

Ph pozitivní akutní lymfoblastická leukemie dospělých

František Folber, Eva Létalová, Michael Doubek

Interní hematoonkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno a Lékařská fakulta Masarykovy univerzity Brno

Akutní lymfoblastická leukemie dospělých s pozitivitou filadelfského chromozomu a fúzního genu *BCR/ABL* je agresivní hematoonkologické onemocnění, typické pro pacienty vyššího věku. Léčba spočívá v podávání chemoterapie a inhibitoru tyrozinkinázy. Maximálního efektu lze dosáhnout pomocí alogenní transplantace krvetvorných buněk, tu je však schopna podstoupit jen malá část pacientů. V případě relapsu je prognóza onemocnění extrémně nepříznivá.

Klíčová slova: akutní lymfoblastická leukemie, dospělí, filadelfský chromozom, léčba, prognóza.

Philadelphia chromosome positive adult acute lymphoblastic leukemia

Philadelphia chromosome positive adult acute lymphoblastic leukemia with *BCR/ABL* fusion gene is an aggressive hematological malignancy most common in the elderly. Both chemotherapy and a tyrosine kinase inhibitor are engaged in the treatment. The best outcome can eventually be achieved using allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. However, only a minority of patients can undergo such intensive therapy. Disease relapse is associated with an extremely dismal prognosis.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, adults, Philadelphia chromosome, treatment, prognosis.

Onkologie 2011; 5(4): 230–233

Úvod

Akutní lymfoblastická leukemie dospělých (ALL) patří mezi méně častá hematoonkologická onemocnění. S incidencí 1,2 případu na 100 000 obyvatel tvoří přibližně 20 % všech akutních leukemií (1). Přítomnost filadelfského chromozomu (Ph+) provází jen asi 20 % pacientů s ALL, významně však narůstá s věkem, kdy je u nemocných nad 50 let přítomna ve více než 50 % případů (2). Ph+ ALL tak tvoří podskupinu pacientů s obzvlášť nepříznivou prognózou, a to jak z důvodu samotné povahy onemocnění, tak pro vyšší věk a četnější komorbiditu. Dlouhodobé celkové přežití v celé skupině Ph+ ALL se pohybuje mezi 20 a 40 % (3).

Diagnostika

ALL se nejčastěji poprvé manifestuje jako chřipkovité onemocnění s febriliemi, bolestmi svalů a kloubů, avšak bez jiných přesvědčivých známek infekce a bez odpovědi na empiricky nasazenou antibiotickou léčbu. Dalším příznakem může být celková slabost, únava, dušnost, bolesti hlavy a prekolapsové či kolapsové stavy při anemickém syndromu nebo kožní a slizniční krvácení z důvodu trombocytopenie. Bolesti břicha mohou být způsobeny hepatomegalií nebo splenomegalií, v některých případech se objevuje také lymfadenopatie (4). Příznaky ALL jsou tedy zpočátku značně nespecifické, což někdy prodlužuje dobu do stanovení diagnózy.

V **periferní krvi** bývá nález poněkud variabilní, může být leukocytóza s neutropenií

a zdánlivou lymfocytózou, ale i normální počet leukocytů, dále pak různě vyjádřená anémie a trombocytopenie. V diferenciálním rozpočtu leukocytů by měly být přítomny lymfoblasty. Každá uvedená změna v krevním obraze by nás ovšem měla navést k vyšetření kostní dřeně, které jednoznačně diagnózu potvrdí.

V **kostní dřeni** nacházíme typickou infiltraci lymfoblasty, jejichž počet dle kritérií WHO musí dosahovat alespoň 20 %. Starší morfologické dělení FAB klasifikace na lymfoblasty L1 (malé, uniformní, velký poměr jádro/cytoplazma, bazofilní cytoplazma, nenápadné jádérko), L2 (heterogenní, nepravidelné jádro s heterogenním chromatinem, různá jádérka) a L3 (velké, uniformní, podobné buňkám Burkittova lymfomu) již není používáno, protože mezi L1 a L2 není klinicky významný rozdíl a skupina L3 byla překlasifikována na Burkittův lymfom/leukemii. Vzhled lymfoblastů u ALL ilustruje obrázek 1.

Cytochemické vyšetření prokáže reakci PAS (periodic acid Schiff) pozitivní a reakci POX (myeloperoxidáza) negativní.

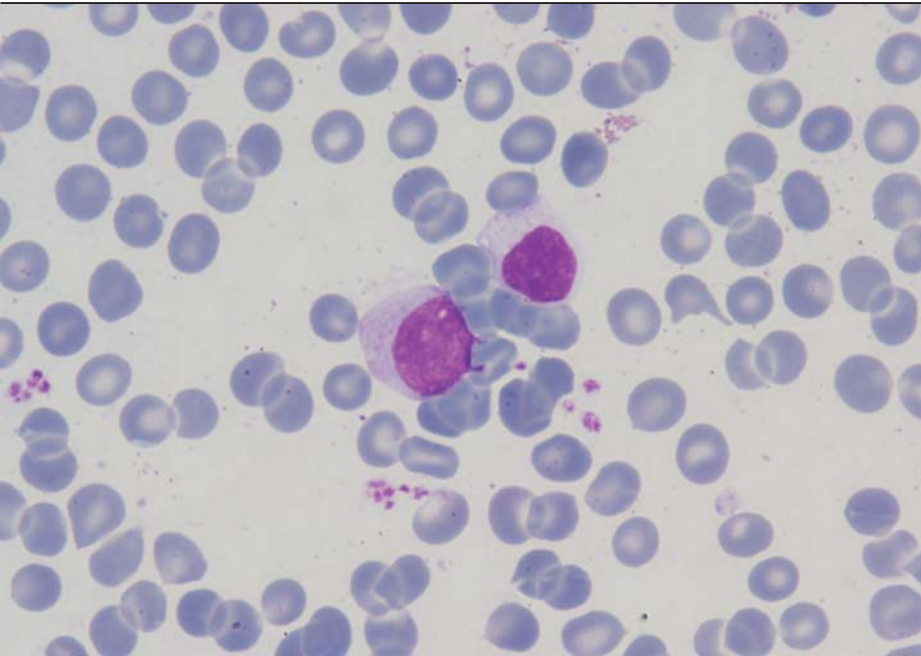
K potvrzení diagnózy ALL slouží **vyšetření průtokovou cytometrií**, které je také schopno blíže specifikovat typ lymfoblastů v periferní krvi i kostní dřeni. Možné fenotypy a četnost jejich výskytu u Ph+ ALL uvádí tabulka 1 (5).

Cytogenetické vyšetření kostní dřeně v případě Ph+ ALL nalezne filadelfský chromozom s typickou reciprokou translokací části dlouhých ramének 9. a 22. chromozomu – t(9;22), jak ukazuje obrázek 2. Podobně i pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH) lze odhalit translokaci t(9;22) (q34;q11). Následkem uvedené translokace je fúze genu *ABL* (Abelson leukemia), který má tyrozinkinázovou aktivitu a řídí důležité buněčné proteiny, a genu *BCR* (break-point cluster region), jehož funkce není přesně známa. Fúzní gen *BCR/ABL* tak získává neregulovanou schopnost fosforylovat tyrozin, čímž patologicky ovlivňuje buněčný cyklus, dělení, diferenciaci a opravy DNA (6). Zlomových míst v genu *BCR* existuje několik, takže vzniká také několik různých možností fúzního genu *BCR/ABL* a výsledného fúzního proteinu, jak je uve-

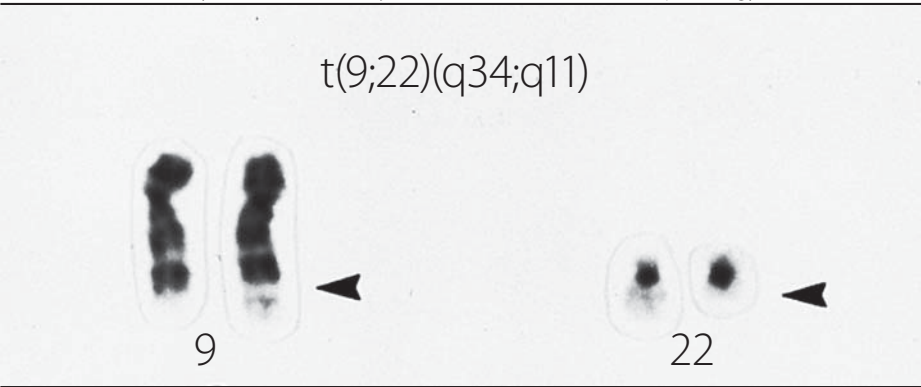
Tabulka 1. Nejčastější fenotypy Ph+ ALL

fenotyp	antigeny	výskyt
common B	CD19+10+	cca 70 %
pre B	CD19+cdIgM+	cca 20 %
pro B	CD19+	výjimečně
mature B	CD19+kappa/lambda+	výjimečně
T	CD3+	vzácně

Obrázek 1. Lymfoblasty u ALL (poskytl MUDr. Libor Červínek, IHOK FN Brno)



Obrázek 2. Filadelfský chromozom (zdroj The armed forces institute of pathology)



deno v tabulce 2 (7). Oproti chronické myeloidní leukemii se častěji objevuje transkript s fúzním proteinem p190, zřejmě to však na průběh ani prognózu nemá větší vliv (8).

Moderní **molekulárně genetické metody**, jako je polymerázová řetězová reakce (PCR), umí odhalit přímo fúzní gen *BCR/ABL* a dokonce jej i kvantifikovat pro sledování léčebné odpovědi.

Rovněž je možné pomocí přímého sekvenování odhalit případné mutace genu *BCR/ABL*, které jsou zodpovědné za rezistenci k léčbě a poté i relaps onemocnění (9). Jednou z nejobávanějších mutací je záměna threoninu za isoleucin na pozici 315 (T315I), která je zcela rezistentní ke všem běžně užívaným TKI. Dalším objevem z posledních let jsou mutace v genu *IKZF1*

(Ikaros), které jsou spojeny s horší prognózou. V této skupině byl také popsán častější výskyt rezistence k TKI (10).

Léčba

Jedinou možností vyléčení Ph+ ALL je podání intenzivní chemoterapie společně s inhibitorom tyrozinkinázy a následná alogenní transplantace kostní dřeně. Z toho vyplývá, že pacienti mohou být léčeni pouze v hemat-onkologických centrech, kde je soustředěno příslušné diagnostické, laboratorní, léčebné, transplantační a podpůrné zázemí. Všechny ostatní léčebné přístupy musí být považovány za paliativní.

Chemoterapie obsahuje **cytostatika** obvyklá v léčbě lymfoidních malignit: alkylační látky (cyklofosamid), antracykliny (doxorubicin, daunorubicin, idarubicin), alkaloidy (vinkristin, vindesin, etoposid, teniposid), analoga nukleotidů (fludarabin), nukleosidů (cytarabin, klofarabin (11)) a nukleových bází (6-merkaptopurin, thio-guanin), antimetabolity (metotrexát) a kortikoidy (prednison, metylprednisolon, dexametason). Tato cytostatika jsou podávána v různých kombinacích a schématech dle použitého léčebného protokolu. Nežádoucí účinky jsou očekávatelné a nevybočují z běžně pozorovaných při léčbě jiných onemocnění. Asi nejzávažnější akutní komplikaci představují infekce, které si zaslouží léčbu širokospektrými antibiotiky s přihlédnutím k lokální mikrobiologické situaci a také podporu leukocytárními růstovými faktory (G-CSF) (12). Oproti jiným leukemiím pozorujeme u ALL v úvodu léčby častěji syndrom z rozpadu nádoru (tumor lysis syndrome), doprovázený metabolickým rozvratem a koagulopatií, který vyžaduje pečlivou laboratorní monitoraci, substituci a intenzivní podpůrnou léčbu (13).

Asparagináza se již stala standardní součástí léčby ALL. Způsobuje depleci neesenciální aminokyseliny asparaginu, který si však nádorové buňky ALL z důvodu nižší hladiny asparaginsyntetázy nejsou schopny vytvořit (14). Mezi nejzávažnější nežádoucí účinky asparaginázy patří alergické reakce, hepatotoxicita, koagulopatie, neurotoxicita a pankreatitida, z nichž některé mohou být i život ohrožující a opět vyžadují intenzivní monitoraci a podpůrnou léčbu.

Všechny léčebné protokoly obsahují také **intratékální profylaxi** postižení centrálního nervového systému (CNS), nejčastěji opakovaně podávanou kombinací několika cytostatik (metotrexát, cytarabin, dexametason). Důvodem je jednak až 10% riziko infiltrace CNS v době diagnózy a jednak omezený průnik většiny in-

Tabulka 2. Možné fúzní geny BCR/ABL a vzniklé proteiny

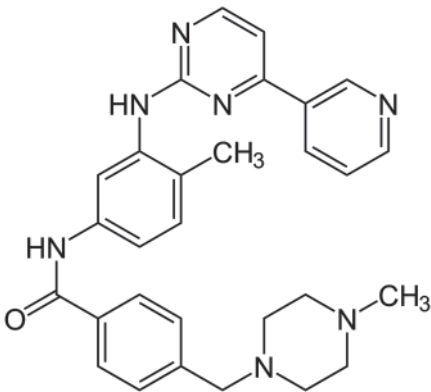
místo zlomu	fúzní gen	exony genu bcr	exony genu abl	protein [kDa]
m-bcr (minor)	e1a2	1	2–11	p190
	e1a3	1	3–11	
M-bcr (major)	e14a2 (b3a2)	1–14	2–11	p210
	e13a2 (b2a2)	1–13	2–11	
	e14a3 (b3a3)	1–14	3–11	
	e13a3 (b2a3)	1–13	3–11	
μ-bcr (micro)	e19a2	1–19	2–11	p230
	e19a3	1–19	3–11	
v-bcr (variant)	e6a2	1–6	2–11	p195
intron 8	e8a2	1–8	2–11	p200
intron 18	e18a2	1–18	2–11	p225

Tabulka 3. Doporučený postup 1. linie léčby Ph+ ALL

pacient	chemoterapie	transplantace	maintenance	přístup
schopný transplantace je dostupný dárce	indukce + TKI konsolidace + TKI	alogenní	TKI?	kurativní
schopný transplantace není dostupný dárce	indukce + TKI konsolidace + TKI	autologní	chemoterapie + TKI	paliativní?
neschopný transplantace	indukce + TKI konsolidace + TKI	nelze	chemoterapie + TKI	paliativní
neschopný intenzivní léčby	paliace + TKI	nelze	TKI	paliativní

TKI – tyrozinkinázový inhibitor, paliace – paliativní chemoterapie nebo kortikoterapie

Obrázek 3. Imatinib (zdroj Wikimedia commons)



travenózně podávaných cytostatik i imatinibu přes hematoencefalickou bariéru.

Radioterapie je užívána rovněž v rámci CNS profylaxe (ozáření neurokrania dávkou okolo 24 Gy), případně v léčbě masivního extranodálního postižení (to je ovšem u Ph+ ALL spíše výjimkou) a pak také jako součást přípravného režimu před transplantací krvinek.

Tyrozinkinázové inhibitory (TKI) výrazně zlepšily výsledky léčby chronické myeloidní leukemie a částečně také Ph+ ALL. Blokuji (mimo jiné) aktivitu fúzního genu *BCR/ABL*, čímž působí přímo na samotný spouštěč onemocnění. K dispozici je imatinib (15) (obrázek 3) a nově také TKI druhé generace dasatinib (16) a nilotinib (17). V klinickém zkoušení jsou ale i další TKI (např. bosutinib, ponatinib, bafetinib). Přidání TKI k chemoterapii umožní více pacientům dosáhnout kompletní hematologické nebo i molekulární remise, která má navíc delší trvání, a následně tak podstoupit alogenní transplantaci. Pozice TKI v udržovací léčbě (maintenance) je sice předpokládána, ale stále se ještě hledá. Nejlepší variantou se nyní zdá být dlouhodobé podávání TKI po alogenní transplantaci bez ohledu na pozitivitu či negativitu molekulárního markeru *BCR/ABL* (18). Nežádoucí účinky TKI bývají obvykle mírné, nejčastěji jsou to změny parametrů krevního obrazu, jaterních testů nebo amylázy, retence tekutin (fluidotorax, ascites) nebo trombocytopenie. V těchto případech může pomoci snížení dávky nebo výměna za jiný TKI.

Do léčby Ph+ ALL také vstupují **monoklonální protilátky**. Běžnou součástí většiny moderních protokolů se již stává rituximab, a to v případě přítomnosti antigenu CD20 na lymfoblastech (19). V klinickém zkoušení pro pacienty s relapsem nebo přetrvávající pozitivitou *BCR/ABL* je bispecifická protilátka blinatumomab zaměřená proti CD3 a CD19 (20).

Alogenní transplantace krvinek je v současné době jedinou možností na vyléčení Ph+ ALL. Zdrojem buněk může být HLA identický sourozenec nebo nepříbuzný zdravý dárce. Z myeloablativních režimů je nejčastěji používána kombinace cyklofosfamid a celotělového ozáření (TBI) v dávce 10–12 Gy nebo etoposidu a TBI. V některých případech však lze použít i nemyeloablativní přípravný režim, například FLAMSA-RIC-TBI/Cy (fludarabin, cytarabin, antithymocytární globulin (ATG), cyklofosfamid a 4 Gy TBI) (21) nebo fludarabin s busulfanem. Imunosupresivní léčba k prevenci reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) závisí od jednotlivých režimů, může to být například cyklosporin A, mykofenolát mofetil, metotrexát, ATG nebo kortikoidy.

Autologní transplantace by měla být vyhrazena pouze pro úzkou skupinu pacientů schopných intenzivní transplantační léčby, pro

kteří není k dispozici alogenní dárce, ale jsou v dobrém klinickém stavu a v kompletní molekulární remisi. I v tomto ideálním případě je však tato metoda spojena s četnými kontroverzemi, podobně jako u ostatních typů ALL, a nelze jednoznačně říci, že by byla lepší než samotná konsolidační léčba s TKI. Zdrojem krvinek může být jak kostní dřevina, tak kmenové buňky z periferní krve (PBSC). Vhodným přípravným režimem je opět cyklofosfamid a TBI, možný je také etoposid a TBI nebo melfalan a TBI. Po autologní transplantaci by měla vždy následovat udržovací léčba (maintenance) kombinací několika cytostatik (např. 6-merkaptopurin, metotrexát, vinkristin, prednison) společně s TKI, která by měla trvat jeden až dva roky (22).

Doporučený léčebný postup u pacientů s nově diagnostikovanou Ph+ ALL shrnuje tabulka 3.

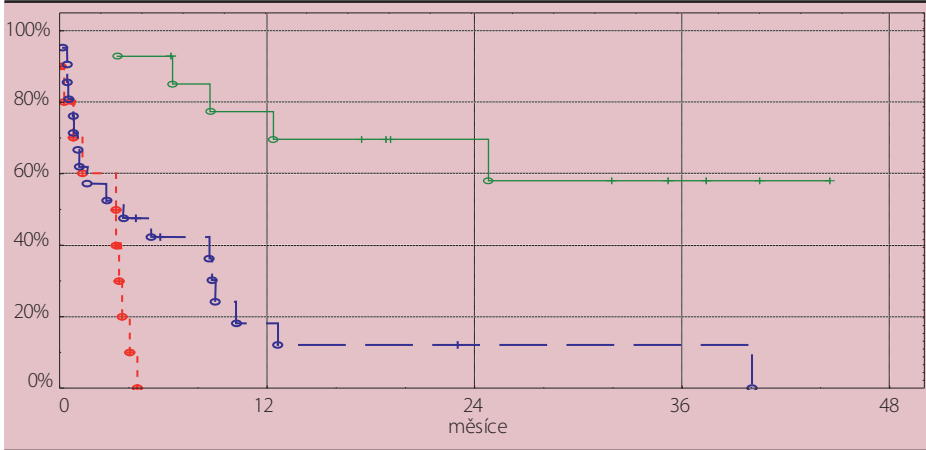
Sledování

Součástí každého léčebného protokolu jsou pravidelné kontroly stavu onemocnění v kostní dřevině a periferní krvi pomocí morfologie, flowcytometrie a PCR vyšetření fúzního genu *BCR/ABL*. Po ukončení léčby probíhají kontroly každých 3 až 6 měsíců a dále jednou ročně. Velkou výhodou je možnost sledování minimální zbytkové nemoci (MRD) v periferní krvi pomocí *BCR/ABL* jako velmi senzitivního molekulárního markeru, který je navíc k dispozici u všech pacientů.

Relaps

Relaps Ph+ ALL je spojen s extrémně nepříznivou prognózou. Relabované onemocnění má agresivní průběh, špatnou odpověď na zachrannou léčbu a často mutaci v genu *BCR/ABL* rezistentní k běžně užívaným TKI. Pacienti po alogenní transplantaci obvykle z důvodu komplikací nemohou nebo ani nechťejí podstoupit transplantaci další. Nemocní bez dostupného

Graf 1. Křivky přežití pacientů s Ph+ ALL (vlastní data IHOK FN Brno a HOK FN Olomouc) zelená plná – s alogenní transplantací, modrá přerušovaná – bez alogenní transplantace, červená tečkovaná – relaps



dárce během první linie léčby jej většinou nemají ani později. A pacienti dosud neschopní transplantační nebo intenzivní léčby se nacházejí v ještě horší pozici než na začátku. Přístup k relabovaným nemocným je tedy velmi svízelný a musí být individuální. Cílem je dosažení druhé kompletní remise pomocí záchranné chemoterapie a TKI, nejlépe z druhé generace, nebo terapie v rámci klinické studie. I přes maximální snahu však dlouhodobé celkové přežití v případě relapsu Ph+ ALL nedosahuje ani 10 % (23).

Prognóza

Pacienti s Ph+ ALL jsou řazeni do velmi vysokého rizika (VHR), tedy do podskupiny pacientů s nepříznivou prognózou a velkým rizikem relapsu. Dlouhodobé celkové přežití všech pacientů s Ph+ ALL se pohybuje dle různých studií mezi 20 až 40 %. Nejlépe dopadnou ti, kteří dosáhnou kompletní hematologické a molekulární remise časně během indukční a konsolidační léčby a následně podstoupí alogenní transplantaci. Pak lze vidět celkové přežití až okolo 50 %. Tato velmi striktně vybraná skupina pacientů tvoří však bohužel menšinu (18). Prognózu pacientů v různých situacích ilustrují křivky přežití v grafu 1.

Závěr

Ph+ ALL dospělých patří mezi vzácnější onemocnění s výrazně nepříznivou prognózou. Pouze u malého množství pacientů bez závažných komorbidit, kteří jsou schopni intenzivní léčby včetně alogenní transplantace, lze dosáhnout uspokojivého dlouhodobého přežití nebo dokonce trvalého vyléčení. Vzhledem k nízké incidenci Ph+ ALL, její náročné léčbě a možnosti výzkumu v klinických studiích je zapotřebí úzká spolupráce jednotlivých center, nejlépe i na mezinárodní úrovni.

Literatura

1. Moorman AV, Chilton L, Wilkinson J, Ensor HM, Bown N, Proctor SJ. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2010; 115: 206–214.
2. Doubek M, Maaloufová J, Žák P, Folber F, Cetkovský P, Mayer J. Pokroky v léčbě Ph pozitivní akutní lymfoblastické leukemie dospělých. *Transfuzie Hematol dnes* 2008; 14: 55–61.
3. Avivi I, Goldstone AH. Bone marrow transplant in Ph+ ALL patients. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 623–632.
4. Folber F, Létalová E, Doubek M. Akutní lymfoblastická leukemie dospělých. *Postgrad Med* 2011; v tisku.
5. Wassmann B, Pfeifer H, Gökbüget N, et al. Alternating versus concurrent schedules of imatinib and chemotherapy as front-line therapy for Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). *Blood* 2006; 108: 1469–1477.
6. Daley GQ, Van Etten RA, Baltimore D. Induction of chronic myelogenous leukemia in mice by the P210 bcr/abl gene of the Philadelphia chromosome. *Science* 1990; 247: 824–830.
7. Dekking E, Van der Velden VH, Böttcher S, et al. Detection of fusion genes at the protein level in leukemia patients via the flow cytometric immunobead assay. In: Rowe JM, ed. *Best practice & research clinical haematology*. Dorchester, UK: The Dorset press, 2010: 333–345.
8. Gleissner B, Gökbüget N, Bartram CR, et al. Leading prognostic relevance of the BCR-ABL translocation in adult acute B-lineage lymphoblastic leukemia: a prospective study of the German Multicenter Trial Group and confirmed polymerase chain reaction analysis. *Blood* 2002; 99: 1536–1543.
9. Redaelli S, Piazza R, Rostagno R, et al. Activity of bosutinib, dasatinib, and nilotinib against 18 imatinib-resistant BCR/ABL mutants. *J Clin Oncol* 2009; 27: 469–471.
10. Iacobucci I, Lonetti A, Messa F, et al. Expression of spliced oncogenic Ikaros isoforms in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: implications for a new mechanism of resistance. *Blood* 2008; 112: 3847–3855.
11. Jeha S, Ganyon PS, Razzouk BI, et al. Phase II study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1917–1923.
12. Ottmann OG, Hoelzer D, Gracien E, et al. Concomitant granulocyte colony-stimulating factor and induction chemotherapy in adult acute lymphoblastic leukemia: a randomized phase III trial. *Blood* 1995; 86: 444–450.
13. Tosi P, Barosi G, Lazzaro C, et al. Consensus conference on the management of tumor lysis syndrome. *Haematologica* 2008; 93: 1877–1885.
14. Tallal L, Tan C, Oetgen H, et al. E. coli L-asparaginase in the treatment of leukemia and solid tumors in 131 children. *Cancer* 1970; 25: 306–320.
15. Thomas DA, Faderl S, Cortes J, et al. Treatment of Philadelphia chromosome-positive acute lymphocytic leukemia with hyper-CVAD and imatinib mesylate. *Blood* 2004; 103: 4396–4407.
16. Ottmann O, Dobret H, Martinelli G, et al. Dasatinib induces rapid hematologic and cytogenetic responses in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia with resistance or intolerance to imatinib: interim results of a phase 2 study. *Blood* 2007; 110: 2309–2315.
17. Deremer DL, Ustun C, Natarajan K. Nilotinib: a second-generation tyrosine kinase inhibitor for the treatment of chronic myelogenous leukemia. *Clin Ther* 2008; 30: 1956–1975.
18. Bassan R, Hoelzer D. Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2011; 29: 532–543.
19. Thomas DA, Kantarjian H, Faderl S, et al. Update of the modified hyper-CVAD regimen with or without rituximab as frontline therapy of adults with acute lymphoblastic leukemia (ALL) or lymphoblastic lymphoma (LL). *Blood* 2007; 110: 831a.
20. Topp MS, Zugmaier G, Goekbuget N, et al. Report of a Phase II Trial of Single-Agent BiTE[®] Antibody Blinatumomab in Patients with Minimal Residual Disease (MRD) Positive B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2009; 114: 840.
21. Schmid C, Schleuning M, Ledderose G, et al. Sequential regimen of chemotherapy, reduced-intensity conditioning for allogeneic stem-cell transplantation, and prophylactic donor lymphocyte transfusion in high-risk acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2005; 23: 5675–5687.
22. Doubek M, Folber F, Koristek Z, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in adult acute lymphoblastic leukemia: still not out of fashion. *Ann Hematol* 2009; 88: 881–887.
23. Fielding AK, Richards SM, Chopra R, et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood* 2007; 109: 944–950.

MUDr. František Folber

Interní hematologická klinika
FN Brno a LF Masarykovy univerzity Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
ffolber@fnbrno.cz