

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Zrinko Šalek

**Terapija ne - Hodgkinovih limfoma u
djece pomoću monoklonskih
protutijela**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2014.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Zrinko Šalek

**Terapija ne - Hodgkinovih limfoma u
djece pomoću monoklonskih
protutijela**

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2014.

Diplomski rad izrađen je u Zavodu za pedijatrijsku hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Ernesta Bilića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2013./2014.

Mentor rada: prof. dr. sc. Ernest Bilić

SADRŽAJ

1. SAŽETAK	V
2. SUMMARY	VI
3. UVOD	1
3.1. Ne Hodgkinov limfom.....	1
3.1.1. Definicija.....	1
3.1.2. Epidemiologija.....	1
3.1.3. Etiologija.....	2
3.1.4. Klasifikacija.....	2
3.1.5. Klinička slika.....	3
3.1.6. Dijagnostika i stupnjevanje.....	5
3.1.7. Liječenje.....	7
3.1.8. Prognoza.....	8
3.2. Novi lijekovi u liječenju NHL – monoklonska protutijela.....	9
3.2.1. Rituksimab.....	9
3.2.1.1. Definicija.....	9
3.2.1.2. Mehanizam djelovanja.....	11
3.2.1.3. Rituksimab i liječenje NHL u djece.....	13
3.2.2. Ostala monoklonska protutijela u liječenju NHL.....	14
4. CILJEVI RADA	16
5. ISPITANICI I METODE	17
6. REZULTATI	19
7. RASPRAVA	30
8. ZAKLJUČAK	33
9. ZAHVALE	34
10. LITERATURA	35
11. ŽIVOTOPIS	39

POPIS KRATICA

ADCC	citotoksičnost ovisna o protutijelima (engl. antibody-dependent cellular cytotoxicity)
ALCL	anaplastični velikostanični limfom (engl. anaplastic large cell lymphoma)
BL	Burkittov limfom
CDC	citotoksičnost posredovana komplementom (engl. complement-dependent cytotoxicity)
CHOP	ciklofosamid, hidroksidaunorubicin (doksorubicin), Oncovin (vinkristin), prednizon (engl. cyclophosphamide, hydroxydaunorubicin (doxorubicin), Oncovin (vincristine), prednisone)
CMV	citomegalovirus
DLBCL	difuzni B-velikostanični limfom (engl. <i>diffuse large B-cell lymphoma</i>)
EBV	Epstein–Barr virus
HIV	virus humane imunodeficijencije (engl. human immunodeficiency virus)
HL	Hodgkinov limfom
HSV	herpes simpleks virus
HTLV	virus humane T - leukemije (engl. human T - leukemia virus)
KKS	kompletna krvna slika
LDH	laktat dehidrogenaza
NHL	ne Hodgkinov limfom
NHL-BFM	ne-Hodgkinov limfom – Berlin-Frankfurt-Munster (naziv terapijskog protokola)
MR	magnetska rezonanca
PET	pozitronska emisijska tomografija

REAL	Revised European American Lymphoma
RTG	rendgen
SZO	Svjetska zdravstvena organizacija
SŽS	središnji živčani sustav
VZV	varicella zoster virus

1. SAŽETAK

Limfomi su treća najčešća maligna bolest u djece. Standardno liječenje B-staničnog NHL u odraslih pacijenata je kemoterapija s monoklonskim protutijelom rituksimabom (anti CD 20). Kada je rituksimab pridružen CHOP kemoterapijskom protokolu došlo je do povećanja stope preživljenja u odraslih. Zbog nedostatka većih studija, liječenje B-staničnog NHL uz dodatak monoklonalnih protutijela u djece još nije nedvojbeno prihvaćeno.

U ovom radu 36 djece s novo dijagnosticiranim B-NHL praćeno je u razdoblju od 1. siječnja 1998. do 31. prosinca 2012. Liječeni su na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Uključeno je 8 djevojčica i 28 dječaka (u dobi 3-17 godina). Sveukupno preživljenje za cijelu skupinu pacijenata je 80,6 %. Preživljenje temeljeno na spolu prednost daje djevojčicama – 87,5 %, naspram 78,6 % u dječaka. Prema kliničkom stadiju djeca su podijeljena u dvije skupine: A – stadij I i II i skupinu B: stadij III i IV: Preživljenje tih dviju skupina pokazuje statistički značajnu razliku. Preživljenje skupine A bilo je 92,0 % prema 54,5 % za skupinu B.

Djeca liječena standardnim protokolom NHL-BFM-95 u kombinaciji s rituksimabom imaju bolje preživljenje (85,7%) od onih koji nisu primili liječenje rituksimabom uz kemoterapiju (73,3%). Navedeni rezultati nisu dosegli statističku značajnost. Kako bi donijeli konačan zaključak o korisnosti monoklonalnih protutijela u liječenju B-NHL u djece potrebna nam je veća skupina pacijenata.

2. SUMMARY

Lymphomas are the third most common malignant disease in childhood. Standard treatment of B-cell NHL in adult patients is chemotherapy with monoclonal antibody – rituximab (anti CD 20). Rituximab added to CHOP chemotherapy protocol improved survival rates in adults. Treatment of B cell NHL with monoclonal antibodies in children has not yet been determined.

In total 36 children with newly diagnosed B-NHL were followed from January 1, 1998 to December 31, 2012. They have been treated at the Department of Paediatrics University Hospital Centre Zagreb.

There were 8 girls and 28 boys (3-17 yrs). Overall survival (OS) for the entire group was 80.6%. Gender based survival is in favour of girls - 87,5% versus boys 78,6%. According to clinical stage children were divided in two groups: A: stage I and II, and group B: stage III and IV. Survival time of those two groups showed statistically significant difference. Survival rate of group A was 92,0 % versus 54,5 % for group B.

Children treated with standard protocol NHL-BFM-95 combined with rituximab have higher survival rate (85,7%) than those who did not receive rituximab treatment together with chemotherapy (73,3%). But there were no statistical significance.

To make definitive conclusion of usefulness of monoclonal antibodies in treatment of paediatric B-NHL we need larger cohort of patients.

3. UVOD

3.1. NE HODGKINOV LIMFOM

3.1.1. Definicija

Limfome dijelimo na Hodgkinov (HL) i ne Hodgkinov limfom (NHL). Ne Hodgkinov limfom je maligna proliferacija stanica limfocitnog reda. Premda su limfomi uobičajeno ograničeni na limfno tkivo (limfne čvorove, Peyerove pločice, slezenu, itd.) često zahvaćaju i ekстранodalna tkiva, koštanu srž i središnji živčani sustav (Lanzkowsky P., 2011).

3.1.2. Epidemiologija

Limfomi (NHL i HL) su treća najčešća maligna bolest djece nakon akutnih leukemija (akutna limfoblastična leukemija i akutna mijeloična leukemija) i tumora mozga. NHL čini 8-10% malignih bolesti u djece u dobi između 5 i 19 godina. Incidencija bolesti je 9.1 na 1 000 000 djece (0-19 godina) godišnje u SAD-u, dok je u Japanu i UK 6.1 na 1 000 000 djece godišnje (u dobi 0-15 godina) (Arceci JR i sur., 2006). Puno veća incidencija NHL je u područjima subsaharske Afrike, primjerice čak 90.1 na milijun djece u Ibandanu, Nigerija. Pojava endemskog Burkittovog limfoma u tom području javlja se zbog infekcije EBV. Omjer učestalosti po spolu je 2-2,5:1 u korist dječaka, vrh incidencije po dobi je između 7 i 10 godina u UK. Učestalost NHL u posljednjih 30 ak godina je značajnom u porastu (Lanzkowsky P., 2011; Arceci JR i sur., 2006).

3.1.3. Etiologija

Prema epidemiološkim podacima postoji razlika u učestalost NHL u pojedinim HLA tipovima pa čak i u pojedinim krvnim grupama. Rizični faktori za pojavu NHL-a su: genetski uvjetovani imunološki poremećaji, posttransplantacijska imunosupresija, lijekovi (difenilhidantoin, infliksimab i drugi imunosupresivi), kemoterapija i zračenje (npr kod HL) i virusi – EBV, HIV, HTLV (Vendrame E, Martínez-Maza O., 2011). Također bitno je izdvojiti i geografsku lokaciju, npr subsaharsku Afriku, kao jedan od važnih čimbenika rizika. U tom slučaju ulogu u razvoju endemskog Burkitt limfoma imaju izloženost EBV-u i malariji.

3.1.4. Klasifikacija

NHL u djece i adolescenata klasificira se temeljem kliničkog odgovora na liječenje u tri terapijski relevantne kategorije:

1. zreli B-stanični NHL - Burkittov limfom (BL), Burkitt-like limfom i difuzni B velikostanični limfom (DLCL)
2. limfoblastični limfom - prekursor T staničnih limfoma
3. anaplastični velikostanični limfom (ALCL) – T/nul-stanični limfomi

Podjela NHL-a prema SZO temelji se na histološkim (morfološkim) obilježjima tumora u kombinaciji s imunofenotipskim i genetskim obilježjima, te uključuje kliničku prezentaciju, tijek bolesti i prognozu. Revidirana REAL klasifikacija (prikazana u Tablici 1) i klasifikacija SZO su danas najčešće korištene klasifikacije za razvrstavanje NHL-a

http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/child-non-hodgkins/HealthProfessional/page2#Section_195).

Tablica 1. REAL klasifikacijska shema ne Hodgkinovih limfoma u djece (preuzeto iz Harris NL i sur., 2000)

Tip NHL	Relativna incidencija (%)
Burkittov limfom	42
Burkitt like limfom	4
Prekursorski B-limfoblastični limfom	5
Prekursorski T-limfoblastični limfom	20
Difuzni B velikostanični limfom (primarna medijastinalna skleroza)	3 (0.4)
Periferni T stanični nespecifični	1
Anaplastični T velikostanični ili nul tip	15

3.1.5. Klinička slika

Klinička slika NHL u djece primarno ovisi o strukturama koje su zahvaćene malignim procesom i o podtipu NHL-a. Brzorastući procesi mogu uzrokovati simptome zbog pritiska limfoma na okolne strukture. Nažalost, čak 70 % djece prezentira se tek u višim stadijima bolesti sa zahvaćenošću ektranodalnih struktura, probavnog sustava, koštane srži i središnjeg živčanog sustava.

Djeca oboljela od B velikostaničnog limfoma i Burkittovog limfoma često se javljaju s primarnom lokalizacijom limfoma u abdomenu. Klinički se takvi

pacijenti mogu prezentirati bolovima i distenzijom abdomena, palpabilnom masom u abdomenu, mučninom i povraćanjem, intususcepcijom, promjenama u crijevima, opstruktivnom žuticom, hepatosplenomegalijom, ascitesom ili peritonitisom. Razlikujemo difuznu abdominalnu masu koja zahvaća omentum i mezenterij i često infiltrira bubreg, jetru i slezenu, dok se lokalizirani tip nalazi najčešće u stijenci crijeva terminalnog ileuma i može dovesti do intususcepcije i krvarenja s ili bez perforacije crijeva. Prezentacija limfoma kao difuzne brzorastuće mase puno je češća od lokaliziranog tipa.

U 25 - 30 % ne Hodgkinovih limfoma zahvaćen je medijastinum s ili bez pleuralnog izljeva. Klinička slika medijastinalnih limfoma može se očitovati kao sindromom gornje šuplje vene - distendiranim vratnim venama, edemom vrata i lica, dispnejom, ortopnejom, vrtoglavicom, glavoboljom, disfagijom, epistaksom te poremećajima u stanju svijesti i mentalnom statusu. Uzrok sindromu gornje šuplje vene je prisutnost medijastinalne mase koja opstruira protok krvi i može biti životno-ugrožavajuća u djece. NHL je najčešći uzrok tog sindroma u djece (<http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/supportivecare/cardiopulmonary/Patient/page6#Keypoint22>). U krajnjem slučaju zbog perikardijalnog izljeva moguća je i tamponada srca. Limfoblastični limfom često se prezentira medijastinalnim tumorom sa zahvaćanjem moždanih ovojnica, gonada i koštane srži.

Strukture glave i vrata lokalizacija su limfoma u 10 – 20 % slučajeva. Očituju se povećanjem limfnih čvorova glave i vrata, parotide, oteklinom čeljusti i jednostranom hipertrofijom tonzila. Mogući simptomi limfoma na vratu su i rinoreja, opstrukcija nosa, poteškoće sa sluhom i ispadi kranijalnih živaca.

Endemski tip Burkittovog limfoma vrlo često, u čak 50 – 60 %, zahvaća strukture glave i vrata.

Primarni limfomi SŽS su rijetki, ali česta je pojava sekundarnih limfoma mozga kod limfoblastičnog limfoma i Burkittovog limfoma. Zahvaćanje SŽS-a limfomom očituje se glavoboljom, povraćanjem, edemom papile vidnog živca, poremećajima kranijalnih živaca. Infiltracija SŽS-a obično znači lošiju prognozu i viši stadij bolesti te zahtijeva radikalniju terapiju.

Kao i kod zahvaćanja SŽS-a, limfoblastični i Burkittov limfom češće od ostalih zahvaćaju koštanu srž. U više od četvrtine pacijenata javlja se i slika akutne leukemije. Zanimljivo je istaknuti da je u slučaju Burkittovog limfoma prodiranje u koštanu srž povezano sa značajno lošijom prognozom.

Druge lokalizacije limfoma mogu biti koža i potkožno tkivo, orbita, štitnjača, kosti, bubrezi, epiduralni prostor, dojke i gonade. Kod limfoma bubrega valja biti oprezan kako se ne bi zamijenio za Wilmsov tumor. Periferni limfni čvorovi zahvaćeni su u 14 % slučajeva (Lanzkowsky P., 2011; Arceci JR i sur., 2006; Mardešić D i sur., 2003).

3.1.6. Dijagnostika i stupnjevanje

Nakon uzimanja anamnestičkih podataka i kliničkog pregleda bolesnika bitno je precizno i brzo dokazati ili isključiti moguću prisutnost limfoma kako bi adekvatno liječenje započelo što ranije. Kako bi se hitno isključila medijastinalna masa i eventualni perikardijalni ili pleuralni izljevi preporučuje se učiniti RTG srca i pluća. Od laboratorijskih pretraga svakako bi trebalo primarno učiniti KKS, serumske elektrolite, pretrage za procjenu jetrene i

bubrežne funkcije, koncentraciju LDH u serumu, te pretrage za utvrđivanje kontakta s virusima – HIV, hepatitis A, B i C, CMV, VZV, HSV.

Limfni čvor koji budi sumnju na limfom zahtijeva citološku punkciju, ali je nedovoljan za dijagnozu, pa je za točno postavljanje dijagnoze potreban histološki pregled bioptata limfnog čvora.

Za utvrđivanje proširenosti bolesti radi se punkcija koštane srži, lumbalna punkcija, MR i PET snimanje.

Klinički stadij NHL u djece razvrstava se najčešće u 4 stupnja prema tzv. Murphyjevom stupnjevanju odnosno stupnjevanju prema preporuci St. Jude Children's Research Hospital. Vidi Tablicu 2 (Arceci JR i sur., 2006; <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/child-non-hodgkins/HealthProfessional/page3>)

Tablica 2. Klasifikacija NHL u djece prema preporukama bolnice St. Jude Children's Research Hospital

Stupanj	Opis struktura zahvaćenih bolesti
I	Izolirana zahvaćenost jedne ekстранodalne strukture ili jednog limfnog čvora pri čemu isključujemo zahvaćenost abdomena ili medijastinuma
II	Zahvaćena jedna ekстранodalna struktura sa zahvaćenošću pripadajućih regionalnih limfnih čvorova, primarni gastrointestinalni tumor s ili bez zahvaćanja pripadajućih samo mezenterijalnih limfnih čvorova, s iste strane ošita zahvaćene dvije ili više skupine limfnih čvorova ili dvije ekстранodalne strukture sa ili bez zahvaćanja regionalnih limfnih čvorova
III	S obje strane ošita zahvaćene dvije ekстранodalne strukture ili dvije ili više skupine limfnih čvorova. Ovdje također ubrajamo primarne intratorakalne tumore (medijastinum, pleura, timus), sve proširene intraabdominalne bolesti, sve primarne paraspinalne ili epiduralne tumore bez obzira na druga mjesta
IV	Limfomom je zahvaćena koštana srž i/ili SZS

3.1.7. Liječenje

U liječenju NHL u djece najčešće se primjenjuje kombinirana ciklička kemoterapija kao glavna terapijska metoda. Limfomi su kemosenzitivni tumor koji dobro reagiraju na primjenu niza citostatika i njihovih kombinacija.

Najčešće upotrebljavani kemoterapijski protokoli u liječenju NHL-a u djece su NHL-BFM protokoli (NHL-BFM 90, NHL-BFM 95), ALL BFM IC 2009 HR i EURO-LB 02

Izbor kemoterapijskog protokola ovisi o kliničkom stadiju bolesti kao i o histološkom tipu limfoma. Intenzivnije liječenje kombinacijom brojnih različitih citostatika koristi se kod uznapredovalih stadija limfoma. U lokaliziranih B-NHL-a stadija I i II kod mlađih odraslih osoba koriste se COMP i CHOP protokoli, a liječenje traje oko 6 mjeseci. (Woessmann W i sur., 2005).

Uloga kirurškog liječenja u liječenju NHL-a u djece se ne preporuča kao inicijalni oblik liječenja, već samo u svrhu biopsije tumora, odstranjenja rezidualnog tumora i liječenja komplikacija konzervativnog liječenja (npr perforacije crijeva) (Arceci JR i sur., 2006).

Radioterapija se koristi u liječenju NHL-a u djece jer su limfomi radiosenzitivni tumori. Međutim ima ograničenu indikaciju. Te indikacije su akutne životno-ugrožavajuće komplikacije koje ne reagiraju na početnu kemoterapiju (kao npr. sindrom gornje šuplje vene), zahvaćenost SŽS u limfoblastičnih limfoma i razvoj akutne paraplegije (Lanzkowsky P., 2011).

Novi oblik liječenja B-NHL-a u djece s CD 20 pozitivnim limfocitima je primjena kimeričnog monoklonskog protutijela usmjerenog protiv CD 20 antigena – rituksimab.

Postoje tri stanja u NHL u djece koja zahtijevaju hitnu terapiju. To su sindrom gornje šuplje vene, sindrom lize tumorskih stanica i kompresija dišnih putova. Sindrom lize tumorskih stanica javlja se uslijed raspada velikog broja tumorskih stanica nakon početka kemoterapijskog liječenja te se očituje značajnim metaboličkim disbalansom (hiperfosfatemija, hipokalcemija, hiperuricemija i azotemija).

Kako bi se ublažila ili spriječila pojava sindroma lize tumorskih stanica obavezna je primjena velike količine tekućine intravenski, oralno alopurinola te supstitucija drugih elektrolita uz forsiranu diurezu bolesnika koji prima kemoterapiju, ponekad je potrebno primijeniti i lijek razburikaza (Lanzkowsky P., 2011).

3.1.8. Prognoza

Petogodišnje preživljenje u djece mlađe od 15 godina oboljele od NHL-a se dramatično poboljšalo pa je tako poraslo s 45% u 1975-1978 na 88 % u 1999-2000. godini. Međutim, petogodišnje preživljenje adolescenata u dobi između 15 i 19 godina poraslo je, ali na nižu vrijednost nego u mlađih, i to na 77%. Razlog tome je veći udio DLBCL u toj populaciji. Uvođenje visokih doza metotreksata u terapijske protokole B-staničnog NHL značajno je utjecalo na preživljenje.

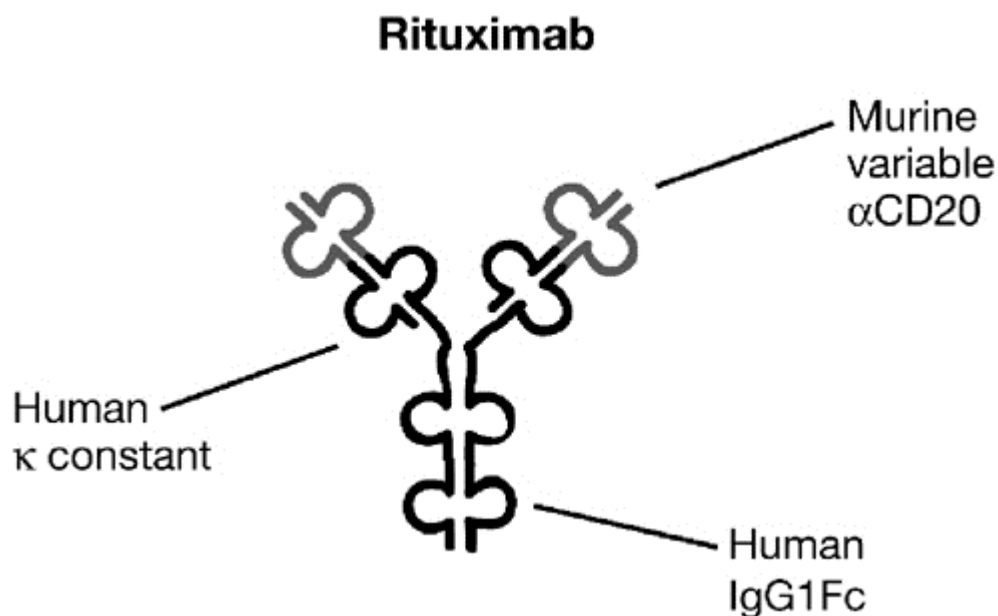
Sveukupno preživljenje za T - NHL je 70–75%, 80–85% za B-NHL (u rasponu od 100% za stadij bolesti I i II do 60–70% za stadij IV sa zahvaćenošću SŽS) i 60% za ALCL. (Smith MA i sur. 2010, Arceci JR i sur., 2006)

3.2. NOVI LIJEKOVI U LIJEČENJU NHL – MONOKLONSKA PROTUTIJELA

3.2.1 Rituksimab

3.2.1.1. Definicija

Rituksimab je IgG1 kapa monoklonsko protutijelo usmjereno protiv CD20 antigena, molekule koja se nalazi isključivo na površini B-limfocita. Na europskom tržištu i u Hrvatskoj pod tvorničkim imenom Mabthera®, Hoffmann-La Roche AG (FrancetiPć I i sur. 2010.).

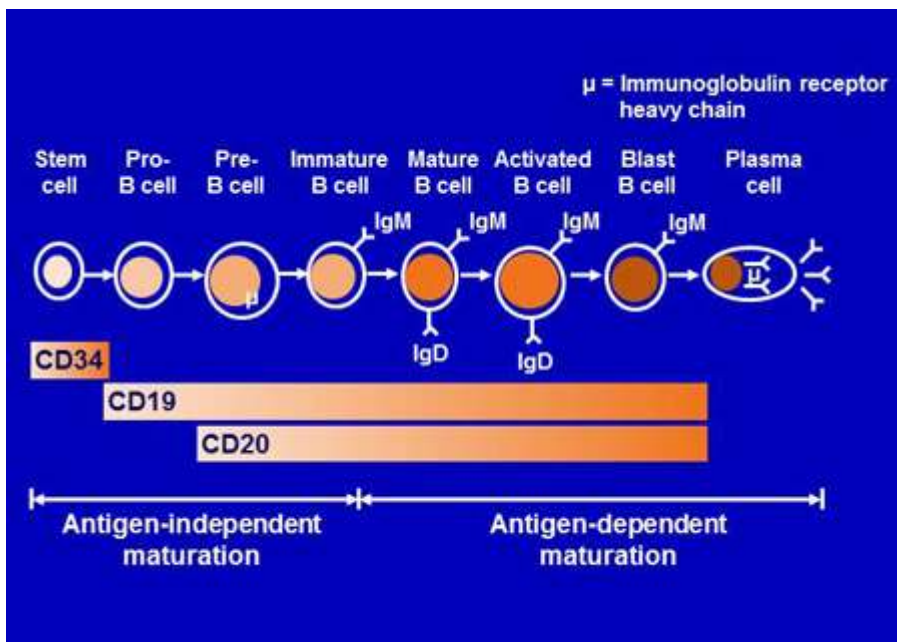


Slika 1. Shema građe rituksimaba

(preuzeto s <http://www.nature.com/onc/journal/v22/n47/images/1206939f1.jpg>)

Građen je od ljudske konstantne regije (Fc) i mišje varijabilne regije (Fv) što mu daje optimalna farmakokinetička svojstva (Cvetkovic RS, Perry CM, 2006), vidi Sliku 1. Znajući da CD20 normalno ne cirkulira slobodno u plazmi, ne

odbacuje se niti internalizira, predstavlja odličnu metu za ciljanu terapiju. Nije izražen na matičnim stanicama, ranim limfoblastima i zrelim plazma stanicama. Fiziološka uloga CD20 molekule još uvijek nije sasvim poznata, ali se smatra da je važna za razvoj i diferencijaciju B-limfocita. Vidi Sliku 2. Njegova primjena se iz godine u godinu povećava širom svijeta, a spektar kliničkih indikacija proširen je i na druge tipove B-staničnog limfoma. Rituksimab uništava CD20 pozitivne stanice slijedećim mehanizmima: citotoksičnošću ovisnom o protutijelima (ADCC), citotoksičnošću posredovanom komplementom (CDC), indukcijom apoptoze, a pojačava i citotoksičnu aktivnost nekih lijekova (povećanje kemosenzitivnosti) i radioterapije. Novija istraživanja upućuju na to da rituksimab ima ulogu i u pasivnoj imunizaciji posredovanoj protutijelom (Lim SH et al, 2010).



Slika 2. CD20 je izražen samo na zrelim i prekursorskim B-stanicama

Preuzeto s http://www.mabthera.com/fmfiles/re7304001/20121003_Fig_1.png

3.2.1.2. Mehanizam djelovanja

Monoklonsko, kimerično anti – CD20 protutijelo iskazuje širok spektar mehanizama djelovanja prikazan na Slici 3.

CITOTOKSIČNOST OVISNA O KOMPLEMENTU (CDC)

Rituksimab aktivira kaskadu komplementa, vežući C1q (Reff ME i sur., 1994). Ključna uloga komplementa u eliminaciji tumorskih stanica pokazana je „in vitro“ te „in vivo“ na miševima kojima je onemogućena aktivacija komplementa. (Golay J i sur., 2006). Liza svježe izoliranih tumorskih stanica posredovana komplementom, za razliku od uništavanja tumorskih stanica rituksimabom putem ADCC-a i apoptoze, ponajprije ovisi o tipu limfoma. Najjača je kod folikularnog limfoma, umjerena kod DLBCL-a i limfoma plaštenih stanica, a najslabija kod KLL, što korelira s različitim stopom odgovora na monoterapiju rituksimabom kod navedenih tipova limfoma (Manches O i sur., 2003). Navedeni utjecaj CDC-a ponajprije ovisi o stupnju ekspresije CD20 na različitim tipovima NHL-a. (van Meerten T i sur., 2006).

APOPTOZA

Na različitim staničnim linijama pokazano je da rituksimab vezanjem za CD20 receptor može izravno uzrokovati apoptozu, neovisno o komplementu i ADCC-u. Međutim, izravni apoptotski učinak rituksimaba je skroman i vrlo varijabilan, ovisno o vrsti stanične linije na koju se primjenjuje. Većina studija koja je ispitala rituksimabom uzrokovanu apoptozu sugerira mitohondrijski put apoptoze (Shan D i sur., 2000). Međutim, unutarstanični putovi kojima rituksimab dovodi do apoptoze vrlo su heterogeni, međusobno isprepleteni i još uvijek nepotpuno definirani. Eksperimentalno je pokazano da rituksimab i

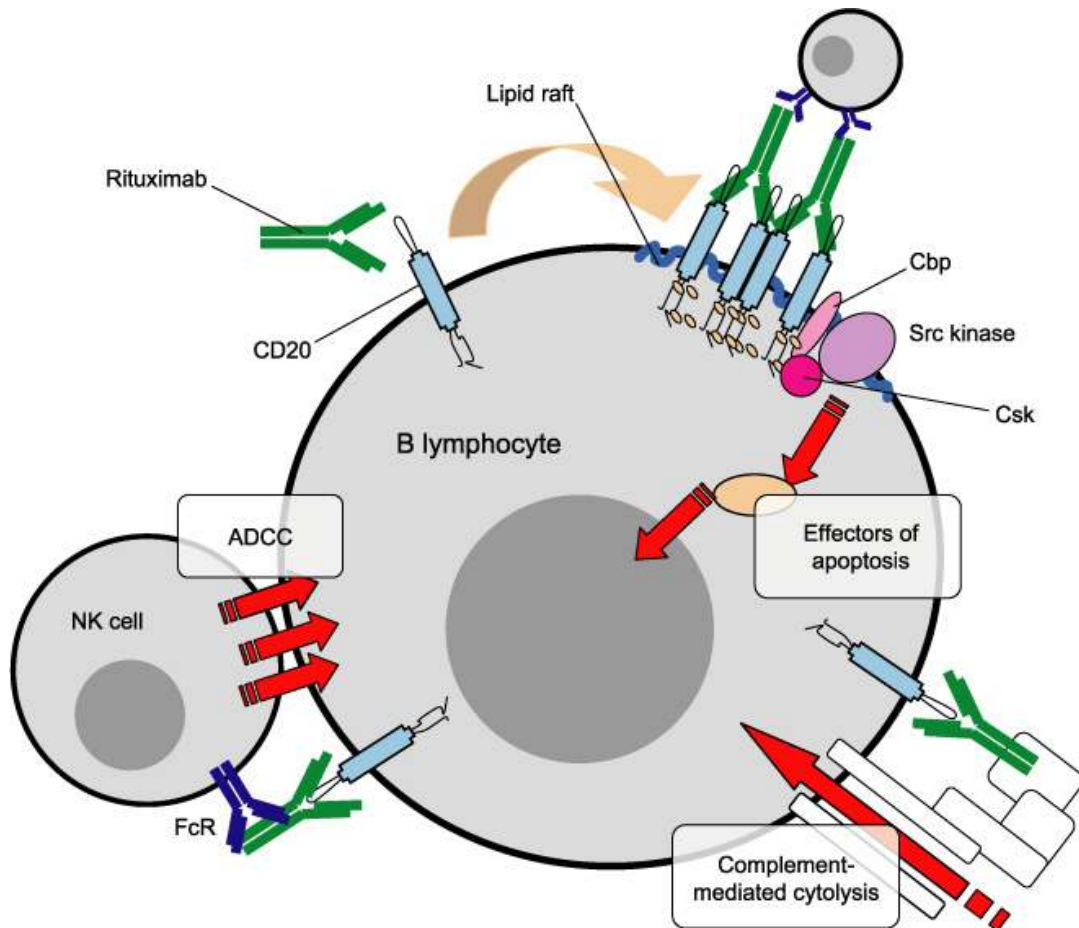
neka druga anti-CD20 protutijela uzrokuju apoptozu i mehanizmima neovisnim o mitohondrijima i kaspazama (Stanglmaier M i sur., 2004).

POVEĆANJE KEMOSENZITIVNOSTI

Citostatici uzrokuju apoptozu aktivirajući unutarnji i vanjski put apoptoze aktivacijom p53 gena. U „in vitro“ studijama pokazano je da rituksimab može pojačati citotoksično djelovanje nekih kemoterapeutika često korištenih u terapiji limfoma kao što su doksorubicin, fludarabin i cisplatin (Glennie MJ i sur., 2007.).

VAKCINACIJSKI UČINAK

Postoje novi podaci koji ukazuju na mogućnost da CD20-protutijela induciraju protutumorski imuni odgovor, odnosno imaju učinak sličan cijepljenju. U prilog tome idu duge remisije kod nekih pacijenata nakon liječenja ovim protutijelom (Hilchey SP i sur., 2009). Dokazano je da stanice limfomske stanične linije prekrivene rituksimabom omogućuju „cross-priming“ tumorskih antigena putem humanih dendritičkih stanica i izazivaju odgovor CD8 T-limfocita in vitro (Selenko N i sur., 2001). Abés i suradnici pokaza li su kako anti-CD20 protutijelo u modelu mišjeg limfoma s ekspresijom CD20 u imunokompetentnih miševa, inducira zaštitu putem imunološkog odgovora posredovanog T-limfocitima (Abés R i sur., 2010).



Slika 3. Mehanizmi djelovanja rituksimaba

3.2.1.3. Rituksimab i liječenje NHL u djece

U odraslih rituksimab se uspješno primjenjuje u liječenju svih B-staničnih limfoma (Coiffier i sur., 2002). Randomizirana, kontrolirana klinička ispitivanja o primjeni rituksimaba uz standardne kemoterapijske protokole nisu objavljena. U literaturi postoje prikazi slučaja i prikazi serija. Bilić E. i sur 2010. objavili su seriju od 7 pacijenata kojima je po prvi puta uz modificirani protokol NHL-BFM 95 pridružen rituksimab.

Malo je objavljenih radova o težim nuspojavama u djece na terapiju rituksimabom. Možemo reći da se još uvijek procjenjuje uloga rituksimaba u liječenju B-NHL u djece.

3.2.2. Ostala monoklonska protutijela u liječenju NHL

Od svih monoklonskih protutijela u liječenju NHL-a najviše kliničkih podataka postoji za rituksimab (anti CD20). Međutim u tijeku je razvoj novih monoklonskih protutijela u biološkoj terapiji limfoma. Koncepti koji najviše obećavaju u budućoj biološkoj terapiji limfoma su koncept pojačane citotoksičnosti tumor – specifičnih protutijela, ciljno djelovanje na imunomodulatorne molekule i kombinacije antitijela. (Beck A i sur., 2010).

Na više načina može se pojačati citotoksičnost antitijela. Jedno od njih je stvaranje bisferičnih antitijela. Ta antitijela su usmjerena protiv dva ciljna antigena i to tumorski antigen (kao što je CD 19) i molekula izražena na citotoksičnim stanicama kao što je CD3. CD19/CD3 bisferična antitijela dolaze u bliski kontakt s citotoksičnim T stanicama i tako povećavaju ubijanje limfomskih stanica.

Blinatumomab, bisferično antitijelo ciljajući CD3 i CD19 induciralo je regresiju tumora u odraslih bolesnika s B-NHL-om (Bargou i sur., 2008). Bisferična antitijela mogu biti usmjerena na dva antigena limfomskih stanica. Takav primjer su antigeni na CD 20 i CD 74 koji su uspješno izazvali smrt tumorske limfomske stanice. Preuredba antitijela je druga važna tehnika poboljšavanja citotoksičnosti protutijela poboljšavajući vezanje Fc receptora. Ona povećava antitijelima posredovanu citotoksičnost i Fc receptorom posredovanu fagocitozu i prezentaciju antigena.

Drugi oblik je povezivanje radionuklida, imunotoksina s antitijelom kako bi se povećala klinička učinkovitost. Primjer toga je brentuksimab vendotin

Nedavno objavljeni rezultati o protutijelima koja ciljaju imunoregulacijske molekule kao npr anti-CTLA-4 (Ipilimumab) pokazali su se klinički uspješnima. Slijedeća mogućnost je složeno liječenje antitijelima prema dva ili više antigena limfoma ili prema antigenu limfoma i imunomodulatornim molekulama, koja može dovesti do terapijskog poboljšanja. Terapijska protutijela se obično daju u kombinaciji s kemoterapijom.

4. CILJEVI RADA

Cilj rada je utvrditi ukupno preživljenje djece oboljele od B staničnog ne Hodgkinovog limfoma liječenih u Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb u razdoblju od 1998. do 2012. godine.

Također cilj nam je utvrditi razliku u preživljenju pacijenata sa stadijima bolesti I i II u usporedbi s onima stadija III i IV.

U literaturi nema mnogo podataka o liječenju djece oboljele od B – NHL monoklonskim protutijelom – rituksimabom pridruženom standardnim kemoterapijskim protokolima, te utjecaj rituksimaba na preživljenje. Stoga je jedan od glavnih ciljeva ovog rada također bilo odrediti utjecaj pridruživanja rituksimaba standardnim kemoterapijskim protokolima na preživljenje oboljele djece, te je li razlika u preživljenju u onih kojima je protokolu pridružen rituksimab statistički značajna u usporedbi s djecom liječenom samo uobičajenim kemoterapijskim protokolima.

5. ISPITANICI I METODE

U istraživanje je uključeno 36 djece, u dobi od 3 do 17 godina, oboljelih od B staničnog ne Hodgkinovog limfoma u razdoblju od 1998. do 2012. godine. Sva navedena djeca liječena su, praćena i vođena od strane liječnika u Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Podaci o pacijentima prikupljeni su iz arhive Zavoda. Iz medicinske dokumentacije prikupljeni su opći podaci o pacijentima – dob, spol; podaci o bolesti – datum dijagnoze, točan podtip B NHL-a, klinički stadij, primarno sijelo, eventualna prisutnost blasta u koštanoj srži; podaci o liječenju – protokol kojim su liječeni, eventualno korištenje rituksimaba u terapiji te ishod liječenja.

Od ukupnog broja djece 8 je bilo djevojčica, a 28 dječaka. U skupini iznad 10 godina bilo je 17 djece, a u onoj do 10 godina (uključujući i 10 godina) ih je bilo 19. Vidi Tablicu 3.

Tablica 3. Podjela pacijenata po dobi i spolu

Dob	Ž	M	Ukupno po dobi
≤ 10	5	14	19
> 10	3	14	17
Ukupno po spolu	8	28	

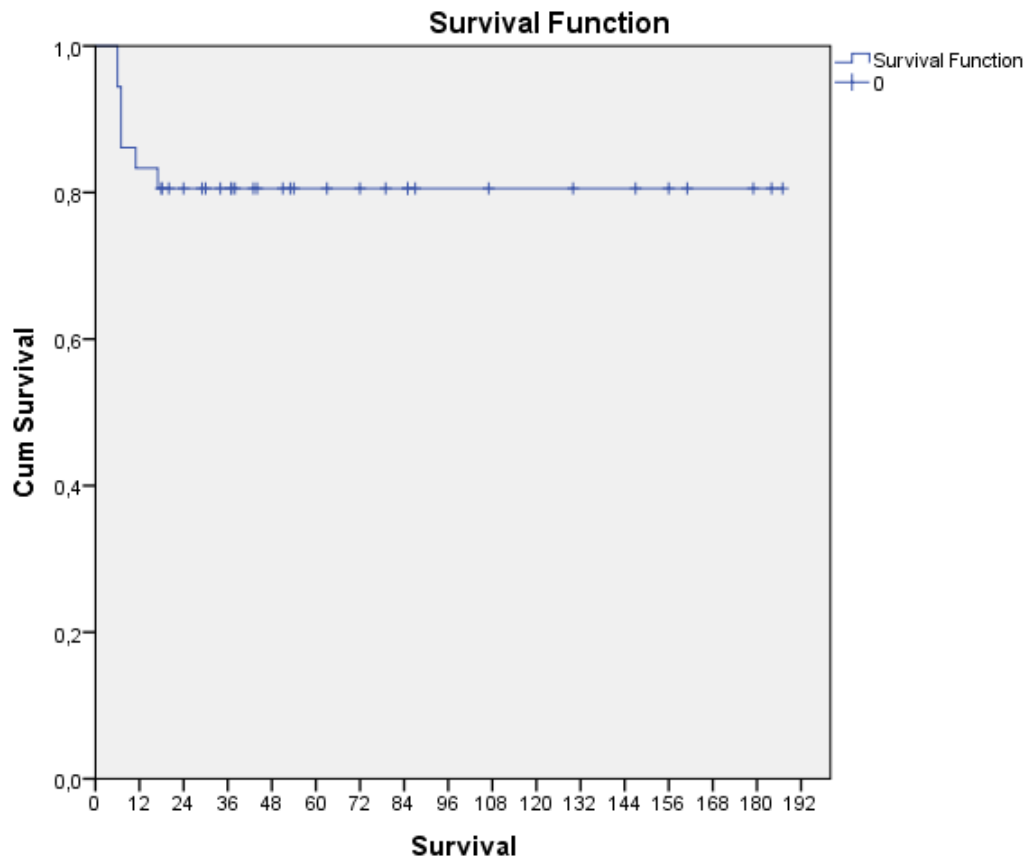
Sva djeca liječena su nekim od uobičajenih protokola, a to su NHL-BFM 90, NHL-BFM 95, ALL BFM IC 2009 HR i EURO-LB 02

(http://www.cancer.gov/clinicaltrials/search/view?version=healthprofessional&cdrid=77645#Outline_CDR0000077645).

Preživljenje bolesnika prikazano je Kaplan-Meierovom metodom (Kaplan E, Meier P, 1958). Za usporedbu preživljenja između pojedinih skupina i podskupina, upotrebljavao se log-rank test. Statistička analiza je učinjena pomoću licenciranog statističkog programa *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*.

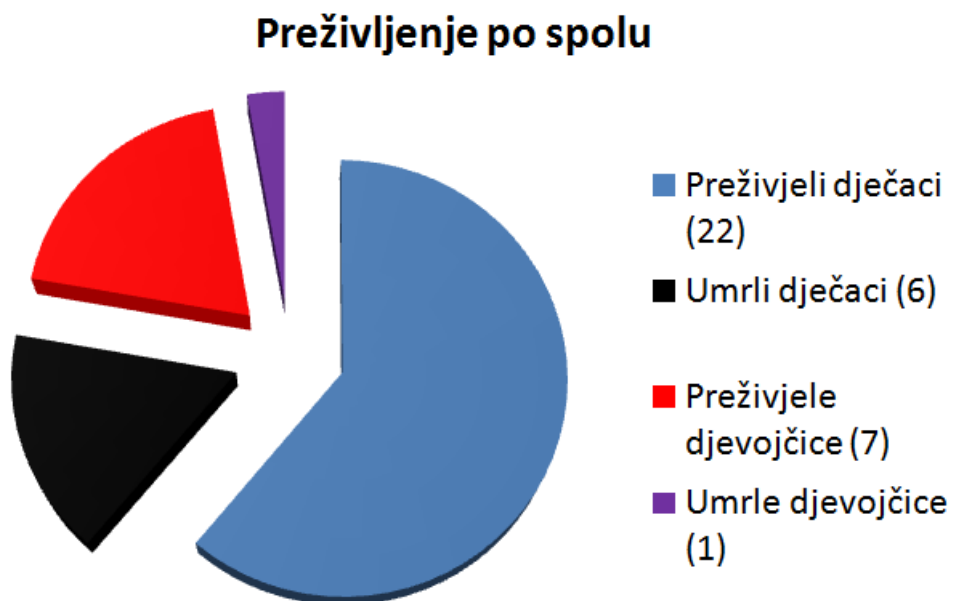
6. REZULTATI

Od ukupno 36 djece oboljele od B-NHL, a praćene u ovom radu, preživjelo je 29 djece što znači da je ukupno preživljenje 80,6 %, što je prikazano na Slici 4.

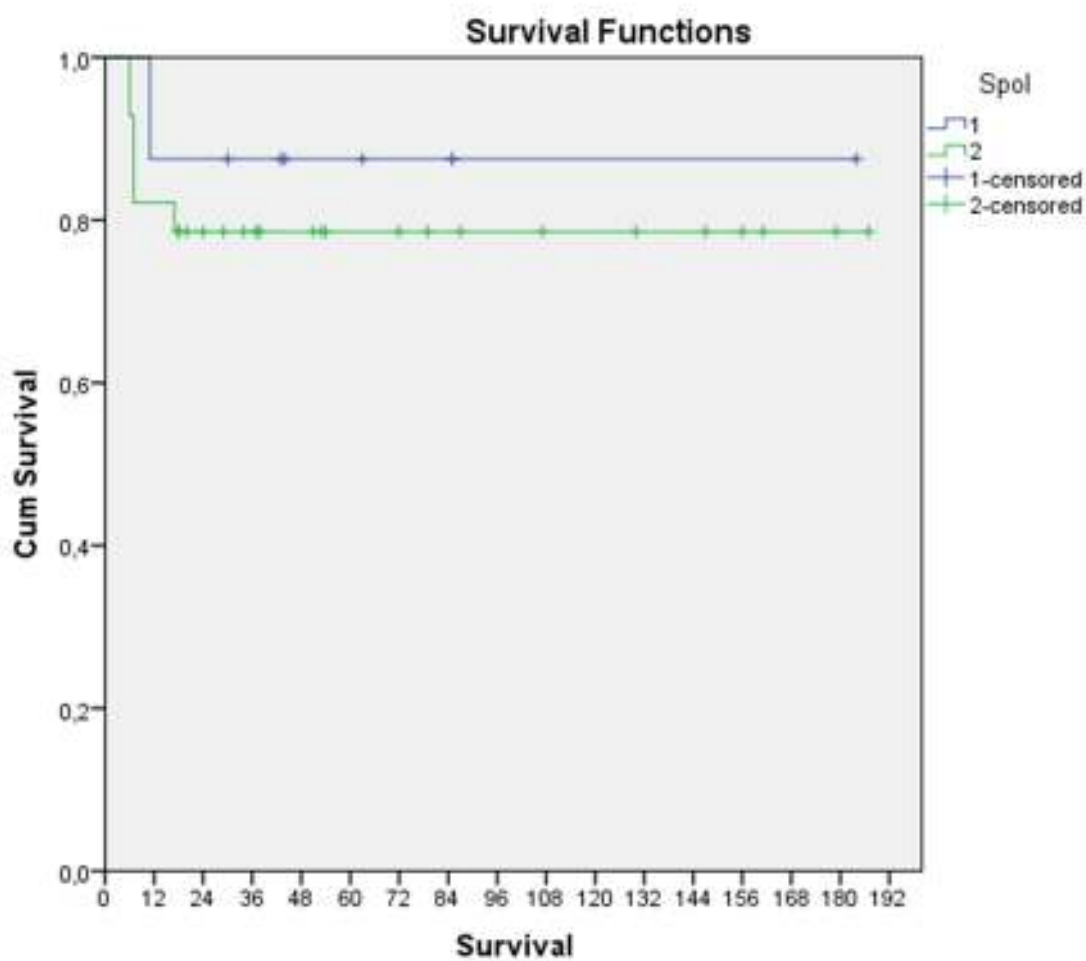


Slika 4. Grafički prikaz ukupnog preživljenja djece oboljele od B-NHL

Usporedbom preživljenja djece oboljele od B-NHL prema spolovima utvrđena je prednost ženskog spola - 87,5% naspram muškog - 78,6%, ali ta razlika nije dostigla statističku značajnost. Raspodjela preživljenja po spolovima prikazana je na Slikama 5 i 6.

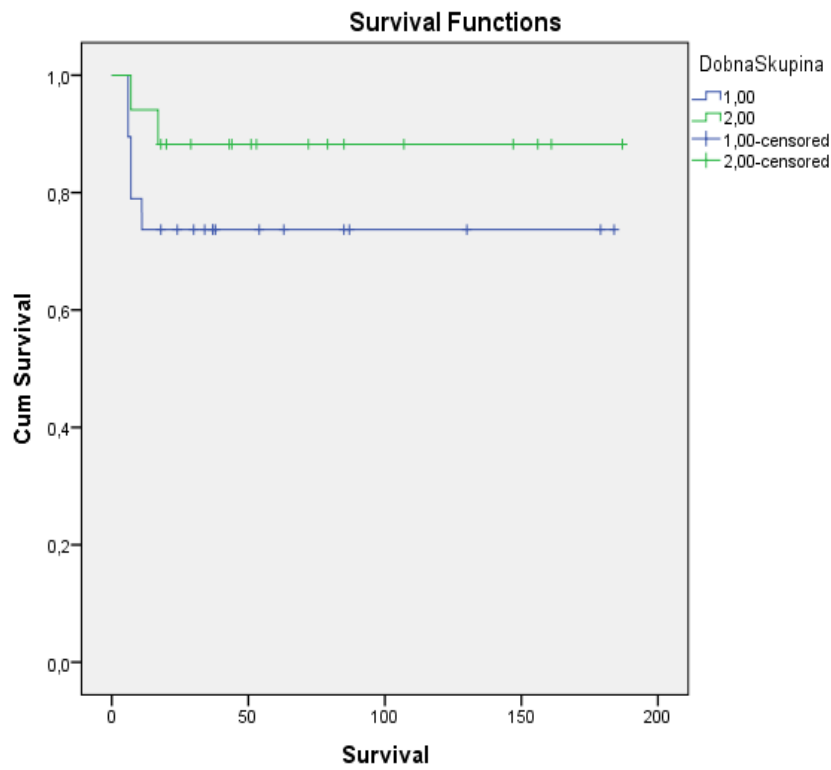


Slika 5. Grafički prikaz preživljenja po spolu djece oboljele od B-NHL-a



Slika 6. Kaplan Meier krivulja preživljenja po spolu djece oboljele od B-NHL-a

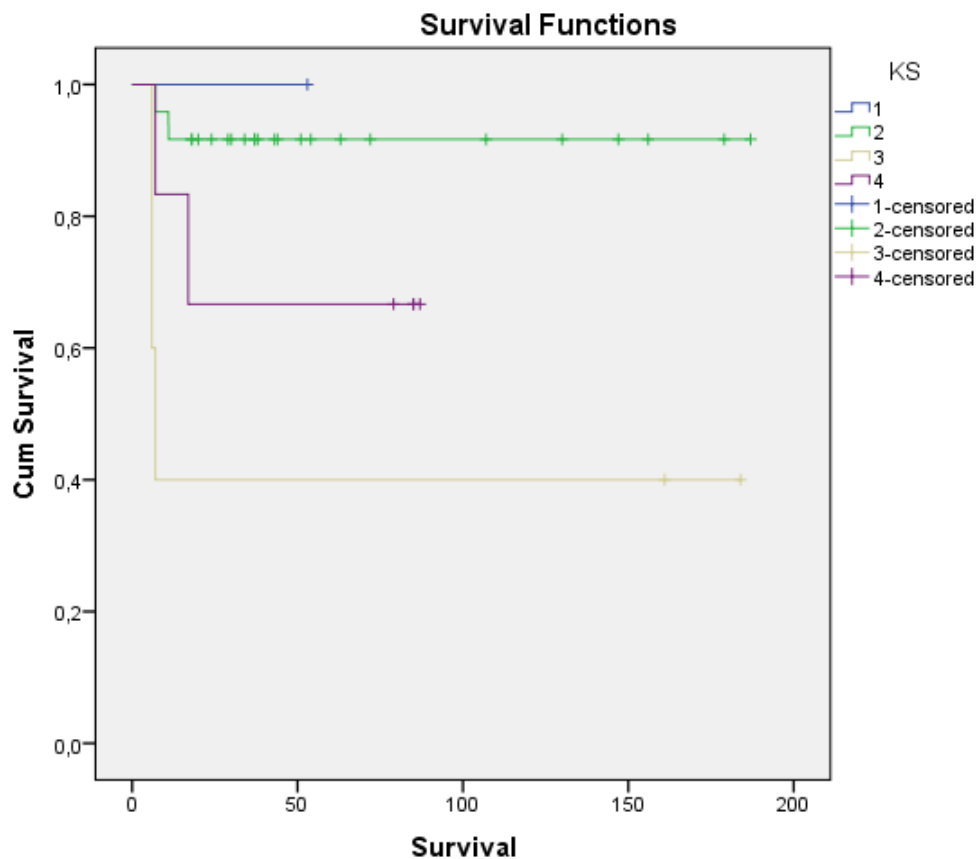
Preživljenje djece po dobi u korist je starijih od 10 godina s preživljenjem od 88,2 % prema 73,7 % u dobi od 10 godina i manje. To je prikazano na Slici 7.



Slika 7. Grafički prikaz preživljenja djece pojedinih dobnih skupina gdje je s brojem 1 označena dobnja skupina starih 10 godina i manje, a brojem 2 ona u kojoj su djeca starija od 10 godina

Rezultati preživljenja sukladno kliničkom stadiju pokazuju da je u skupini oboljele djece stadija I najbolje preživljenje, a u skupini pacijenata stadija III najlošije. U usporedbi preživljenje stadija II i III postignuta je statistički značajna razlika u preživljenju u korist djece oboljele od B-NHL stadija II naspram onih oboljelih od stadija III ($p = 0,001$).

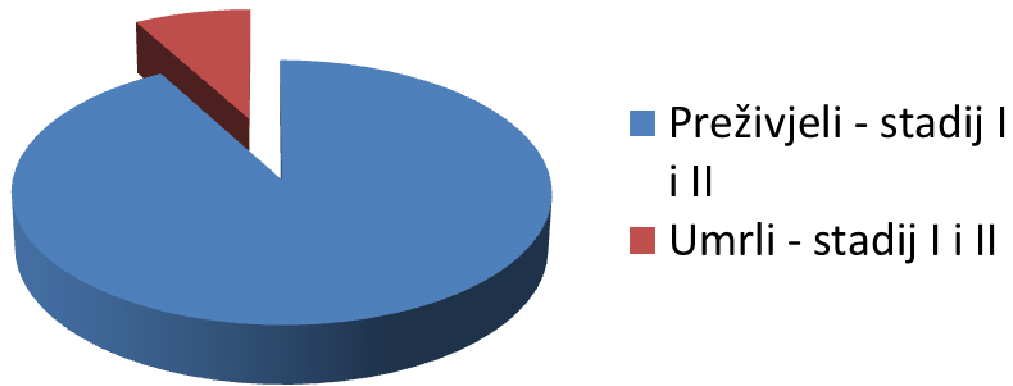
Raspodjelu preživljenja prema stadijima pokazuje Slika 8.



Slika 8. Preživljenje djece s B-NHL prema kliničkom stadiju bolesti (KS = klinički stadij)

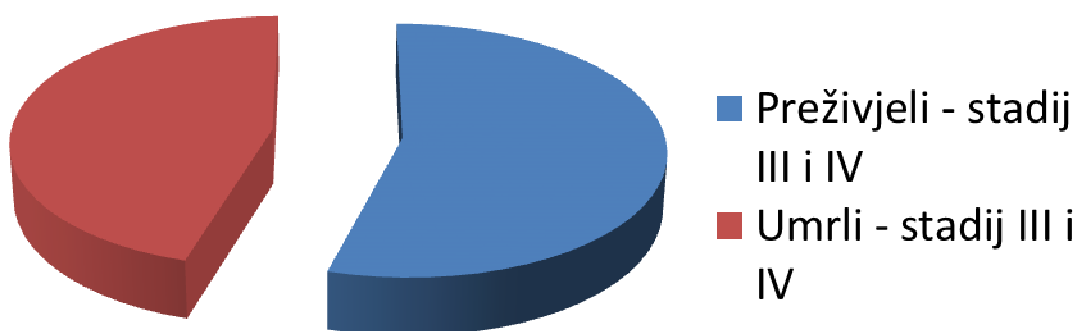
Pregledniji rezultati dobiveni su razvrstavanjem djece stadija I i II u grupu 1, te stadija III i IV u grupu 2. Pri tome je razlika u preživljenju očekivano znatno bolja u nižim stadijima bolesti – čak 92,0 % (Slika 9), dok je u onih stadija III i IV samo 54,5 % (Slika 10). Dobiveni rezultati pokazuju statističku značajnost ($p = 0,006$) i prikazani su na Slici 11.

Preživljenje za kliničke stadije I i II

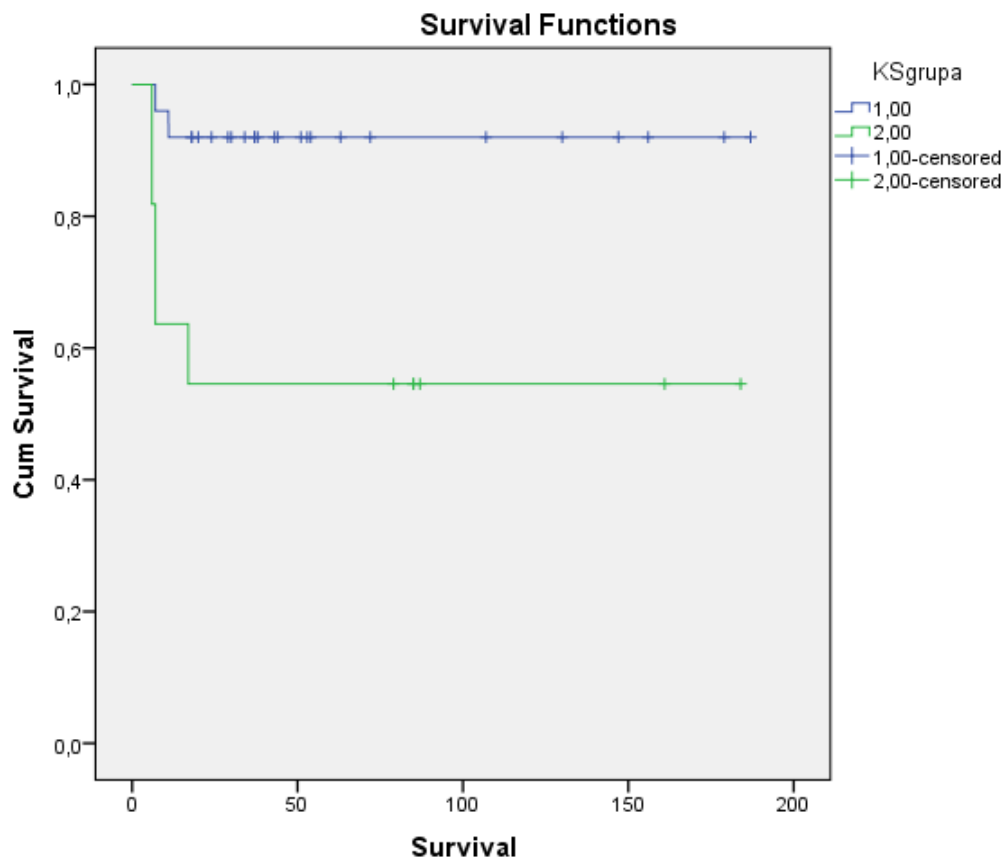


Slika 9. Preživljenje djece s B-NHL za kliničke stadije I i II

Preživljenje za kliničke stadije III i IV

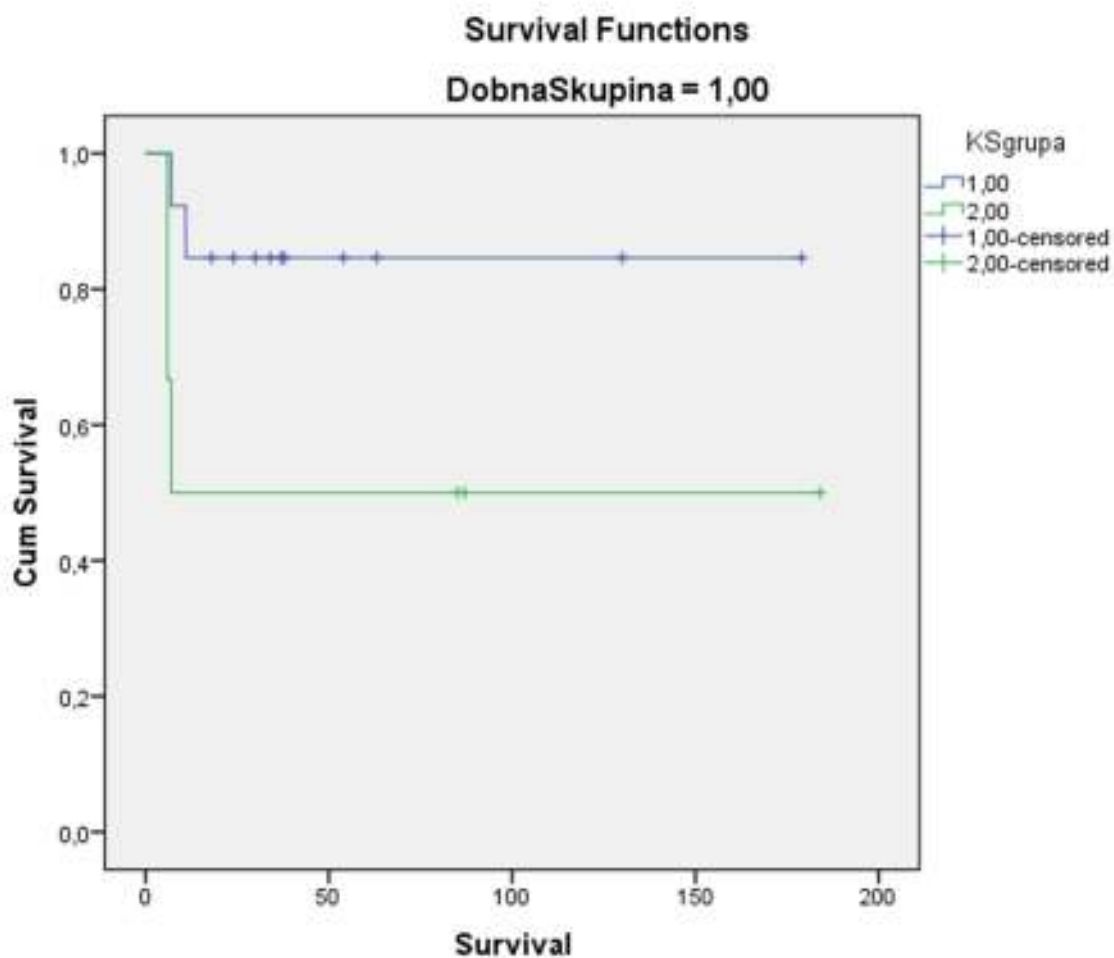


Slika 10. Preživljenje djece s B-NHL za kliničke stadije III i IV



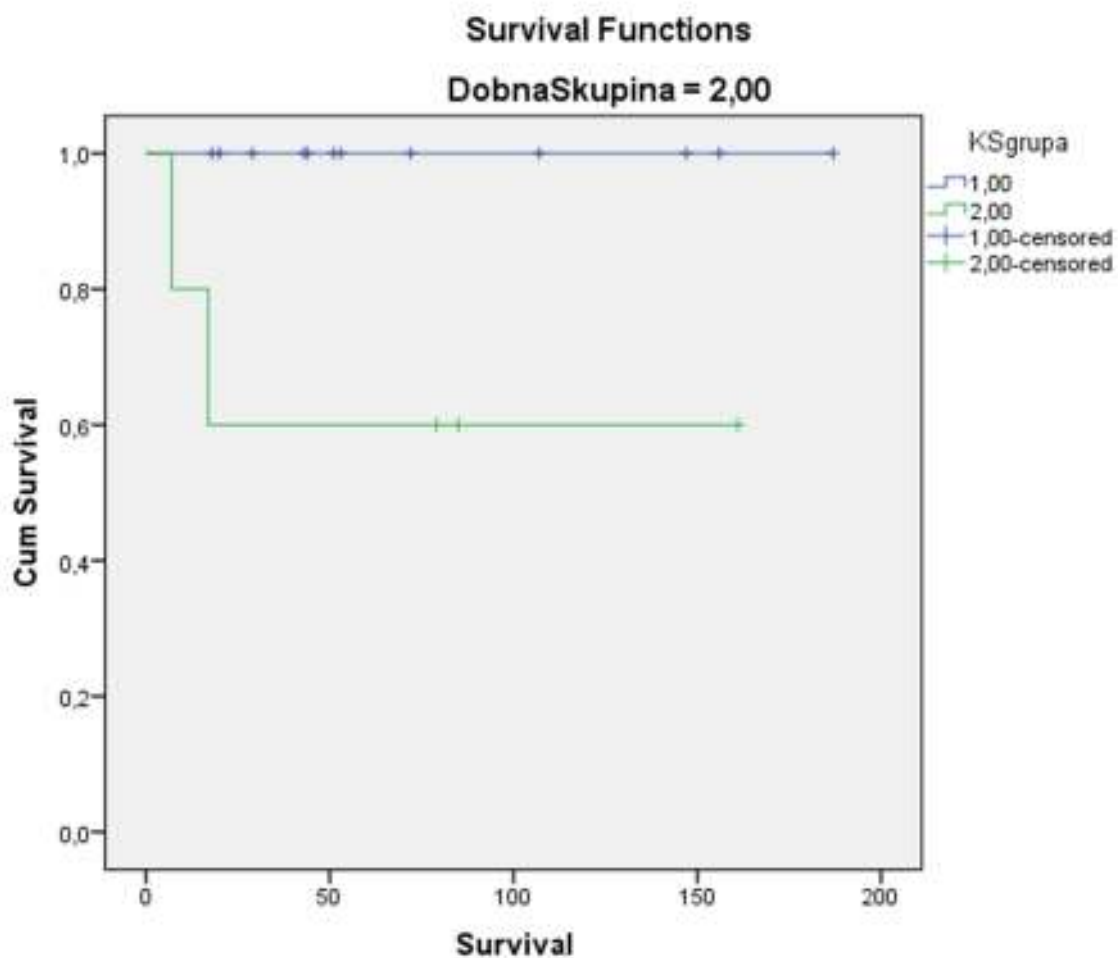
Slika 11. Preživljenje djece s B-NHL razvrstanih prema kliničkom stadiju u grupe 1 – stadij I i II, u grupu 2 – stadiji III i IV

Prikaz preživljenja djece oboljele od B-NHL dobne skupine 1 (≤ 10) sukladno grupama kliničkog stadija (grupa 1 - stadij I i II, grupa 2 - stadij III i IV) nalazi se na slici 12. Ona djeca razvrstana u skupinu 1 prema kliničkom stadiju imala su bolje preživljenje (84,6 %) naspram onih u grupi 2 (50,0 %), ali ono nije statistički značajno.



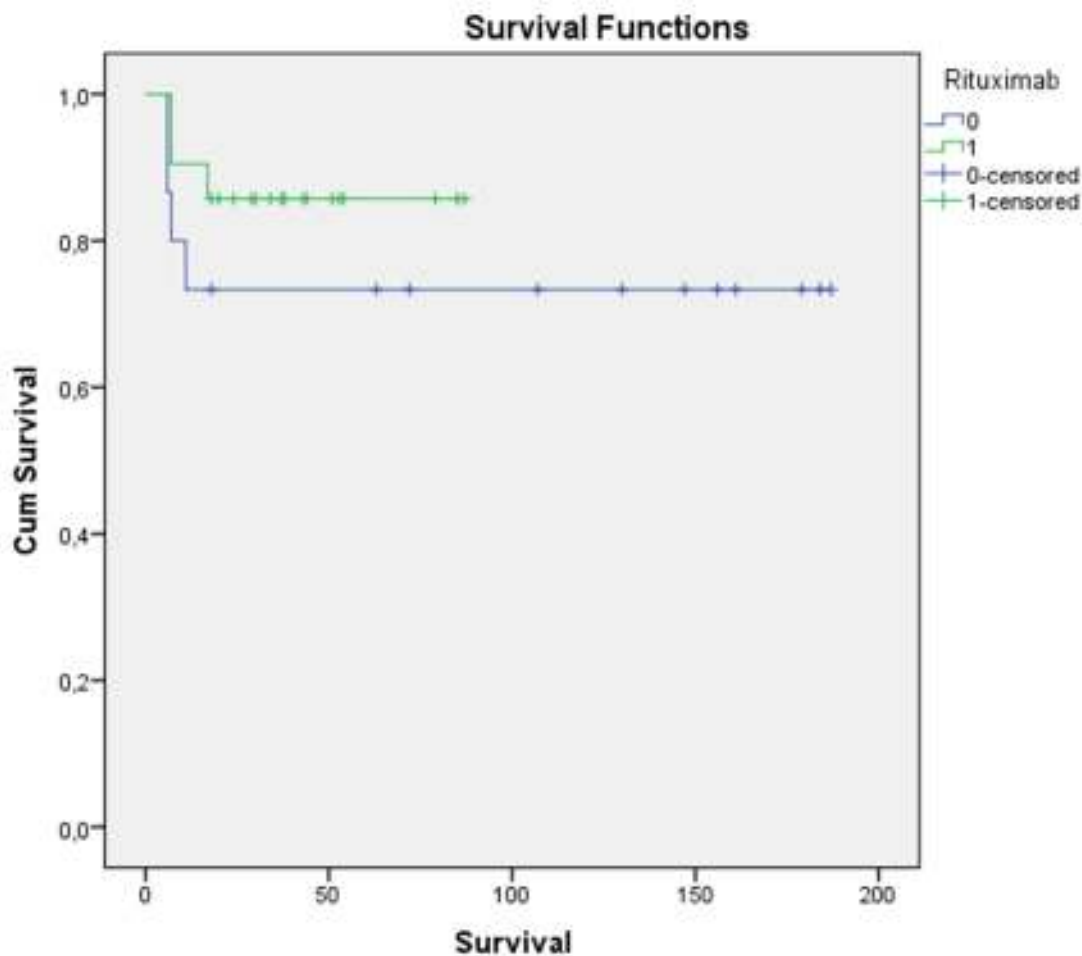
Slika 12. Preživljenje djece s B-NHL dobne skupine 1 (≤ 10) razvrstanih prema kliničkom stadiju u grupe 1 – stadij I i II i grupu 2 – stadiji III i IV

Djece oboljele od B-NHL dobne skupine 2 (> 10) također su podijeljena sukladno grupama kliničkog stadija (grupa 1 - stadij I i II, grupa 2 - stadij III i IV) – Slika 13. Ona djeca razvrstana u skupinu 1 prema kliničkom stadiju imala su također bolje preživljenje (100,0 %) naspram onih u grupi 2 (60,0 %), ali ni ono nije statistički značajno.



Slika 13. Preživljenje djece s B-NHL dobne skupine 2 (> 10) razvrstanih prema kliničkom stadiju u grupe 1 – stadij I i II i grupu 2 – stadiji III i IV

Rezultati su pokazali da djeca koja su uz standardne kemoterapijske protokole uzimala rituksimab imaju bolje preživljenje od onih koja nisu i to 85,7 % naspram 73,3 %. To je prikazano Slikom 14.



Slika 14. Preživljenje djece s B-NHL razvrstanih prema tome jesu li uz standardne kemoterapijske protokole uzimala rituksimab ili ne (0 – nisu uzimali rituksimab, 1 – uzimali su rituksimab)

U Tablicama 4 i 5 prikazano je preživljenje djece, koja jesu odnosno nisu uzimala rituksimab uz standardne kemoterapijske protokole, prema dobnim skupinama odnosno skupinama kliničkog stadija. Prema tome u Tablici 4 vidimo da najbolje preživljenje imaju djeca koja su uzimala rituksimab, a starija su od 10 godina (90 %), dok je najslabije preživljenje u onih koja nisu uzimala rituksimab, a stara su 10 godina i manje (62,5 %). U Tablici 5 jasno vidimo da djeca koja nisu uzimala

rituksimab, a kliničkog su stadija III ili IV imaju slabo preživljenje (40 %), dok je najbolje u onih kliničkog stadija I i II koja su uzimala rituksimab (93,3 %).

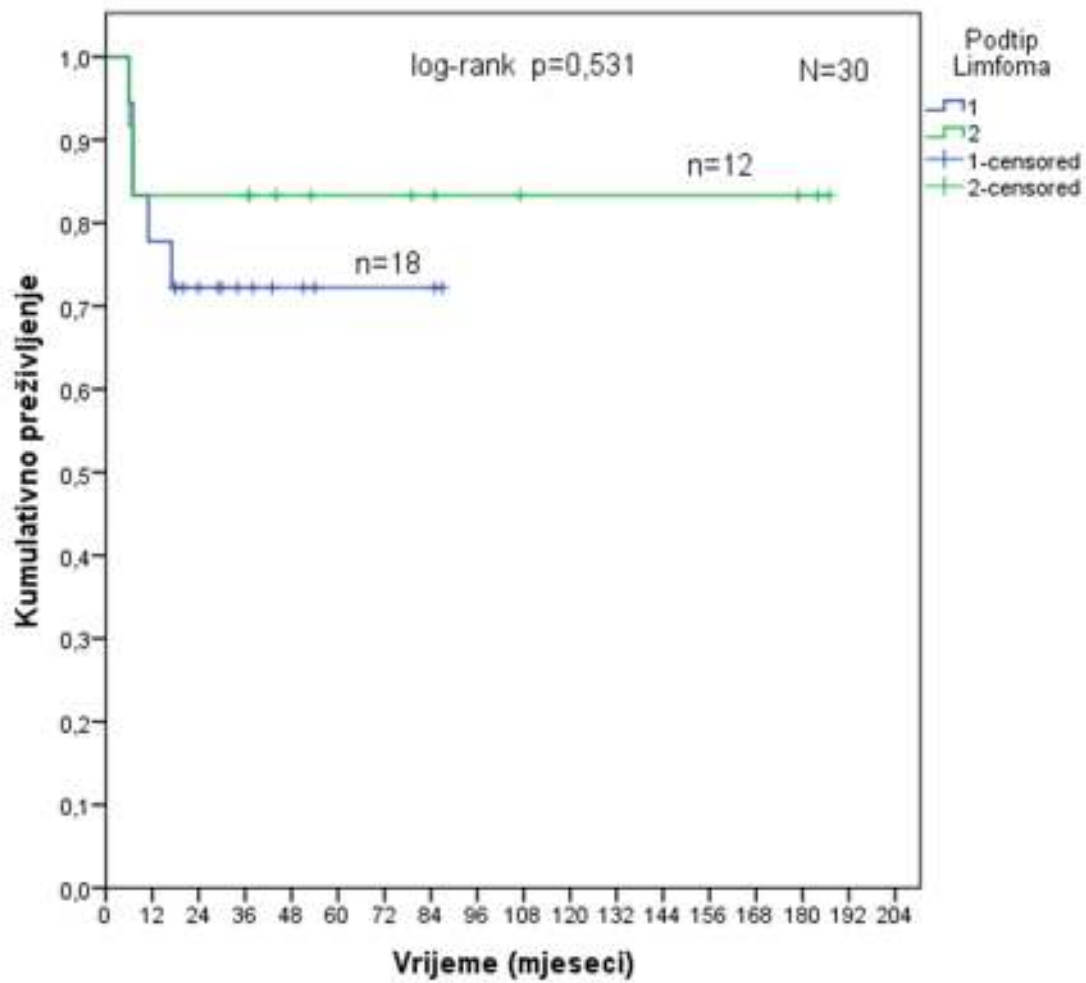
Tablica 4. Tablica pokazuje razliku u preživljenju djece koja se uzimala rituksimab (1) naspram onih koji nisu (0) prema dobnim skupinama (1= ≤ 10, 2 = >10)

Rituximab	Dobna skupina	Djeca (n)	Broj preživjele djece	Preživljenje (%)
0	1	8	5	62,5
	2	7	6	85,7
Ukupno		15	11	73,3
1	1	11	9	81,8
	2	10	9	90
Ukupno		21	18	85,7

Tablica 5. Tablica pokazuje razliku u preživljenju djece koja se uzimala rituksimab (1) naspram onih koji nisu (0) prema skupinama kliničkog stadija (1 – I i II, 2 – III i IV)

Rituximab	Skupina kliničkog stadija	Djeca (n)	Broj preživjele djece	Preživljenje (%)
0	1	10	9	90
	2	5	2	40
Ukupno		15	11	73,3
1	1	15	14	93,3
	2	6	4	66,7
Ukupno		21	18	85,7

Uspoređujući preživljenje pacijenata prema podtipu B-NHL limfoma isključili smo one koji su oboljeli od folikularnog i limfoblastičnog limfoma zbog malog broja bolesnika, tako da su uspoređivani samo Burkitt i Burkitt like limfomi naspram onih difuznog B velikostaničnog. Rezultati govore u prilog činjenice da je preživljenje difuznih B velikostaničnih naizgled bolje, ali medijan praćenja nije dosegnut niti za jednu skupinu. To je prikazano na slici 15.



Slika 15. Preživljenje pacijenata prema podtipu B-NHL limfoma. Brojem 1 označeni su Burkitt i Burkitt like limfomi, a brojem 2 difuzni B velikostanični limfomi.

7. RASPRAVA

Limfomi u pedijatriji čine 10 % svih malignih bolesti u djece. Otprilike 60 % su B – staničnog porijekla. Među B-NHL najčešći su podtipovi limfoma Burkittov limfom, pa Burkitt like i DLBCL.

Ovo istraživanje učinjeno je na uzorku od 36 djece, s rasponom dobi od 3 do 17 godina, s dijagnozom B staničnog ne Hodgkinovog limfoma u razdoblju od 1998 do 2012 godine u Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

U našoj seriji bolesnika sveukupno preživljenje oboljelih od B-NHL je 80,6 %. Sa sadašnjim kemoterapijskim protokolima prema literaturnim podacima sveukupno preživljenje djece s limfomima je između 80 i 90 % u što se uklapaju i rezultati dobiveni u našem istraživanju (Reiter A i sur. 2007; Meyer-Wentrup F i sur. 2013).

Incidencija bolesti prema spolovima iznosi u literaturi 2-2,5:1 (Lanzkowsky P. 2011; Arceci RJ i sur. 2006), a i u našoj seriji bolesnika prevladavaju oboljeli dječaci. Preživljenje prema spolu u našem istraživanju pokazuje bolju prognozu u djevojčica, no ne nalazimo statistički značajnu razliku. Razlog za to može biti mali broj bolesnika u ispitivanju.

Rezultati naše serije bolesnika pokazali su da djeca u dobi 10 godina i mlađa imaju lošiju prognozu od starije, no u literaturnim podacima pronađeni su i oprečni podaci s boljom prognozom mlađoj dobi bolesnika (Smith MA i sur. 2010).

Kod prikaza preživljenja sukladno kliničkom stadiju dobiveni su uglavnom očekivani rezultati. Pri tome je najbolje preživljenje u skupini bolesnika stadija I, a najslabije preživljenje imaju djeca stadija III. Činjenicu da najslabije

preživljenje nije u djece stadija IV, već u onih stadija III objašnjavamo malim brojem djece uključene u istraživanje. Usporedivši preživljenje stadija II i III postignuta je statistički značajna razlika u preživljenju u korist djece oboljele od B-NHL stadija II naspram onih stadija III ($p = 0,001$). Statistički značajna razlika u preživljenju dobivena je i usporedbom preživljenja skupina 1 i 2 kliničkih stadija pri čemu skupina 1 odgovara kliničkim stadijima I i II, a skupina 2 stadijima bolesti III i IV ($p = 0,006$). Klinički stadij bolesti bitan je prognostički čimbenik i koristan je u predviđanju tijeka bolesti i preživljenju bolesnika.

Podjelom djece na podtip limfoma utvrdili smo da je bolje preživljenje za DLBCL nego za Burkitt i Burkitt like limfome. Za folikularne i limfoblastične limfome ne možemo donositi zaključke jer su sva djeca tih podtipova preživjela i nedostatan ih je broj u ispitivanju.

Glavni cilj ovog rada bio je utvrditi postoji li razlika u preživljenju djece oboljele od B-NHL liječene s ili bez rituksimaba uz standardne kemoterapijske protokole. Istraživanjem smo došli do podataka da je preživljenje bolje ako je rituksimab dio terapijskog protokola. Tada preživljenje iznosi čak 85,7 %, za razliku od 73,3 % kod one djece koja nisu primala rituksimab. Ti podaci su sukladni s podacima iz literature (Bilić i sur. 2010).

Procjenom preživljenja u djece koja su, odnosno nisu, primala rituksimab prema dobnim skupinama nalazimo najbolju prognozu u onih koji su primali rituksimab, a starija su od 10 godina (90 %). Najslabije preživljenje opazili smo u djece koja nisu dobivala rituksimab, a dobne su skupine 10 godina i manje (62,5 %).

Preživljenje pacijenata ovisno o primjeni rituksimaba u terapiji u korelaciji sa skupinom kliničkih stadija pokazuje da je za slabo preživljenje (40 %) karakteristično ne primjena rituksimaba i viši klinički stadij bolesti.

Iako temeljem našeg istraživanja nismo dobili statistički značajnu razliku u preživljenju bolesnika ovisno o rituksimabu u terapiji, postoji jasan trend boljeg ishoda u onih koji su primali rituksimab. Stoga smatramo da je opravdano primijeniti rituksimab, ali su potrebna klinička ispitivanja na velikom broju ispitanika.

8. ZAKLJUČAK

- Sveukupno preživljenje djece oboljele od B-NHL u ispitivanoj seriji bolesnika je 80,6 %.
- Utvrđena je razlika u preživljenju djece oboljele od B-NHL između spolova koja iskazuje prednost ženskom spolu, ali ta razlika nije statistički značajna.
- Praćenjem preživljenja djece po dobi bolje preživljenje imala su djeca starija od 10 godina.
- Podjelom pacijenata prema kliničkom stadiju bolesti u skupinu 1 (stadij I i II) i u skupinu 2 (stadij III i IV) dobiveni su očekivani rezultati prema kojima je bolje preživljenje u djece nižih kliničkih stadija. Ta razlika je statistički značajna.
- Djeca liječena standardnim kemoterapijskim protokolom kojemu je pridružen rituksimab imaju bolje preživljenje (85,7 %), nego ona koja nisu dobivala rituksimab (73,3 %), ali nije postignuta statistička značajnost.
- Temeljem rezultata zaključujemo da je opravdano uvesti rituksimab kao standardnu komponentu kemoterapijskih protokola.

9. ZAHVALE

Zahvaljujem svom mentoru prof.dr.sc Ernestu Biliću na stručnom vodstvu i savjetima, korisnim kritikama, beskrajnom strpljenju, podršci i pomoći u izradi ovog rada. Tijekom nastave pedijatrije svojim poticajnim radom s nama studentima zainteresirao me za ovu lijepu i plemenitu granu medicine.

Hvala i mojim prijateljima i kolegama koji su svojim korisnim savjetima pomogli u nastanku ovog rada.

Zahvaljujem se svojim roditeljima koji su me svesrdno podržavali i sestri Nives koja me uvijek bodrila kada mi je bilo najteže.

10. LITERATURA

1. Abés R, Gelize E, Fridman WH, Teillaud JL. Long-lasting antitumor protection by anti-CD20 antibody through cellular immune response. *Blood* 2001;116(6): 926-934.
2. Arceci RJ, Hann IM, Smith OP. (2006), *Pediatric Hematology*, Third edition, Oxford, Blackwell Publishing. Poglavlje 21, str 482 – 503.
3. Bargou R., Leo E, Zugmaier G, Klinger M, Goebeler M, Knop S i sur. Tumorregression in cancer patients by very low doses of a Tcell-engaging antibody. *Science* 2008;321,974–977
4. Beck A, Wurch T, Bailly C, Corvaia N. Strategies and challenges for the next generation of therapeutic antibodies. *Nat.Rev.Immunol.* 2010;10, 345–352
5. Bilić E, Femenić R, Konja J, Simat M, Dubravčić K, Batinić D, Ries S, Rajić L. CD20 positive childhood B-non Hodgkin lymphoma (B-NHL): morphology, immunophenotype and a novel treatment approach: a single center experience. *Coll Antropol.* 2010 Mar;34(1):171-5
6. Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R i sur. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N. Engl.J.Med.* 2002;346:235–242.
7. Cvetkovic RS, Perry CM (2006) Rituximab - a review of its use in non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs* 66:791-820.
8. Delmonte A, Ghielmini M, Sessa C. Beyond Monoclonal Antibodies: New Therapeutic Agents in Non-Hodgkin's Lymphomas *The Oncologist* 2009, 14:511-525.
9. Francetić I i suradnici (2010), *Farmakoterapijski priručnik*, šesto izdanje, Zagreb, Medicinska naklada
10. Golay J, Cittera E, Di Gaetano N, Mnaganini M, Mosca M, Nebuloni M, van Roojen N, Vago L, Introna M. The role of complement in the therapeutic activity of rituximab in a murine B lymphoma model homing in lymph nodes. *Haematologica* 2006;91:176-183.

11. Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Muller-Hermelink HK, Vardiman J. Lymphoma classification - from controversy to consensus: The R.E.A.L. and WHO Classification of lymphoid neoplasms *Ann Oncol.* 2000;11 Suppl 1:3-10
12. Hilchey SP, Hyrien O, Mosmann TR, Livingstone AM, Friedberg JW, Young F, Fisher RI, Kelleher RJ Jr, Bankert RB, Bernstein SH. Rituximab immunotherapy results in the induction of a lymphoma idiotype-specific T-cell response in patients with follicular lymphoma: support for a “vaccinal effect” of rituximab. *Blood* 2009;113(16):3809-3812.
13. Glennie MJ, French RR, Cragg MS, Taylor RP. Mechanisms of killing by anti-CD20 monoclonal antibodies. *Mol Immunol* 2007;44:3823-3837.
14. Lanzkowsky P. (2011), *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*, Fifth edition, London, Academic Press. poglavlje 20, str 624 – 646.
15. Lim SH, Beers SA, French RR, Johnson PWM, Glennie MJ, Cragg MS () Anti-CD20 monoclonal antibodies: historical and future perspectives. *Haematologica* 2010;95(1): 135-143.
16. Manches O, Lui G, Chaperot L, Gressin R, Molens JP, Jacob MC, Sotto JJ, Leroux D, Bensa JC, Plumas J. In vitro mechanisms of action of rituximab on primary non-Hodgkin lymphomas. *Blood* 2003;101: 949-954.
17. Mann G, Andishe Attarbaschi A, Burkhardt B, Niggli F, Klapper W, Ludwig WD, Schrappe M, Zimmermann M, Gadner H, Reiter A Clinical characteristics and treatment outcome of infants with non-Hodgkin lymphoma 2007 Nov;139(3):443–449
18. Mardešić D i suradnici (2003.), *Pedijatrija*, sedmo, dopunjeno izdanje, Zagreb, Školska knjiga. Poglavlje 19, str 677 - 679
19. Meyer-Wentrup F, de Zwart V and Bierings M (2013) Antibody therapy of pediatric B-cell lymphoma. *Front. Oncol.* 3:68. doi: 10.3389/fonc.2013.00068
20. http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/child-non-hodgkins/HealthProfessional/page2#Section_195, pristupio 01. lipnja 2014.
21. http://www.mabthera.com/fmfiles/re7304001/20121003_Fig_1.png, pristupio 22. svibnja 2014.
22. <http://www.nature.com/onc/journal/v22/n47/images/1206939f1.jpg>, pristupio 05. lipnja 2014.

23. <http://www.cancer.gov/cancertopics/pdq/treatment/child-non-hodgkins/HealthProfessional/page3>, pristupio 20. svibnja 2014.
24. http://www.cancer.gov/clinicaltrials/search/view?version=healthprofessional&cdrid=77645#Outline_CDR0000077645, pristupio 15. travnja 2014.
25. Reff ME, Carner K, Chambers KS, Chinn PC, Leonard JE, Raab R, Newman RA, Hanna N, Anderson DR (1994) Depletion of B-cells in vivo by a chimeric mouse human monoclonal antibody to CD20. *Blood* 1994;12: 177-186.
26. Reiter, A. (2007). Diagnosis and treatment of childhood non-Hodgkin lymphoma. *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2007, 285–296.
27. Selenko N, Maidic O, Draxler S, Berer A, Jäger U, Knapp W, Stöckl J. CD20 antibody (C2B8)-induced apoptosis of lymphoma cells promotes phagocytosis by dendritic cells and cross-priming of CD8+ cytotoxic T cells. *Leukemia* 2001;15(10):1619-1626.
28. Shan D, Ledbetter JA., Press OW. Signaling events involved in anti- CD20-induced apoptosis of malignant human B cells. *Cancer Immunol Immunother* 2000;48:673-683.
29. Smith MA, Seibel NL, Altekruze SF, Ries LAG, Melbert DL, O’Leary M, Smith FO, Reaman GH. Outcomes for Children and Adolescents With Cancer: Challenges for the Twenty-First Century *JCO* May 20, 2010 May 20;28(15):2625-2634
30. Stanglmaier M, Ries S, Hallek M. Rituximab and alemtuzumab induce a nonclassic, caspase-independent apoptotic pathway in B-lymphoid cell lines and in chronic lymphocytic leukemia cells. *Ann Hematol* 2004;83:634-645.
31. van Meerten T, van Rijn RS, Hol S, Hagenbeek A, Ebelin SB. Complement-induced cell death by rituximab depends on CD20 expression level and acts complementary to antibody-dependent cellular cytotoxicity. *Clin Cancer Res* 2006;12:4027-4035.
32. Vendrame E, Martínez-Maza O. Assessment of pre-diagnosis biomarkers of immune activation and inflammation: insights on the etiology of lymphoma *J Proteome Res.* 2011 Jan 7;10(1):113-9

33. Woessmann W, Seidemann K, Mann G, Zimmermann M, Burkhardt B, Oschlies I, Ludwig WD, Klingebiel T., Graf N, Gruhn B, Juergens H, Niggli F, Parwaresch R, Gadner H, Riehm H, Schrappe M, Reiter A. The impact of the methotrexate administration schedule and dose in the treatment of children and adolescents with B-cell neoplasms: a report of the BFM Group Study NHL-BFM95 Blood. 2005 Feb 1;105(3):948-58

11. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 29.12. 1989. godine u Zagrebu. Osnovnu školu pohađao sam u Samoboru gdje sam završio i osnovnu glazbenu školu «Ferdo Livadić» na instrumentu klasična gitara.

U školskoj godini 2004/2005 upisao sam gimnaziju «A.G. Matoš» u Samoboru, a maturirao 2008. godine s odličnim uspjehom. Iste godine upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Aktivan sam član Društva hemofiličara Hrvatske i aktivno radim s članovima Društva na poboljšanju kvalitete života.

Demonstrator sam na Katedri za pedijatriju u akademskoj godini 2013/2014 i na Katedri za patofiziologiju u akademskim godinama 2012/2013 i 2013/2014.

U budućnosti želja mi je baviti se znanošću i radom u kliničkoj medicini.