective and Challenge*, Prof. Mariastefania Antica (Ed.), InTech [Internet]. 2011. Available from: <http://www.intechopen.com/books/acute-leukemia-the-scientist-s-perspective-and-challenge/pediatric-acute-myeloid-leukemia>
4. Shaffer LG, Tommerup N. ISCN 2005: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger, 2005.
5. Shaffer LG, Slovak ML, Campbell LJ. ISCN 2009: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger, 2009.
6. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol* 1976;33:451-8.
7. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985;103:620-5.

8. Linabery AM, Ross JA. Trends in childhood cancer incidence in the U.S. (1992-2004) *Cancer* 2008;112:416-32.
9. SEER Cancer Statistics Review (CSR) 1975-2013 [Internet]. [cited 2016 May 6] Available from: http://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/
10. Roganović J. Akutna mijeloična leukemija u djece. *Pedijatrija danas* 2009;5:24-31.
11. Weinblatt ME. Pediatric acute myelocytic leukemia [Internet]. New York: Medscape. c1994-2016 [cited 2016 May 3]. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/987228-overview#showall>.
12. Tarlock K, Cooper TM. Acute myeloid leukemia in children and adolescents [Internet]. Up to date, Inc. c2016 [cited 2016 April 26]. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/acute-myeloid-leukemia-in-children-and-adolescents>.
13. Bishop MM, Révész T, Bierings M, van Weerden JF, van Wering ER, Hähnel K et al. Extramedullary infiltrates at diagnosis have no prognostic significance in children with acute myeloid leukaemia. *Leukemia* 2001;15:46-9.
14. Dahl GV, Weinstein HJ. Acute myeloid leukemia in children. *In: Hoffman R, Benz EJ, Shatil SJ, Furie B, Cohe HJ (eds). Hematology: Basic principles and practice. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2004:1121-33.*
15. Rubnitz JE, Gibson B, Smith FO. Acute myeloid leukemia. *Pediatr Clin North Am* 2008;55:21-51.
16. Rubnitz JE, Inaba H. Childhood acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2012;159:259-76.
17. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood* 2002;100:2292-302.
18. 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;114:937-51.
19. Falini B, Tiacci E, Martelli MP, Ascani S, Pileri SA. New classification of acute myeloid leukemia and precursor-related neoplasms: changes and unsolved issues. *Discov Med* 2010;10: 281-92.
20. Harrison CJ, Hills RK, Moorman AV, Grimwade DJ, Hann I, Webb DK et al. Cytogenetics of childhood acute myeloid leukemia: United Kingdom Medical Research Council Treatment trials AML 10 and 12. *J Clin Oncol* 2010; 28:2674-81.
21. Tarlock K, Meshinchi S. Pediatric acute myeloid leukemia: biology and therapeutic implications of genomic variants. *Pediatr Clin North Am* 2015;62:75-93.
22. Farrar JE, Schuback HL, Ries RE, Wai D, Hampton OA, Trevino LR et al. Genomic profiling of pediatric acute myeloid leukemia reveals a changing mutational landscape from disease diagnosis to relapse. *Cancer Res*. 2016; Forthcoming.
23. Pui CH, Carroll WL, Meshinchi S, Arceci RJ. Biology, risk stratification, and therapy of pediatric acute leukemias: An update. *J Clin Oncol* 2011;29: 551-65.
24. Al-Mawali A, Gillis D, Lewis I. The role of multiparameter flow cytometry for detection of minimal residual disease in acute myeloid leukemia. *Am J Clin Pathol* 2009;131:16-26.
25. Cooper TM, Hasle H, Smith FO. Acute myeloid leukemia, myeloproliferative and myelodysplastic disorders. *In: Pizzo PA, Poplack DG (eds). Principles and practice of pediatric oncology, 6th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2011;566-610.*
26. Betts DR, Ammann RA, Hirt A, Hengartner H, Beck-Popovic M, Kuhne T et al. The prognostic significance of cytogenetic aberrations in childhood acute myeloid leukaemia. A study of the Swiss Paediatric Oncology Group (SPOG). *Eur J Haematol* 2007;78:468-76.
27. Sung L, Aplenc R, Alonzo TA, Gerbing RB, Lehrnbecher T, Gamis AS. Effectiveness of supportive care measures to reduce infections in pediatric AML: a report from the Children's Oncology Group. *Blood* 2013;121:3573-7.
28. Kaspers GJ, Creutzig U. Pediatric acute myeloid leukemia: international progress and future directions. *Leukemia* 2005;19:2025-9.
29. Kaspers GJ. Pediatric acute myeloid leukemia. *Expert Rev Anticancer Ther* 2012;12:405-13.
30. Rubnitz JE. How I treat pediatric acute myeloid leukemia. *Blood* 2012;119:5980-8.
31. Perel Y, Auvrignon A, Leblanc T, Vannier JP, Michel G, Nelken B et al. Impact of addition of maintenance therapy to intensive induction and consolidation chemotherapy for childhood acute myeloblastic leukemia: results of a prospective randomized trial, LAME 89/91. *Leucamie Aigue Myeloide Enfant. J Clin Oncol* 2002; 20:2774-82.
32. Niewerth D, Creutzig U, Bierings MB, Kaspers GJ. A review on allogeneic stem cell transplantation for newly diagnosed pediatric acute myeloid leukemia. *Blood* 2010;116:2205-14.
33. Horan JT, Alonzo TA, Lyman GH, Gerbing RB, Lange BJ, Ravindranath Y et al. Impact of disease risk on efficacy of matched related bone marrow transplantation for pediatric acute myeloid leukemia: the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2008;26:5797-801.
34. Creutzig U, Zimmermann M, Dworzak MN, Gibson B, Tamminga R, Abrahamsson J et al. The prognostic significance of early treatment response in pediatric relapsed acute myeloid leukemia: results of the international study Relapsed AML 2001/01. *Haematologica* 2014; 99:1472-8.
35. Davila J, Slotkin E, Renaud T. Relapsed and refractory pediatric acute myeloid leukemia: current and emerging treatments. *Paediatr Drugs* 2014;16:151-68.