

# LEVKEMIJE OTROŠKE DOBE

Janez Jazbec

## UVOD

Levkemija je najpogostejše rakavo obolenje otrok in obsega 25–30 % vseh novo odkritih rakov pri otrocih (1). V nekaj manj kot šestdeset letih od prve opisane začasne remisije bolezni, dosežene z uporabo kemoterapije (2), sta poznavanje bolezni in uspešnost zdravljenja levkemij dramatično napredovala. Sodobni načini zdravljenja omogočajo preživetje 75 % vseh otrok, zbolelih za levkemijo. Ker pa gre pri levkemiji za več biološko različnih bolezni, so med temi tudi oblike, pri katerih je možnost ozdravitve več kot 90-odstotna, pa tudi take, pri katerih z najsodobnejšimi načini zdravljenja še vedno ne dosežemo trajne ozdravitve niti pri 10 % bolnikov. V zadnjih desetletjih je poznavanje bioloških značilnosti levkemične celice izjemno napredovalo. Predvsem identifikacija genetskih razlik, med morfološko in imunofenotipsko identičnimi levkemičnimi celicami je bila osnova za revizijo klasifikacije levkemij s posledično novimi smernicami v zdravljenju (3).

Bolezen je posledica klonalne ekspanzije nezrelih celic limfoidne ali mieloidne vrste, katerih diferenciacija je blokirana na neki stopnji razvoja v zrelo celico. Glede na diferenciacijski potencial jih delimo na akutne (nizka stopnja diferenciacije) in kronične (visoka stopnja diferenciacije) (4). Morfološko delitev na limfoblastne (tudi limfatične oziroma nemieloblastne) in mieloblastne levkemije nadgrajuje imunofenotipska diagnostika, s katero opredelimo antigenske značilnosti, značilne za stopnjo diferenciacije levkemične celice. Pri otrocih tako poznamo:

- akutno limfoblastno levkemijo (ALL),
- akutno mieloblastno levkemijo (AML),
- kronično mieloično levkemijo (KML).

Nevarnost, da bo človek v času svojega otroštva zbolel za eno od oblik levkemije, je 1 : 2000 (5), pri čemer je v okoli 80 % primerov pričakovati ALL. V Sloveniji je v zadnjih 20 letih za to obliko levkemije zbolelo povprečno 13 bolnikov letno (6, 7). AML se pojavlja predvsem pri starejših otrocih in je pri nas v zadnjem desetletju obsegala 14 % primerov levkemij, kar pomeni nekaj več kot 2 primera letno (7). KML se pri otrocih pojavi le izjemoma, s primerom na nekaj let, pri čemer gre bodisi za KML, kot jo poznamo pri odraslih (z značino translokacijo t(9;22), Philadelphia), ali pa za juvenilno mielomonocitno levkemijo (JMML), specifično za otroško obdobje.

## NEVARNOSTNI DEJAVNIKI

Z večjo grožnjo nastanka levkemije so povezali številne dejavnike. Dokaz vpliva dednosti je večje pojavljanje levkemij pri otrocih s konstitucijskimi genetskimi okvarami, kot so na primer Downov sindrom, Fanconijeva anemija, Bloomov sindrom, von Recklinghausnov sindrom in somatska mutacija p-53 (tako imenovani Li-Fraumenijev sindrom). Otroci z Downovim sindromom so kar 20-krat bolj ogroženi z levkemijo kot njihovi zdravi vrstniki. Zanimivo je, da se pri otrocih s trisomijo 21 v prvih treh letih življenja pogosteje pojavlja megakarioblastna AML, pri starejših otrocih s tem sindromom pa prevladuje ALL. Visoka konkordanca levkemije pri monozigotnih dvojčkih, kjer se večina levkemij pri drugem dvojčku pokaže v prvem letu od pojava levkemije pri prvem, najverjetneje odseva bodisi skupno genetsko okvaro v prezigotnem ali intrauterinem obdobju ali pa metastazo, preneseno po skupnem placentarnem krvnem obtoku.

Epidemiološki podatki kažejo, da ionizirajoče sevanje, izpostavljenost kemikalijam (npr. benzen, Baygon), virusom (Epstein-Barrov virus, virus tipa I humane T-celične levkemije oz. limfoma – HTLV-1) in bakterijam (Helicobacter pylori) morda lahko prispevajo k razvoju nekaterih tipov levkemij in limfomov pri odraslih in otrocih. Kako odločilen je pomen izpostavljenosti dejavnikom okolja, bi lahko opredelili na podlagi velikih epidemioloških študij, s katerimi so na primer že ovrgli hipotezo, da je izpostavljenost elektromagnetnim poljem pomemben nevarnostni dejavnik za nastanek otroške levkemije (8).

Ena od hipotez za nastanek otroške levkemije predvideva, da je odločujoči dogodek v levkemogenezi nenormalen odziv organizma na običajne okužbe. Aberanten odziv na banalno okužbo tako sproži odločilni drugi, postnatalni dogodek, ki pripelje do nastanka levkemije. Hipotezo podpirajo epidemiološke študije, ki so pokazale, da so otroci, zboleli za levkemijo, kot dojenčki redkeje prebolevali okužbe, običajne za to obdobje, da so takrat imeli manj socialnih stikov (manjša izpostavljenost okužbam), da so bili prvorojenci in da so bili manj cepljeni z nekaterimi vakcinami (9, 10). Zadovoljive etiološke razlage za pojav levkemije v več kot 90 % pa še vedno ni (3). Specifičen primer je levkemija, ki se pojavi v obdobju dojenčka, pri kateri igra izpostavljenost dejavnikom okolja po rojstvu verjetno minimalno vlogo in je najverjetneje prišlo do ključnih dogodkov že intrauterino. Rezultati študije, ki je izpostavila intrauterino izpostavljenost insekticidom (Baygon), govorijo v prid tej tezi (11).

Genetski polimorfizmi različnih genov igrajo vlogo pri nastanku raznih vrst rakov in drugih bolezni. Tako je bilo dokazano, da je nastanek nekaterih levkemij dojenčkovega obdobja povezan s polimorfizmom gena NQ01. Produkt tega gena je vpleten v presnovo kinon vsebujočih benzenovih meta-

bolitov in flavonoidov (12). Polimorfizem gena za encim metilen tetrahidrofolat reduktaza (MTHFR), ki je vpleten v presnovo folatov, je bil prav tako povezan z nevarnostjo za nastanek otroške levkemije (13). Študij polimorfizmov genov, vpletenih v posamezne poti presnove, in njihovih kompleksnih interakcij bo verjetno v prihodnosti odkril še nove nevarnostne dejavnike za nastanek levkemije (Bohanec P, Dolžan V, Jazbec J – v tisku).

## KLASIFIKACIJA LEVKEMIJ

Osnovna razdelitev levkemij temelji na morfoloških in citokemičnih značilnostih. V sredini sedemdesetih let prejšnjega stoletja je bil sprejet francosko-ameriško-britanski sistem (FAB), po katerem razlikujemo osem morfoloških podtipov akutne mieloblastne levkemije. AML z minimalno mieloidno diferenciacijo (podtip M0) je bila dodana pozneje, saj jo je brez dodatne uporabe imunofenotipizacijskih tehnik sicer nemogoče ločiti od ALL:

*Tabela. Klasifikacija akutnih mieloblastnih levkemij po francosko-ameriško-britanskem sistemu.*

M0	nediferenciran mieloblast
M1	minimalna mieloidna diferenciacija
M2	mieloblastna z začetno diferenciacijo
M3	akutna promielocitna levkemija
M4	mielomonoblastna
M5	monoblastna
M6	eritrolevkemija
M7	maegakarioblastna

Klasifikacija po FAB razlikuje na osnovi morfoloških značilnosti tudi tri podtipe ALL – L1, L2 in L3 – vendar pa se je izkazalo, da klinično ni pomembne korelacije med morfološkimi značilnostmi, ki opredeljujejo tipa L1 in L2, ter imunofenotipskimi in genetskimi značilnostmi. Ker so slednje pomembnejše pri klinični obravnavi bolnikov z ALL, se pomen FAB pri ALL počasi umika novejšim, na genotipu in fenotipu bazirajočim shemam. Izjema je tip L3, ki skoraj praviloma kaže blaste, ki izražajo površinske imunoglobuline in imajo za genetsko osnovo svojega nastanka translokacijo onkogenega C-MYC. Bolnike s to obliko levkemije je praviloma treba zdraviti po posebnih protokolih, ki so namenjeni zdravljenju levkemij celic B in Burkittovih limfomov. ALL z morfologijo L3 brez translokacije C-MYC je najverjetneje treba obravnavati kot B-prekurzorske ALL (14).

Večina levkemičnih celic izraža antigene, ki so enaki kot pri normalnih limfoidnih in mieloidnih celicah. S poznavanjem vzorcev ekspresije antigenov, značilnih za specifično stopnjo diferenciacije celice, lahko klasificiramo levkemije glede na stopnjo, na kateri je prišlo do zastoja v procesu diferenciacije. Tako lahko ALL razdelimo glede na celice, ki pripadajo bodisi celični liniji T ali B. Po celični liniji B pa lahko ALL nadalje razdelimo na zgodnjo levkemijo celic pre-B, levkemijo celic pre-B in celic B. Tudi celične levkemije lahko podobno razdelimo na pre-T in T, vendar pa ima za razliko od levkemij celic B taka delitev klinično manjši pomen (3). Pri AML ima imunofenotipizacija pomembno vlogo predvsem pri opredelitvi morfološko neznajčilnih AML M0 in M7. V majhnem odstotnem deležu levkemične celice izražajo tako za limfoidne kot za mieloidne celice značilne antigene, pri čemer pa gre lahko samo za koekspresijo enega aberantnega antigena, ki ni nujno slab prognostični dejavnik (15), ali pa za prave bifenotipske levkemije.

Klonalne kromosomske nepravilnosti lahko ugotovimo pri 80–90 % otroških levkemij. Z ozirom na število kromosomov razlikujemo:

- hiperdiploidne, pri katerih je število kromosomov na celico več kot 50 (indeks DNA je večji kot 1,16). Hiperdiploidnost je ugoden prognostični kazalec. Ena od možnih razlag za večjo dovzetnost teh celic za kemoterapijo je zvečano intracelularno kopičenje metotreksata in njegovih aktivnih poliglutamatskih metabolitov (16).
- Hipodiploidne, pri katerih je število kromosomov manjše od 45. Verjetnost, da bo zdravljenje neuspešno, je velika in narašča obratno sorazmerno z manjšanjem števila kromosomov (17).

Najpogostejše kromosomske nepravilnosti pri otroških levkemijah so recipročne translokacije, od katerih so nekatere fenotipsko specifične in so prognostično pomembne. Posledica translokacije je lahko premestitev protoonkogene v bližino aktivne promotorske sekvence, kar ima za posledico večjo produkcijo proteina, ki ga protoonkogen kodira. Klasični primer take translokacije je t(8;14)(q24;q32.3) pri levkemij celic B. V tem primeru je protoonkogen MYC, ki je normalno na kromosomu 8, prestavljen na kromosom 14, pod kontrolo sekvence, ki sicer regulira ekspresijo gena za imunoglobulin. Posledica je večja ekspresija produkta, ki ga kodira MYC, ta pa je transkripcijski faktor, ki ob interakciji z drugim proteinom (MAX) vpliva na ekspresijo drugih genov, vključenih v proces celične proliferacije. Gen BCR\_ABL, ki ga lahko najdemo pri KML in ALL, je posledica translokacije (9;22)(q434;q11). Posledica je nastanek kromosoma Philadelphia, katerega produkt je tirozin-kinaza. Le-ta je pri KML, značilni za odrasle, težka 210-kD, pri otroški ALL pa 180-kD. V obeh primerih ima himerični protein transformacijski potencial, ki pa je v primeru krajšega produkta (ALL) bolj izražen, zaradi česar celica preskoči kronično fazo levkemije. V 20–25 % prekursorjskih B-celičnih levkemij naletimo na translokacijo TEL-AML

t(12;22). Otroci s translokacijo t so običajno stari od 2 do 9 let in imajo odlično prognozo. Za ALL dojenčkovega obdobja je značilna t(4;11), za katero je poleg starosti bolnika značilna še hiperlevkocitoza in izjemno slaba prognoza.

Pri AML so pogostejše kromosomske nepravilnosti inverzija inv(16)(p13;q22) in translokacije t(9;11), t(8;22) in t(15;17). Slednja je značilna za akutno promielocitno levkemijo (M3). Translokacija je povezana z nastankom himernega proteina PML-RARA, ki povzroči zastoj v diferenciaciji na stopnji promielocita hkrati pa celice tudi ne gredo v apoptozo. Če take celice izpostavimo *all-trans* retinoični kislini, lahko premostimo blokado v diferenciaciji, hkrati pa se tudi ponovno pojavi apoptotska aktivnost (18). Drugi mehanizmi levkemogeneze so aktivacija genov, ki preprečujejo apoptozo in spreminjajo signale za stimulacijo rasti (RAS). Tudi izguba funkcije tumorskih supresorskih genov (p53, p16, MTS1) je verjetno vpletena v nastanek levkemičnega kлона, predvsem kot sekundarni dogodek, ki povzroči nastanek agresivnejše in na terapijo odpornejše oblike levkemije (3).

## ZDRAVLJENJE

Kljub velikanskemu napredku v zdravljenju levkemij je še vedno veliko izzivov: pri zdravljenju ALL resda lahko pričakujemo remisijo v 97 % in trajno ozdravitev pri 75 % bolnikov, vendar pa se pri četrtini bolnikov bolezen ponovi, in to večinoma v obliki, ki je zelo neobčutljiva na ponovne poskuse zdravljenja. Po drugi strani ocenjujejo, da kar ena četrtina bolnikov, ki so zdravljeni po intenzivnih shemah zdravljenja, tako agresivne terapije pravzaprav ne potrebuje in bi lahko trajno ozdravitev dosegli z manj intenzivnim zdravljenjem (19). Zdravljenje je odvisno od ocene nevarnosti za ponovitev bolezni, le-ta pa temelji na kliničnih (starost bolnika, število levkocitov ob diagnozi) in laboratorijskih dejavnikih (pripadnost celični podvrsti, citogenetske nepravilnosti, prizadetost osrednjega živčevja, ocena zgodnjega odziva na terapijo). Vse več shem zdravljenja levkemij vključuje tudi oceno minimalne rezidualne bolezni kot enega od pokazateljev odziva na zdravljenje. Z oceno bremena levkemičnih celic v obdobju klinične remisije bolezni lahko namreč izboljšamo strategijo zdravljenja in s tem zvečamo bolnikove možnosti za trajno ozdravitev (20).

Žal uspeh zdravljenja AML še ni enak kot pri ALL. Kljub temu da je s kombinacijo antraciklina in citarabina mogoče doseči remisijo pri 70–85 % bolnikov, se vsaj pri polovici od njih bolezen ponovi. Zaradi biološke raznolikosti posameznih podtipov AML podtipu prilagojene terapije še ni. Izjema je akutna promielocitna levkemija, pri kateri je mogoče z uporabo specifičnega diferenciacijskega agensa (ATRA) bistveno zvečati doseganje remisije in tudi zmanjšati pogostost hemoragičnih zapletov v začetni fazi zdravljenja.

Ob zdajšnjem preživetju AML, doseženem s konvencionalnimi kemoterapevtskimi shemami, večina strokovnjakov priporoča alogensko presaditev kostnega mozga po prvi remisiji (18). Avtologna trasplantacija kostnega mozga ne dosega bistveno boljšega preživetja AML kot konvencionalna kemoterapija.

Alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic je edina možnost trajne ozdravitve bolnikov s KML in JMML. Predvsem pri otrocih, zbolelih za KML s kromosomom Philadelphia, je zdravljenje z imatinib-mesilatam (Gleevec) še vedno v fazi kliničnih raziskav, prva poročila pa kažejo, da bo zdravilo, ki se je uveljavilo zdravljenju odraslih s KML, učinkovito in varno tudi za otroke (21).

V bližnji prihodnosti bo verjetno največ pozornosti raziskovalcev otroške levkemije usmerjene k še boljši in natančnejši identifikaciji dejavnikov, na podlagi katerih je mogoče predvideti tveganje za neuspeh zdravljenja oziroma za ponovitev bolezni; predvsem v molekularni genetiki, farmakogenetiki in farmakodinamiki je še precej odprtih vprašanj. Tudi izboljšanje tehnik za odkrivanje minimalne rezidualne bolezni in predvsem razumevanje pomena navzočnosti in dinamike rezidualnega klona bosta doprinesla k boljšim rezultatom zdravljenja. Pri zdravljenju ALL so največja uganka primeri, pri katerih bi po vseh sedanjih merilih pričakovali recidiv, pa ga ni. Ker je skupina s standardnim tveganjem največja, je največ bolnikov s ponovljeno ALL prav iz te skupine. Če bomo z novimi pristopi lahko to skupino identificirali in ji prilagodili način zdravljenja, bomo morda uspeli preprečiti večino recidivov.

## LITERATURA

1. Neglia JP, Robinson L. Epidemiology of the childhood leukemias. *Ped Clin North Am* 1988; 35: 675–92.
2. Farber S, Diamond LK, Mercer RD, Sylvester RF, Wolff JA. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist 4-aminopteroyl-glutamic acid (Aminopterin). *New Engl J Med* 1948; 238: 787.
3. Pui CH. Childhood leukemias. *New Engl J Med* 1995; 323: 1618–29.
4. Smith MT, McHale CM, Wiemels JL, Zhang L, Wiencke JK, Zheng S, et al. Molecular biomarkers for the study of childhood leukemia. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005; 206: 237–45.
5. Greaves N. Childhood leukemia. *Brit Med J* 2002; 324: 283–7.
6. Anžič J, Kragelj-Zaletel L. Akutna limfoblastna levkemija otrok. *Zdrav Vestn* 1995; 64: 673–6.
7. Mali P, Jazbec J. Preživetje otrok in mladostnikov z akutno levkemijo v Sloveniji v obdobju 1990–1999. *Slov Pediatr* 2002; 9: 86–9.
8. UK Childhood cancer study investigators. Childhood cancer and proximity to power lines. *Br J Cancer* 2000; 83: 1573–80.

9. Dockerty JD, Draper G, Vincent T, Rowan SD, Bunch KJ. Case-control study of parental age, parity and socioeconomic level in relation to childhood cancers. *Int J Epidemiol* 2001; 30 (6): 1428–37.
10. Auvinen A, Hakulinen T, Groves F. Haemophilus influenzae type B vaccination and risk of childhood leukaemia in a vaccine trial in Finland. *Brit J Cancer* 2000; 83: 956–8.
11. Alexander FE, Patheal SL, Biondi A, Brandalise S, Cabrera ME, Chan LC, et al. Trans-placental chemical exposure and risk of infant leukemia with MLL gene fusion. *Cancer Res* 2001; 61: 2542–6.
12. Wiemels JL, Pagnamenta A, Taylor GM, Eden OB, Alexander FR, Graves MF. A lack of a functional NAD(P)H:quinone oxidoreductase allele is selectively associated with pediatric leukemias that have MLL fusions. United Kingdom Childhood Cancer Study Investigators. *Br J Cancer* 1999; 59, 4095–9.
13. Wiemels JL, Smith RN, Taylor GM, Eden OB, Alexander FE, Greaves MF. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphisms and risk of molecularly defined subtypes of childhood acute leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 (7): 4004–9.
14. Behm FG, Head DR, Pui CH. B-precursor ALL with unexpected expression of surface immunoglobulin mu and lambda. *Lab Invest* 1995; 72: A–613.
15. Putti MC, Rondelli R, Cocito MG, Arico M, Sainati L, Conter V, et al. Expression of myeloid markers lacks prognostic impact in children treated for acute lymphoblastic leukemia: Italian experience in AIEOP-ALL 88–91 studies. *Blood* 1998; 92 (3): 795–801.
16. Synold TW, Relling MV, Boyett JM, Rivera GK, Sandlund JT, Mahmoud H, et al. Blast cell methotrexate-polyglutamate accumulation in vivo differs by lineage, ploidy, and methotrexate dose in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Invest* 1994; 94 (5): 1996–2001.
17. Raimondi SC, Zhou Y, Mathew S, Shurtleff SA, Sandlund JT, Rivera GK, et al. Reassessment of the prognostic significance of hypodiploidy in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2003; 98 (12): 2715–22.
18. Ribeiro RC, Razzouk BI, Pui CH, Rubnitz JE. Acute myeloid leukemia in children and adolescents. *Hematology* 2004; 1: 129–35.
19. Pui CH, Campana D, Evans WE. Childhood acute lymphoblastic leukemia: current status and future perspective. *Lancet Oncol* 2001; 14: 823–38.
20. Cazzaniga G, Biondi A. Molecular monitoring of childhood acute lymphoblastic leukemia using antigen receptor gene rearrangements and quantitative polymerase chain reaction. *Hematologica* 2005; 90 (3): 382–90.
21. Millot F, Guilhot J, Nelken B, Leblanc T, De Bont ES, Bekassy AN, et al. Imatinib mesylate is effective in children with chronic myelogenous leukemia in late chronic and advanced phase and in relapse after stem cell transplantation. *Leukemia* 2006; 20 (2): 187–92.