

Benigna Konatkowska

Ostra białaczka bifenotypowa i ostra białaczka z koekspresją
determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej
u dzieci leczonych w ośrodkach Polskiej Pediatricznej Grupy
ds. Leczenia Białaczek i Chłoniaków.

Rozprawa doktorska

zrealizowana w ramach grantu promotorskiego MNiSW N407 056 32/2459

Promotor:

Prof. zw. dr hab. Jacek Wachowiak

Klinika Onkologii, Hematologii i Transplantologii Pediatricznej
II Katedra Pediatrii
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Poznań 2010

Bardzo dziękuję

Panu Profesorowi
dr hab. med. Jackowi Wachowiakowi za
wszechstronną pomoc naukową,
merytoryczną, ogromną życzliwość i
poświęcony czas,

Kierownikom oraz Koleżankom i Kolegom
z ośrodków Polskiej Pediatricznej Grupy
ds. Leczenia Białaczek i Chłoniaków
za wspaniałą współpracę.

SPIS TREŚCI

| | |
|--|----|
| SKRÓTY STOSOWANE W PRACY..... | 7 |
| 1. WSTĘP..... | 13 |
| 1.1. Ostra białaczka bifenotypowa – immunologiczne kryteria diagnostyczne i epidemiologia..... | 13 |
| 1.2. Ostra białaczka o mieszanym fenotypie – immunologiczne i genetyczne kryteria diagnostyczne..... | 16 |
| 1.3. Czynniki rokownicze i wyniki leczenia u dzieci z ostrą białaczką bifenotypową i ostrą białaczką o mieszanym fenotypie..... | 19 |
| 1.4. Czynniki rokownicze i wyniki leczenia u dzieci z ostrą białaczką z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej..... | 22 |
| 2. CEL PRACY..... | 24 |
| 3. PACJENCI I METODY..... | 25 |
| 3.1. Pacjenci..... | 25 |
| 3.2. Metody..... | 25 |
| 3.2.1. Rutynowa diagnostyka wstępna..... | 25 |
| 3.2.2. Immunofenotypizacja szpiku kostnego..... | 27 |
| 3.2.3. Badania genetyczne..... | 27 |
| 3.2.4. Rozpoznanie ostrej białaczki bifenotypowej..... | 28 |
| 3.2.5. Rozpoznanie ostrej białaczki o mieszanym fenotypie..... | 30 |
| 3.2.6. Rozpoznanie ostrej białaczki z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej..... | 31 |
| 3.2.7. Protokoły terapeutyczne zastosowane w badanej grupie dzieci z ostrą białaczką oraz kwalifikacja do grup ryzyka..... | 32 |
| 3.2.7.1. Protokół leczniczy ALL-IC-BFM 2002..... | 32 |
| 3.2.7.2. Protokół leczniczy AML-BFM-2004-Interim..... | 38 |
| 3.2.7.3. Protokół leczniczy INTERFANT 06..... | 42 |
| 3.2.8. Kwalifikacja do leczenia poszczególnymi protokołami leczniczymi..... | 45 |
| 3.2.9. Ocena reakcji na leczenie..... | 46 |
| 3.2.10. Zdarzenia niekorzystne..... | 47 |
| 3.2.11. Analiza statystyczna..... | 47 |
| 4. WYNIKI..... | 49 |
| 4.1. Ostra białaczka bifenotypowa (BAL według EGIL)..... | 49 |
| 4.1.1. Występowanie BAL..... | 49 |
| 4.1.2. Podgrupa LyMy-BAL..... | 49 |
| 4.1.3. Podgrupa Ly-BAL..... | 55 |
| 4.1.4. Podgrupa My-BAL..... | 60 |
| 4.1.5. Pacjent z białaczką dwuliniową..... | 63 |
| 4.1.6. Charakterystyka wszystkich dzieci z BAL i kwalifikacja do grup rokowniczych..... | 65 |
| 4.1.7. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia w BAL..... | 65 |

| | |
|---|-----|
| 4.1.8. Analiza niepowodzeń i rokowanie w BAL..... | 67 |
| 4.1.9. Analiza wyników cytofluorymetrycznej oceny immunofenotypu u dzieci z BAL..... | 69 |
| 4.2. Ostra białaczka o mieszanym fenotypie (MPAL według EGIL)..... | 71 |
| 4.2.1. Występowanie MPAL..... | 71 |
| 4.2.2. Podgrupa B-myeloid NOS..... | 71 |
| 4.2.3. Podgrupa T-myeloid NOS..... | 75 |
| 4.2.4. Podgrupa MPAL z <i>BCR/ABL1</i> | 78 |
| 4.2.5. Podgrupa MPAL z rearanżacją genu <i>MLL</i> | 81 |
| 4.2.6. Podgrupa „rzadkie typy” – B/T MPAL..... | 84 |
| 4.2.7. Charakterystyka wszystkich dzieci z MPAL i kwalifikacja do grup rokowniczych..... | 84 |
| 4.2.8. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia w MPAL..... | 84 |
| 4.2.9. Analiza niepowodzeń i rokowanie w MPAL..... | 87 |
| 4.2.10. Analiza wyników cytofluorymetrycznej oceny immunofenotypu u dzieci z MPAL..... | 90 |
| 4.3. Grupa pacjentów spełniających kryteria zarówno BAL, jak i MPAL... | 91 |
| 4.4. Ostra białaczka limfoblastyczna BCP-komórkową z koekspresją antygenów mieloidalnych (My+BCP-ALL)..... | 98 |
| 4.4.1. Występowanie i charakterystyka pacjentów z My+BCP-ALL..... | 98 |
| 4.4.2. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z My+BCP-ALL..... | 98 |
| 4.4.3. Analiza wyników cytofluorymetrycznej oceny immunofenotypu w grupie My+BCP-ALL..... | 104 |
| 4.5. Ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkową z koekspresją antygenów mieloidalnych (My+T-ALL)..... | 105 |
| 4.5.1. Występowanie i charakterystyka pacjentów z My+T-ALL... | 105 |
| 4.5.2. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z My+T-ALL..... | 106 |
| 4.6. Ostra białaczka mieloblastyczna z koekspresją antygenów limfoidalnych (Ly+AML)..... | 111 |
| 4.6.1. Występowanie i charakterystyka pacjentów z Ly+AML..... | 111 |
| 4.6.2. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z Ly+AML..... | 111 |
| 4.6.3. Analiza wyników cytofluorymetrycznej oceny immunofenotypu w grupie Ly+AML..... | 118 |
| 4.7. Niemowlęta z BAL lub MPAL oraz z ostrą białaczką z koekspresją... | 119 |
| 4.8. Wyniki allogenicznej HSCT u dzieci z BAL/MPAL, My+BCP-ALL, My+T-ALL i Ly+AML z grupy wysokiego ryzyka w CR1..... | 122 |
| 5. DYSKUSJA..... | 123 |
| 5.1. Ostra białaczka bifenotypowa (BAL) i ostra białaczka o mieszanym fenotypie (MPAL)..... | 124 |
| 5.1.1. Występowanie BAL i MPAL..... | 124 |
| 5.1.2. Analiza wyników cytofluorymetrycznej oceny immunofenotypu | 126 |
| 5.1.2.1. Znaczenie ekspresji poszczególnych antygenów na komórkach blastycznych..... | 126 |

| | |
|--|-----|
| 5.1.2.2. Analiza częstości oznaczeń poszczególnych antygenów na komórkach blastycznych..... | 127 |
| 5.1.3. Zaburzenia genetyczne u dzieci z BAL i MPAL..... | 128 |
| 5.1.3.1. Zaburzenia genetyczne o znaczeniu diagnostycznym..... | 128 |
| 5.1.3.2. Zaburzenia genetyczne o znaczeniu rokowniczym..... | 129 |
| 5.1.4. Pozagenetyczne czynniki rokownicze u dzieci z BAL i MPAL..... | 131 |
| 5.1.5. Leczenie BAL i MPAL..... | 132 |
| 5.1.5.1. Stosowane protokoły terapeutyczne..... | 132 |
| 5.1.5.2. Wyniki leczenia..... | 136 |
| 5.1.5.3. Dobór terapii u chorych z BAL lub MPAL..... | 142 |
| 5.1.6. Niemowlęta z BAL lub MPAL..... | 143 |
| 5.1.7. Wskazania do allogenicznej HSCT u pacjentów z BAL lub MPAL..... | 144 |
| 5.1.8. Porównanie klasyfikacji EGIL i WHO w diagnostyce ostrej białaczki z niezidentyfikowanej linii (ALAL)..... | 144 |
| 5.2. Ostra białaczka z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej..... | 145 |
| 5.2.1. Występowanie ostrej białaczki z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej..... | 145 |
| 5.2.2. Znaczenie rokownicze koekspresji determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej..... | 146 |
| 5.2.2.1. Koekspresja antygenów mieloidalnych w ostrych białaczkach limfoblastycznych..... | 146 |
| 5.2.2.2. Koekspresja antygenów limfoidalnych w ostrych białaczkach mieloblastycznych..... | 148 |
| 6. WNIOSKI..... | 150 |
| 7. STRESZCZENIE | 152 |
| 8. SUMMARY | 156 |
| 9. PIŚMIENNICTWO | 160 |
| 10. SPIS TABEL I RYCIN | 166 |

SKRÓTY STOSOWANE W PRACY

AAL = (*ang. acute ambiguous leukemia*) ostra białaczka niezidentyfikowana

ABLL = (*ang. acute bilineal leukemia*) ostra białaczka dwuliniowa

ABC = (*ang. blasts count*) całkowita liczba blastów

ABL = (*ang. acute biclonal leukemia*) ostra białaczka biklonalna

aGvHD = (*ang. acute graft versus host disease*) ostra choroba przeszczep przeciw gospodarzowi

AL = (*ang. acute leukemia*) ostra białaczka

ALAL = (*ang. acute leukemia of ambiguous lineage*) ostra białaczka z niezidentyfikowanej linii

ALL = (*ang. acute lymphoblastic leukemia*) ostra białaczka limfoblastyczna

ALL-IC-BFM-2002 = protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal

AML = (*ang. acute myeloblastic leukemia*) ostra białaczka szpikowa

AML M0-M7 = typ ostrej białaczki szpikowej według klasyfikacji FAB

AML M4Eo = ostra białaczka szpikowa M4 z eozynofilią

AML-BFM-2004-Interim = protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal

AML1/ETO (obecnie zastąpiony nazwą *RUNX1-RUNX1T1*) = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(8;21)(q22;q22)

AMLL = (*ang. acute mixed lineage leukemia*) ostra białaczka o mieszanym fenotypie

APL = (*ang. acute promyelocytic leukemia*) ostra białaczka promielocytarna

AUL = (*ang. acute undifferentiated leukemia*) ostra białaczka niezróżnicowana

B – pochodzący z linii limfocyta B

BAL = (*ang. biphenotypic acute leukemia*) ostra białaczka bifenotypowa

BCP-ALL = (*B-cell prekursor acute lymphoblastic leukemia*) ostra białaczka limfoblastyczna z komórek prekursorowych limfocyta B

BCR/ABL1 = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2)

BFM = (*Berlin, Frankfurt, Munster*) grupa badawcza

BM = (*ang. bone marrow*) szpik kostny

BM15 = szpik kostny w 15 dobie leczenia

BM33 = szpik kostny w 33 dobie leczenia

B-myeloid NOS = podtyp białaczki o mieszanym fenotypie z obecnością antygenów charakterystycznych dla linii limfocyta B oraz mieloidalnej bez innych cech specyficznych

CBFB-MYH11 = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(16;16)(p13.1;q22)

cGvHD = (*ang. chronic graft versus host disease*) przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi

CML = (*ang. chronic myeloblastic leukemia*) przewlekła białaczka szpikowa

CNS = (*ang. central nervous system*) centralny układ nerwowy

common-ALL = ostra białaczka limfoblastyczna z komórek prekursorowych limfocyta B (CD10(+),cyIgμ(-))

CR = (*ang. complete remission*) remisja całkowita

CR1 = (*ang. the first complete remission*) pierwsza remisja całkowita

CSF = (*ang. cerebrospinal fluid*) płyn mózgowo-rdzeniowy

EFS = (*ang. event free survival*) przeżycie wolne od zdarzeń niepożądanych

EGIL = (*ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia*) Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek

ETV6-NCOA2 = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(8;12)(q13;p13)

ETV6-RUNX1 (kiedyś *TEL/AML1*) = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(12;21)(p13;q22)

FAB = (*French-American-British*) klasyfikacja francusko-amerykańsko-brytyjska

FLT3 = gen receptorowej kinazy tyrozynowej Flt3 (Fms-like tyrosine kinase 3) lub gen receptora Flt3 (Fms-like tyrosine kinase 3) zaliczanego do III rodziny receptorowych kinaz tyrozynowych, gen *FLT3* zlokalizowany jest na chromosomie 13q12;

FLT3-ITD = (*ang. FLT3 internal tandem duplications*) wewnętrzna duplikacja tandemowa genu *FLT3*;

FLT3-D835 = mutacja punktowa D835 genu *FLT3*;

GvHD = (*ang. graft versus host disease*) choroba przeszczep przeciw gospodarzowi

HRG = (*ang. high risk group*) grupa ryzyka wysokiego

HSCT = (*ang. hematopoietic stem cell transplantation*) przeszczepienie komórek hematopoetycznych

INTERFANT-06 = protokół leczenia ostrej białaczki u niemowląt obowiązujący od 2006 roku nadal

inv(16)(p13.1;q22) = inwersja w obrębie chromosomu 16

IRG = (*ang. intermediate risk group*) grupa ryzyka pośredniego

LFS = (*ang. leukemia free survival*) przeżycie wolne od białaczki

LRG = (*ang. low risk group*) grupa niskiego ryzyka w protokole INTERFANT-06

Ly+AML = ostra białaczka mieloblastyczna z koekspresją antygenów limfoidalnych

Ly-BAL = (*ang. lymphoblastic biphenotypic acute leukemia*) typ limfoblastyczny ostrej białaczki bifenotypowej

Ly/My-BAL = (*ang. lymphoblastic and myeloblastic biphenotypic acute leukemia*) typ limfoblastyczno-mieloblastyczny ostrej białaczki bifenotypowej

M1 = <5% blastów w rozmazie szpiku kostnego

M2 = $\geq 5\%$ i $< 25\%$ blastów w rozmazie szpiku kostnego

M3 = $\geq 25\%$ blastów w rozmazie szpiku kostnego

MLL = (*ang. mixed lineage leukemia gene*) gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23.

MLL/AF4, MLL/AF5, MLL/AF9, MLL/AF10, MLL/ENL, MLL/ELL – rearanżacje w obrębie genu MLL

MMD = (*ang. mismatched donor*) dawca częściowo niezgodny

MPAL = (*ang. mixed phenotype acute leukemia*) ostra białaczka o mieszanym fenotypie

MPO = mieloperoksydaza

MPO(+)BAL**** = ostra białaczka bifenotypowa z obecnością mieloperoksydazy

MPO(-)BAL**** = ostra białaczka bifenotypowa bez obecności mieloperoksydazy

MRD = (*ang. minimal residual disease*) choroba resztkowa

MRG = (*ang. middle risk group*) grupa pośredniego ryzyka w protokole INTERFANT-06

MSD = (*ang. matched sibling donor*) zgodny dawca rodzinny

MTX = metotreksat

MUD = (*ang. matched unrelated donor*) zgodny dawca niespokrewniony

My = pochodzący z linii mieloidalnej

My+ALL**** = ostra białaczka limfoblastyczna z koekspresją antygenów mieloidalnych

My-BAL**** = (*ang. myeloblastic biphenotypic acute leukemia*) typ mieloblastyczny ostrej białaczki bifenotypowej

My+BCP-ALL**** = ostra białaczka limfoblastyczna z komórek prekursorowych limfocyta B z koekspresją antygenów mieloidalnych

My+T-ALL = ostra białaczka limfoblastyczna z komórek prekursorowych i dojrzałych limfocytów T z koekspresją antygenów mieloidalnych

NK = (*ang. natural killer*) komórki „naturalni zabójcy”

NOS = (*ang. not otherwise specified*) bez innych cech specyficznych

OS = (*ang. overall survival*) całkowite przeżycie

PB = (*ang. peripheral blood*) krew obwodowa

pEFS = (*ang. probability of event free survival*) prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od zdarzeń niepożądanych

PGR = (*ang. prednisone good response*) steroidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną w 8 dobie leczenia, po 7-dniowej kuracji prednizonem

pLFS = (*ang. probability of leukemia free survival*) prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od białaczki

PML-RARA = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(15;17)(q22;q12)

pOS = (*ang. probability of overall survival*) prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia

PPGdsLBiC = Polska Pediatryczna Grupa do spraw Leczenia Białaczek i Chłoniaków

PPR = (*ang. prednisone poor response*) steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną w 8 dobie leczenia, po 7-dniowej kuracji prednizonem

preB-ALL = ostra białaczka limfoblastyczna z komórek prekursorowych limfocyta B (CD10(+),cyIgμ(+))

proB-ALL = (*early precursor B-ALL*) ostra białaczka limfoblastyczna z wczesnych komórek prekursorowych limfocyta B (CD10(-), cyIgμ(-))

RUNX1-RUNX1T1 (kiedyś *AML1/ETO*) = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(8;21)(q22;q22)

SRG = (*ang. standard risk group*) grupa ryzyka standardowego

T – pochodzący z linii limfocyta T

T-ALL = (*T-cell acute lymphoblastic leukemia*) ostra białaczka limfoblastyczna z komórek prekursorowych i dojrzałych limfocytów T

TEL/AML1 (obecnie zastąpiony nazwą *ETV6-RUNX1*) = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(12;21)(p13;q22)

T-myeloid NOS = podtyp białaczki o mieszanym fenotypie: z obecnością antygenów charakterystycznych dla linii limfocyta T oraz mieloidalnej bez innych cech specyficznych

UPN = (*ang. unique patient number*) indywidualny numer pacjenta

WBC = (*ang. white blood cell*) leukocyty krwi obwodowej

WHO = (*ang. World Health Organization*) Światowa Organizacja Zdrowia

1. WSTĘP

1.1. OSTRA BIAŁACZKA BIFENOTYPOWA – IMMUNOLOGICZNE KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE I EPIDEMIOLOGIA

Ostra białaczka (*acute leukemia*, AL) jest najczęstszym nowotworem złośliwym występującym u dzieci. Stanowi około 35-40% nowych rozpoznań choroby rozrostowej wieku rozwojowego. Do lat 80-tych XX wieku dzielono ją na dwa podstawowe typy – ostrą białaczkę limfoblastyczną (*acute lymphoblastic leukemia*, ALL) rozpoznawaną u około 85% dzieci z AL i mieloblastyczną (*acute myeloblastic leukemia*, AML) stanowiącą około 15% ostrych białaczek u dzieci. Wówczas choroby te rozpoznawano na podstawie mikroskopowo-światlnej morfologii komórek białaczkowych oraz specyficznych barwień cytochemicznych preparatów szpiku kostnego. Po wprowadzeniu do diagnostyki immunofenotypizacji komórek białaczkowych stwierdzono, iż w niektórych przypadkach wspomniane komórki wykazują ekspresję antygenów charakterystycznych zarówno dla linii limfoidalnej, jak i mieloidalnej¹⁻⁴. Chorobę tę początkowo nazwano „białaczką komórki pnia z możliwością różnicowania w kierunku komórki limfo- i mieloidalnej”, a następnie ostrą białaczką bifenotypową (*biphenotypic acute leukemia*, BAL)⁴, określaną w literaturze również jako ostra białaczka mieszana (*hybrid acute leukemia*, HAL)⁵, ostra białaczka mieszanoliniowa (*acute mixed lineage leukaemia*, AMLL)⁶⁻⁸, ostra białaczka dwuliniowa (*acute bilineal leukemia*, ABLL)⁹⁻¹⁰, ostra białaczka biklonalna (*acute biclonal leukemia*, ABL)⁵, ostra białaczka niezidentyfikowana (*acute ambiguous leukemia*, AAL)^{9, 11}, ostra białaczka z niezidentyfikowanej linii (*acute leukemia of ambiguous lineage*, ALAL)¹² a ostatnio – ostra białaczka o mieszanym fenotypie (*mixed phenotype acute leukemia*, MPAL)^{13, 14}.

Początkowo każdą białaczkę, w której stwierdzono występowanie determinant zarówno z linii limfoidalnej, jak i mieloidalnej nazywano bifenotypową⁶. Przy stosowaniu takich kryteriów białaczka bifenotypowa stanowiła aż ok. 20-25% spośród wszystkich ostrych białaczek u dzieci. Co więcej, w miarę doskonalenia, a przez to coraz większej czułości immunofenotypizacji ostrych białaczek przy zastosowaniu cytofluorometrii przepływownej, odsetek ostrych białaczek, w których komórki białaczkowe prezentowały antygeny (co najmniej jeden) pochodzące z 2 różnych linii rozwoju komórki multipotencjalnej wzrósł aż do 40%¹⁶. Ustalono więc, że obecność dwóch lub więcej antygenów drugiej linii stanowić będzie kryterium diagnostyczne białaczki bifenotypowej¹⁷. Po zastosowaniu tego kryterium, odsetek BAL zmniejszył się do około 8-10%. Zauważono jednak, że obecność antygenów cytoplazmatycznych takich jak cCD22, cCD3 czy MPO, ma większe znaczenie diagnostyczne, niż większości antygenów powierzchniowych. W związku z tym odczuwano coraz większą potrzebę ustalenia kryteriów, które eliminowałyby z grupy ostrych białaczek bifenotypowych białaczki jedynie z koekspresją antygenów drugiej linii.

Ostatecznie Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek (*European Group for Immunological Classification of Leukemia, EGIL*) w 1995 r. ustaliła kryteria diagnostyczne BAL¹⁸. Klasyfikacja ta opierała się na analizie cytofluorometrycznej określonych antygenów charakterystycznych dla linii limfoidalnej i mieloidalnej. Poszczególnym antygenom przyporządkowywano określoną liczbę punktów w skali od 0,5 do 2, a następnie, po zsumowaniu punktów dla każdej z linii, białaczkę kwalifikowano jako BAL, jeśli liczba punktów z każdej linii była większa od 2. Dodatkowo, w niektórych pracach, BAL rozpoznawano u pacjentów, u których stwierdzono dwie odrębne morfologicznie linie komórkowe oraz tzw. *lineage switch*, czyli zmianę fenotypu komórek w przypadku wznowy choroby¹⁹. Obecnie „lineage

switch” definiowane jest jako zmiana immunofenotypu komórek białaczkowych podczas leczenia indukującego remisję i zazwyczaj analizowane jako osobna podgrupa⁸.

13.

Z danych literaturowych wynika, iż stosując kryteria zaproponowane przez EGIL białaczka bifenotypowa stanowi u dzieci zaledwie ok. 1,8-3% ostrych białaczek¹⁹⁻²². W grupie białaczek bifenotypowych klasyfikowanych według EGIL wyróżniono 2 podtypy BAL, tj. podtyp limfoblastyczny ostrej białaczki bifenotypowej (*lymphoblastic biphenotypic acute leukemia*, Ly-BAL) oraz podtyp mieloblastyczny ostrej białaczki bifenotypowej (*myeloblastic biphenotypic acute leukemia*, My-BAL). Ly-BAL obejmuje BAL, w których komórki białaczkowe mają morfologię limfoblasta i charakteryzują się obecnością antygenów iCD22, iCD3 lub iCD79a, natomiast w podtypie My-BAL, komórki białaczkowe mają morfologię mieloblasta, charakteryzują się pozytywną reakcją cytochemiczną na obecność peroksydazy i/lub esterazy i/lub obecność wewnątrzplazmatycznej mieloperoksydazy zostaje potwierdzona w badaniu cytofluorymetycznym. Podtypy te wyodrębniono przede wszystkim w celu doboru odpowiedniego schematu leczenia, tj. odpowiednio jak dla ALL lub AML. Kryteria EGIL znacznie zredukowały ilość rozpoznań BAL, ale nadal podstawowym zarzutem była nadrozpoznanalność białaczek bifenotypowych, a tym samym brak możliwości stworzenia celowanego protokołu leczniczego dla tej grupy pacjentów. W związku z tym nadal prowadzono intensywne badania nad znaczeniem obecności poszczególnych antygenów na komórkach białaczkowych. Analizowano specyficzność poszczególnych determinat i ich znaczenie diagnostyczne.

1.2. OSTRA BIAŁACZKA O MIESZANYM FENOTYPIE – IMMUNOLOGICZNE I GENETYCZNE KRYTERIA DIAGNOSTYCZNE

Klasyfikacja EGIL obowiązywała do 2009 roku, kiedy to opublikowano zaktualizowaną klasyfikację nowotworów wywodzących się z komórek krwiotwórczych (z linii granulocytarnej, erytroidalnej, megakariocytarnej, monocyta/makrofaga i mastocyta) oraz z tkanki limfoidalnej przez Światową Organizację Zdrowia (*World Health Organization* WHO)¹⁴. W klasyfikacji tej ostrą białaczkę bifenotypową oraz ostrą białaczkę dwuliniową, które w poprzedniej klasyfikacji z 2001 roku stanowiły 2 odrębne jednostki w ramach grupy nazwanej ostrą białaczką z niezidentyfikowaną linią¹², zastąpiono jedną nazwą: ostro białaczka o mieszanym fenotypie. Dalej ograniczono ilość antygenów, których obecność może świadczyć o braku specyficzności pochodzenia komórki blastycznej i odstąpiono od przyporządkowywania poszczególnym antygenom wartości punktowych (patrz kryteria WHO, str. 30). Ponadto, pierwszy raz w historii, wzięto pod uwagę zmiany genetyczne, mianowicie wykluczono te białaczki, w których pomimo spełnienia immunologicznych kryteriów MPAL, stwierdzono zaburzenia genetyczne charakterystyczne dla podgrup AML z tymi zaburzeniami: 1. AML z t(8;21)(q22;q22); geny zaangażowane: *RUNX1-RUNX1T1*, 2. AML z inv(16)(p13.1q22) lub t(16;16)(p13.1q22); geny zaangażowane: *CBFβ-MYH11*, i 3. ostro białaczka promielocytowa (*acute promyelocytic leukemia*, APL) z t(15;17)(q22;q12); geny zaangażowane: *PML-RARA*). Do kryteriów włączono również badania histochemiczne. Spośród całej grupy białaczek z niezidentyfikowaną linią (*acute leukemia of ambiguous lineage*, ALAL) wyodrębniono 7 podgrup: 1) MPAL z t(9;22)(q34;q11.2); geny zaangażowane *BCR/ABL1*, 2) MPAL z t(v;11q23); rearanżacje *MLL*, 3) B-myeloid NOS (antygeny B+M, bez t(9;22)(q34;q11.2) (*BCR/ABL1*) i

rearanżacji *MLL*), 4) T-myeloid NOS (antygeny T+M, bez t(9;22)(q34;q11.2) (*BCR/ABL1*) i rearanżacji *MLL*), 5) ostra białaczka niezróżnicowana (*acute undifferentiated leukemia*, AUL) – bez ekspresji antygenów charakterystycznych dla linii limfocytarnej lub mielocytarnej, 6) „rzadkie typy” , to jest trzyliniowa MPAL M/B/T lub B/T oraz 7) inne ALAL takie jak np. białaczka lub chłoniak limfoblastyczny z komórek NK (*natura killer*, „naturalni zabójcy”). Nie bierze się już pod uwagę ilości obecnych linii komórek blastycznych. Podkreślono, że przed postawieniem diagnozy MPAL z t(9;22)(q34;q11.2); *BCR/ABL1*, konieczne jest wykluczenie fazy blastycznej przewlekłej białaczki szpikowej (*chronic myeloblastic leukemia*, CML).

Wraz z rozwojem technik immunocytofluorymetrycznych, dzięki którym rozpoznanie białaczki staje się coraz bardziej precyzyjne, w procesie diagnostycznym coraz więcej uwagi kieruje się na wyniki badań genetycznych i molekularnych. Określone rearanżacje genów stają się jednym z najważniejszych elementów w diagnostyce ostrych białaczek, szczególnie w klasyfikacji AML. Jak już wspomniano, większość dotychczasowych klasyfikacji opierała się na obecności na komórkach blastycznych liniowo charakterystycznych antygenów, a obecność poszczególnych zmian genetycznych zmieniała jedynie kwalifikację pacjenta do poszczególnych grup ryzyka (niskiego, standardowego czy wysokiego). Zastanawiano się, czy obecność danej zmiany genetycznej może determinować rozpoznanie bez względu na immunofenotyp blasta.

Dotychczas u dzieci z BAL lub MPAL przeprowadzono wiele badań genetycznych, poszukując specyficznych genów, rearanżacji czy mutacji, których obecność byłaby charakterystyczna dla tego typu białaczki. Zauważono, iż u tych pacjentów znacznie częściej niż w innych typach ostrych białaczek, obserwuje się zaburzenia chromosomalne, a spośród nich najczęściej translokację t(9;22)(q34;q11.2)

(*BCR/ABL1*) i rearanżacje w obrębie genu *MLL*^{8, 21, 23, 24}. Stąd w nowej klasyfikacji wyodrębniono podtypy MPAL z *BCR/ABL1* oraz MPAL z *MLL*. Już w latach 90-tych udowodniono, że u pacjentów z genem fuzyjnym *BCR/ABL1*, fuzja ta powoduje zmiany aktywności kinazy tyrozynowej poprzez zaburzenia regulacji programu komórki kontrolowanego przez gen *ABL*, co powoduje, że pacjenci z tym genem fuzyjnym rokują źle. W każdym przypadku AML z tym genem, konieczne jest wykluczenie kryzy blastycznej CML. Rearanżacje w genie 11q23 opisał po raz pierwszy Zieman-van der Poel i wsp.²⁵. Stwierdził, że występują one zarówno w ALL, jak i AML i nazwał ten gen *MLL* (mixed lineage leukemia) bez związku z BAL czy MPAL. Uważa się, że *MLL* występuje w ok. 20% przypadków ALL i 5% AML, czyli w znacznie wyższym odsetku niż występowanie MPAL. Potwierdzono jednak, że obecność rearanżacji *MLL* predysponuje do obecności antygenów różnych linii na komórce blastycznej. Szczególnie dotyczy to dzieci poniżej 1 roku życia, u których powyższą rearanżację stwierdza się u około 70% pacjentów. Obecność konkretnych rearanżacji (*MLL/AF4*, *MLL/AF5*, *MLL/AF9*, *MLL/AF10*, *MLL/ENL*, *MLL/ELL*) pogarsza rokowanie. Obie powyższe zmiany genetyczne nie są charakterystyczne dla MPAL, pomimo iż występują w zwiększonym odsetku dzieci z tym rodzajem białaczki. W związku z tym poszukuje się genów, aberacji, które byłyby charakterystyczne wyłącznie dla tego typu białaczki.

1.3. CZYNNIKI ROKOWNICZE I WYNIKI LECZENIA U DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ BIFENOTYPOWĄ I OSTRĄ BIAŁACZKĄ O MIESZANYM FENOTYPIE.

Drugim aspektem badań genetycznych w białaczkach, oprócz wartości diagnostycznych, jest ich przydatność w ocenie rokowania i reakcji na leczenie a tym samym w stratyfikacji do grup ryzyka. Jak już wspomniano, rola genów fuzyjnych *BCR/ABL1* i rearanzacji w obrębie *MLL* jest udowodniona. Poszukuje się zatem innych zmian, których obecność lub brak będzie determinować wrażliwość komórki na chemioterapię a tym samym prawdopodobieństwo całkowitego wyleczenia pacjenta.

Poszukuje się również innych czynników prognostycznych u dzieci z MPAL. W ostrej białaczce limfoblastycznej uznanymi czynnikami złej prognozy, oprócz zmian genetycznych i w immunocytofluorymetrii (pro-B ALL) są wiek poniżej roku oraz powyżej 6 roku życia, guz śródpiersia oraz wolna reakcja na leczenie (steroidooporność, *prednisone poor response*, PPR; M15>5%; M33>0,01%). W ostrej białaczce szpikowej, poza zmianami genetycznymi, najważniejszy jest typ według FAB (*French-American-British classification*) oraz reakcja na leczenie. W grupie pacjentów z BAL lub MPAL, ważna jest identyfikacja dodatkowych czynników ryzyka.

Najwięcej dyskusji toczy się wokół doboru leczenia u pacjentów z BAL lub MPAL. Wyniki większości przeprowadzonych dotąd badań zdają się przemawiać za tym, że szanse powodzenia terapii w grupie pacjentów z ostrą białaczką bifenotypową są zdecydowanie mniejsze (5-letnie przeżycie wolne od niekorzystnych zdarzeń (*event free survival*, EFS) 43%; 5-letnie całkowite przeżycie (*overall survival*, OS) 46%) niż w grupie dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną (5-letnie EFS 78%, OS 86%), a nawet niż z gorzej rokującą ostrą białaczką szpikową (5-letnie EFS 49%, 5-letnie OS 58%)¹⁹.

Obserwuje się zwiększony odsetek oporności na leczenie, wznów, oraz oporności na chemioterapię stosowaną po wznowie choroby. W związku z tym konieczne wydaje się opracowanie odrębnego protokołu leczenia dla tych dzieci.

Większość dotychczasowych badań i publikacji dotyczących dzieci z BAL lub MPAL było badaniami retrospektywnymi, w których w obliczu braku jednoznacznych zaleceń, o doborze terapii decydowali w dużej mierze lekarze z danego ośrodka czy grupy badawczej na podstawie stanu klinicznego, morfologii blastów (która zazwyczaj jest niejednoznaczna), wyników cytofluorymetrii oraz wyników cytogenetycznych i molekularnych (zazwyczaj wyniki niedostępne na początku leczenia przy podejmowaniu decyzji o wyborze schematu). Ponadto większość przeprowadzanych badań do 2008 roku dotyczyła równocześnie pacjentów dorosłych, przy czym w niektórych badaniach za dorosłych uznawano pacjentów już powyżej 15 roku życia^{19, 23, 24, 26}. Analizowane dotąd grupy dzieci były niewielkie i liczyły zwykle zaledwie 7-8 pacjentów. Wprawdzie jedno z badań z 2002 roku przeprowadzono na większej grupie 104 pacjentów z kilku ośrodków w Niemczech, Austrii i Holandii, ale wyniki zostały opublikowane wyłącznie w formie streszczenia zjazdowego. We wszystkich tych badaniach retrospektywnych nie określono kryteriów doboru terapii. Zwykle pacjenci otrzymywali leki według protokołów stosowanych w leczeniu ALL lub AML obowiązujących w danym okresie. Próby łączenia elementów tych terapii podejmowano pod koniec lat 90-tych, jednak spostrzegana toksyczność leczenia była zbyt duża i odstąpiono od dalszych prób takiej terapii¹⁸.

Od roku 2009 ukazało się kilka prac dotyczących dzieci z BAL lub MPAL. Analizowane grupy liczyły od 24 do 92 dzieci diagnozowanych i leczonych na przestrzeni aż od 8 do 20 lat^{8, 11, 13, 22, 27}. W większości z tych badań stosowano zdefiniowane kryteria doboru terapii, która opierała się na obowiązujących ówczesnie

protokołach leczenia ALL i AML. Niestety wszystkie te badania trwały >8 lat, co oznacza, że zmianę obowiązujących protokołów leczenia i brak jednorodności w już i tak małych grupach poddanych analizie. Tylko w jednym badaniu zastosowano terapię hybrydową²².

Kolejnym problemem związanym z leczeniem dzieci z BAL lub MPAL jest kwalifikacja do zabiegu przeszczepienia komórek hematopoetycznych (*hematopoietic stem cell transplantation*, HSCT). Zazwyczaj pacjenci z ALL lub AML są kwalifikowani do HSCT według kryteriów zawartych w aktualnie obowiązujących protokołach terapeutycznych, które nie zawierają specyficznych wskazań do HSCT u dzieci z BAL lub MPAL. W badaniach retrospektywnych dotyczących dzieci z BAL lub MPAL większość autorów wykazała podobne wyniki w grupie pacjentów leczonych bez zastosowania i z zastosowaniem HSCT w pierwszej całkowitej remisji (*the first complete remission*, CR1), kwalifikowanych do HSCT według kryteriów jak dla ALL lub AML^{11, 22, 27}. Tylko w jednej pracy wykazano lepsze przeżycie w grupie dzieci z BAL lub MPAL, u których wykonano HSCT¹⁰. W pozostałych pracach, jedynie w wyodrębnionych podgrupach pacjentów o szczególnie wysokim ryzyku niepowodzenia leczenia (*BCR/ABLI*, M3 w 15 dobie chemioterapii, M2 lub M3 w 33 dobie leczenia), przeprowadzone HSCT w CR1 poprawiło wyniki leczenia. Ze względu na bardzo małą grupę tych pacjentów (pojedyncze przypadki w każdej z badanych grup), obecnie nie jest możliwe statystyczne porównanie tych wyników^{11, 13, 19, 27}.

W Polsce rocznie rozpoznaje się u dzieci ok. 250 przypadków ostrej białaczki, a zatem każdego roku powinny być rozpoznawane co najmniej 4 przypadki BAL. W badaniach retrospektywnych własnych przeprowadzonych po raz pierwszy w ramach Polskiej Pediatrycznej Grupy ds. Leczenia Białaczek i Chłoniaków wśród dzieci z ostrą białaczką leczonych w latach 1995-2005, BAL stwierdzono jedynie u 6 dzieci²⁸.

Wydaje się, że przyczyną tak małej liczby dzieci z BAL był zbyt wąski panel badanych determinant, na podstawie których rozpoznawana byłaby BAL. Stwierdzono, iż u 6 dzieci, u których rozpoznano BAL, odsetek badanych markerów z zalecanego panelu wyniósł jedynie 53,4%, a w grupie pacjentów sklasyfikowanych jako ostra białaczka z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej – tylko 43,2%.

1.4 CZYNNIKI ROKOWNICZE I WYNIKI LECZENIA U DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ Z KOEKSPRESJĄ DETERMINANT Z LINII LIMFOIDALNEJ I MIELOIDALNEJ

Odrębny problem stanowią dzieci z rozpoznaniem ostrej białaczki z koekspresją antygenów linii limfoidalnej i mieloidalnej na komórkach białaczkowych (My+ALL, Ly+AML). Nie spełniają one kryteriów BAL według EGIL i najczęściej leczone są w zależności od dominacji antygenów jednej z wyżej wymienionych linii. Koekspresję antygenów drugiej linii na blastach stwierdza się aż u około jednej trzeciej dzieci z ostrą białaczką²⁹⁻³¹. Jest to więc niemała grupa, dla której również nie określono czynników prognostycznych i zasad stratyfikacji leczenia. Liczne prace poświęcono ustaleniu, które spośród antygenów na powierzchni lub w cytoplazmie blastów u pacjentów z My+ALL i Ly+AML mają największe znaczenie rokownicze^{26, 30-33}. Wydaje się, że najistotniejszy związek z prognozą mają te antygeny, które w klasyfikacji EGIL otrzymują 2 punkty (najwyższa punktacja), jednak nie zostało to ostatecznie udokumentowane. W większości badań stwierdzono, że koekspresją antygenów z innej linii nie wpływa na ostateczne wyniki leczenia ostrej białaczki, aczkolwiek część z tych prac dotyczyła pacjentów leczonych według zintensyfikowanych programów ze

względu na spostrzegane u nich zaburzenia genetyczne^{26,30-33}. Inni autorzy zauważyli, że koekspresja pogarsza rokowanie szczególnie w niektórych grupach wiekowych^{28, 30}.

Jak już wspomniano badania przeprowadzone dotąd u dzieci z BAL miały zwykle charakter badań retrospektywnych i objęte nimi zostały jedynie małe grupy pacjentów. W związku z tym istniała potrzeba przeprowadzenia badań prospektywnych, które objęłyby większą grupę dzieci z BAL i dzięki temu pozwoliłyby ocenić częstość występowania BAL, ocenić wyniki leczenia BAL uzyskiwane według stosowanych obecnie programów terapeutycznych dla ALL oraz AML i zidentyfikować specyficzne dla BAL czynniki rokownicze. Te ostatnie w przyszłości mogłyby się okazać pomocne w stratyfikacji leczenia dzieci z BAL, w tym w ustaleniu wskazania do transplantacji komórek krwiotwórczych, jak i przy próbie konstruowania nowych, specyficznych programów terapeutycznych przeznaczonych do leczenia dzieci z BAL.

Ponadto po opublikowaniu w 2009 r. przez WHO nowej klasyfikacji chorób rozrostowych układu krwiotwórczego, która nie uwzględnia BAL, a wyodrębnia m.in. MPAL, pojawiła się potrzeba porównania epidemiologii, wybranych markerów biologicznych oraz wyników leczenia ostrej białaczki kwalifikowanej jako BAL lub MPAL w zależności od zastosowanych kryteriów diagnostycznych.

Wobec wciąż niejednoznacznych spostrzeżeń dotyczących Ly+AML i My+ALL u dzieci, wydaje się, że także w odniesieniu do tej grupy pacjentów zachodzi potrzeba dalszych badań prospektywnych.

2. CEL PRACY

- 1) ocena częstości występowania ostrej białaczki bifenotypowej rozpoznawanej według kryteriów EGIL z podziałem na podtypy limfoblastyczny, mieloblastyczny i mielolimfoblastyczny, ostrej białaczki o mieszanym fenotypie rozpoznawanej według kryteriów WHO oraz ostrej białaczki z koekspresją antygenowych determinant limfoidalnych i mieloidalnych wśród polskich dzieci z ostrą białaczką;
- 2) ocena wyników leczenia dzieci z wyżej wymienionych grup za pomocą protokołów terapeutycznych ALL-IC-BFM-2002, AML-BFM-2004-Interim oraz INTERFANT-06;
- 3) próba zidentyfikowania czynników rokowniczych u dzieci z BAL/MPAL i u dzieci z ostrą białaczką z koekspresją determinant linii limfo- i mieloidalnej;
- 4) ocena wyników allogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych u dzieci z BAL/MPAL i z ostrą białaczką z koekspresją antygenowych determinant linii limfo- i mieloidalnej, zakwalifikowanych do transplantacji według kryteriów obowiązujących w protokołach terapeutycznych ALL-IC-BFM-2002 i AML-BFM-2004-Interim;
- 5) próba ustalenia zasad doboru strategii leczenia dzieci z BAL/MPAL;
- 6) porównanie kryteriów diagnostycznych BAL według EGIL oraz MPAL według WHO i ich przydatności klinicznej.

3. PACJENCI I METODY

3.1. PACJENCI

W latach 2007-2009 w 16 ośrodkach PPGdsLBiC ostra białaczkę rozpoznano u 888 dzieci. Pacjenci zostali poddani rutynowym, opisanym poniżej, badaniom diagnostycznym niezbędnym do rozpoznania ostrej białaczki i monitorowania skuteczności jej leczenia, a określonym przez programy terapeutyczne ALL-IC-BFM-2002, AML-BFM-2004-Interim oraz INTERFANT-06, które obecnie obowiązują w ośrodkach PPGdsLBiC.

Przy przyjęciu do oddziału rodzice, a także pacjenci byli szczegółowo informowani - w sposób odpowiedni do wieku - o planowanych badaniach i w przypadku wyrażenia zgody na te badania podpisywali stosowne oświadczenie.

Rodzice i pacjenci w wieku powyżej lat 13 wyrażali pisemnie dobrowolną, świadomą zgodę na udział w badaniu.

Projekt badań został pozytywnie zaopiniowany przez Komisję Bioetyczną przy Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu (uchwała nr 787/06).

3.2. METODY

3.2.1. RUTYNOWA DIAGNOSTYKA WSTĘPNA

AL rozpoznawano w oparciu o ocenę mielogramu, w połączeniu z obrazem klinicznym i wynikami morfologii, rozmazu krwi obwodowej, badań cytochemicznych i immunofenotypu blastów.

Szpik kostny pozyskiwano w wyniku punkcji aspiracyjnej górnego tylnego lub przedniego kolca talerza biodrowego w znieczuleniu miejscowym polocainą oraz dożylnym podaniu dolarganu i dormicum. Wykonywano rozmazy szpiku, które barwiono metodą May-Grünwalda-Giemsy oraz wykonywano odczyn peroksydazowy według Grahama. Ilościowo oceniano cytologię szpiku (odsetek blastów) i morfologię blastów białaczkowych (według klasyfikacji FAB) oraz oceniano odczyn peroksydazowy (reakcja dodatnia jeśli więcej niż 5% komórek wykazuje obecność barwnego, złotawobrunatnego produktu reakcji). Diagnozę ostrej białaczki stawiano, jeśli odsetek blastów w szpiku wyniósł $\geq 25\%$ (według ALL-IC-BFM 2002).

W chwili rozpoznania u wszystkich pacjentów zgodnie z wymogami stosowanych protokołów terapeutycznych, wykonywane było nakłucie lędźwiowe (*lumbar puncture*, LP) z badaniem płynu mózgowo-rdzeniowego (*cerebrospinal fluid*, CSF) oraz tomografia komputerowa (KT) lub rezonans magnetyczny (MR) głowy celem oceny stanu centralnego układu nerwowego (*central nervous system*, CNS). Stosowano następujące definicje stanu CNS:

CNS1 – tj. ujemny: bez klinicznych objawów choroby CNS, bez nieprawidłowości w MR/KT głowy, prawidłowe wyniki oftalmoskopii, CSF bez blastów.

CNS2 – jednoznacznie stwierdzona obecność blastów ze stosunkiem RBC:WBC $\leq 100:1$ w osadzie po zwirowaniu CSF z liczbą komórek $\leq 5/\text{mcl}$ lub obecność limfoblastów ze stosunkiem RBC:WBC $> 100:1$ (traumatyczne LP, CSF zanieczyszczony krwią).

CNS3 – tj. dodatni: uszkodzenie w mózgu lub/i oponach widoczne w KT/MR lub porażenie nerwów czaszkowych niezwiązane z innymi przyczynami, nawet gdy CSF jest wolny od blastów a KT/MR nie wykazuje żadnego ograniczonego uszkodzenia wewnątrz mózgowo-czaszki lub izolowane zajęcie siatkówki lub nietraumatyczne LP

dające CSF z ilością krwinek białych $>5/mcl$ z czego większość stanowią blasty w preparacie cytospinowym.

Wszystkim pacjentom wykonywano badanie ultrasonograficzne narządów jamy brzusznej i gonad (chłopcy), badanie radiologiczne narządów klatki piersiowej oraz nadgarstka ręki niedominującej i kręgosłupa lędźwiowego. Badania te posłużyły do oceny stopnia zajęcia narządów pozaszpikowych.

3.2.2. IMMUNOFENOTYPIZACJA SZPIKU KOSTNEGO

Komórki szpiku kostnego poddawano immunofenotypizacji metodą cytofluorymetrii przepływowej przy użyciu trzy-, cztero-, lub sześciokolorowego panelu monoklonalnych przeciwciał znakowanych fluorochromami określonych w protokołach terapeutycznych ALL-IC-BFM-2002 i AML-BFM-2004-Interim;

Zalecano, aby użyty panel przeciwciał uwzględniał niżej wymienione antygenowe determinanty linii limfocyta B i T oraz linii mieloidalnej, które są nieodzowne do rozpoznania ostrej białaczki bifenotypowej według kryteriów zaproponowanych przez European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL):

- linia limfocyta B: iCD79a, iIgM, iCD22, CD19, CD10, CD20, iTdT, CD24
- linia limfocyta T: iCD3, TCR, CD2, CD5, CD8, CD10, iTdT, CD7, CD1a
- linia mieloidalna: iMPO, CD13, CD33, CD65, CD117, CD14, CD15, CD64

Za dodatni uznawano antygen obecny na $\geq 20\%$ komórek blastycznych.

Badania wykonywano w ośrodkach macierzystych prowadzących leczenie pacjentów a w Poznaniu w Katedrze Immunologii Klinicznej, przy ul. Rokietnickiej 5D.

3.2.3. BADANIA GENETYCZNE

U każdego pacjenta z ostrą białaczką wykonywano badanie kariotypu. Ocena kariotypu przeprowadzana była na podstawie analizy co najmniej 20 płytek metafazowych.

Identyfikację translokacji t(9;22)(q34;q11.2) (*BCR-ABL1*), t(12;21)(p13;q22) (*ETV6-RUNX1*), t(8;21)(q22;q22) (*RUNX1-RUNX1T1*), t(15;17)(q22;q12) (*PML/RARA*) oraz oznaczanie obecności rearanżacji genu *MLL* i inv16 wykonywano metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH), natomiast mutację D835 i duplikacje tandemowe genu *FLT3* metodą PCR. Badania translokacji t(9;22)(q34;q11.2) (*BCR-ABL1*) oraz rearanżacje genu *MLL* wykonywano u wszystkich dzieci z ostrą białaczką, pozostałe translokacje u części badanych pacjentów.

Badania wykonywano w ośrodkach macierzystych prowadzących leczenie pacjentów a w Poznaniu w Zakładzie Diagnostyki Medycznej, przy ul. Dobrej 38.

3.2.4. ROZPOZNANIE OSTREJ BIAŁACZKI BIFENOTYPOWEJ

BAL rozpoznawana była według kryteriów zaproponowanych przez EGIL¹⁸ u pacjentów, u których stwierdzono ponad 2 punkty dla co najmniej 2 linii komórkowych: limfocytów B, T lub mieloidalnej (Tabela 1).

Tabela 1. Kryteria klasyfikacji ostrej białaczki bifenotypowej według European Group for Immunological Classification of Leukemia (EGIL), 1998.

| Punkty | Linia limfocyta B | Linia limfocyta T | Linia mieloidalna |
|---------------|--------------------------|--|--------------------------|
| 2 | iCD79a, iIgM, iCD22 | iCD3, TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$ | iMPO |
| 1 | CD19, CD10, CD20 | CD2, CD5, CD8, CD10 | CD13, CD33, CD65, CD117 |
| 0.5 | iTdT, CD24 | iTdT, CD7, CD1a | CD14, CD15, CD64 |

Pacjenci z BAL zostali podzieleni na 4 podgrupy:

- podgrupa 1 (typ limfoidalny ostrej białaczki bifenotypowej, Ly-BAL), w której komórki białaczkowe charakteryzowały się morfologią typową dla limfoblastów oraz ekspresją antygenów iCD79a, iCD22 lub iCD3, bez ekspresji iMPO;
- podgrupa 2 (typ mieloidalny ostrej białaczki bifenotypowej, My-BAL), w której komórki białaczkowe charakteryzowały się morfologią typową dla mieloblastów oraz ekspresją antygeny iMPO, bez ekspresji antygenów cytoplazmatycznych charakterystycznych dla linii limfocytarnej;
- podgrupa 3 (typ limfo-mieloidalny ostrej białaczki bifenotypowej, Ly/My-BAL), w której na komórkach białaczkowych stwierdzano ekspresję zarówno antygeny iMPO, jak i co najmniej jednego antygeny cytoplazmatycznego charakterystycznego dla linii limfocytarnej (iCD79a, iCD22 i/lub iCD3);
- podgrupa 4 – białaczka dwuliniowa – w badaniu morfologicznym i/lub cytofluometrycznym stwierdzano obecność 2 odrębnych linii komórkowych.

3.2.5. ROZPOZNANIE OSTREJ BIAŁACZKI O MIESZANYM FENOTYPIE

MPAL rozpoznawano na podstawie kryteriów WHO³⁴:

1) Linia mieloidalna:

- dodatnia mieloperoksydaza (w badaniu cytofluorymetrycznym, immunohistochemicznym lub cytochemicznym) lub
- cechy różnicowania w kierunku monocytu (co najmniej 2 z następujących: niespecyficzna esteraza, CD11c, CD14, CD64, lizozym)

2) linia limfocyta T

- cytoplazmatyczne CD3 (w badaniu cytofluorymetrycznym z przeciwciałami do łańcucha epsilon CD3, badania immunohistochemiczne z przeciwciałami poliklonalnymi anti-CD3 mogą wykrywać łańcuchy zeta, które nie są specyficzne dla komórek T) lub

- powierzchniowe CD3 (rzadko w MPAL)

3) linia limfocyta B (wymagane kilka antygenów)

- silna ekspresja CD19 z co najmniej jedną silną ekspresją: CD79a, cCD22, CD10 lub
- słaba ekspresja CD19 z co najmniej 2 silnymi ekspresjami: CD79a, cCD22, CD10.

Pacjenci z MPAL zostali podzieleni na 7 podgrup:

1. MPAL z t(9;22)(q34;q11.2); geny zaangażowane *BCR/ABL1*,
2. MPAL z t(v;11q23); rearanżacje *MLL*,
3. B-myeloid NOS (antygeny B+My, bez *BCR/ABL1* i *MLL*),
4. T-myeloid NOS (antygeny T+My, bez *BCR/ABL1* i *MLL*),

5. ostra białaczka niezróżnicowana (*acute undifferentiated leukemia*, AUL) – bez ekspresji antygenów charakterystycznych dla linii limocytarnej lub mielocytarnej,
6. „rzadkie typy” to jest trzyliniowa MPAL My/B/T lub B/T
7. inne ALAL takie jak np. białaczka lub chłoniak limfoblastyczny z komórek NK.

Z grupy MPAL wykluczono te przypadki ostrych białaczek, w których mimo, iż spełniały kryteria WHO, stwierdzono zmiany genetyczne charakterystyczne dla AML:

1. AML z t(8;21)(q22;q22); *RUNX1-RUNX1T1* (*AML1/ETO*),
2. AML z inv(16)(p13.1q22) lub t(16;16)(p13.1q22); *CBFB/MYH11*,
3. ostra białaczka promielocytowa (*acute promyelocytic leukemia*, APL) z t(15;17)(q22;q12); *PML/RARA*

Białaczki te zakwalifikowano do grupy ostrych białaczek szpikowych.

3.2.6. ROZPOZNANIE OSTREJ BIAŁACZKI Z KOEKSPRESJĄ DETERMINANT Z LINII LIMFOIDALNEJ I MIELOIDALNEJ

Do grupy dzieci z ostrą białaczką z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej zakwalifikowano pacjentów z immunofenotypem charakterystycznym dla ALL i koekspresją niektórych antygenów typowych dla linii mieloidalnej (My+T-ALL i My+BCP-ALL) oraz pacjentów z immunofenotypem charakterystycznym dla AML i koekspresją niektórych antygenów typowych dla linii limfoidalnej (Ly+AML), którzy jednak nie spełniali kryteriów diagnostycznych BAL według EGIL (1998) i MPAL według WHO (2009);

3.2.7. PROTOKOŁY TERAPEUTYCZNE ZASTOSOWANE W BADANEJ GRUPIE DZIECI Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ ORAZ KWALIFIKACJA DO GRUP RYZYKA

Pacjenci, u których rozpoznano BAL lub MPAL lub z Ly+AML i My+ALL leczeni byli według programów terapeutycznych: ALL-IC-BFM-2002, AML-BFM-2004-Interim lub INTERFANT-06 i stratyfikacja leczenia następowała według grup ryzyka przedstawionych poniżej.

3.2.7.1. Protokół leczniczy ALL-IC-BFM-2002

Grupa ryzyka standardowego (*ang. standard risk group, SRG*):

steroidowrażliwość (*prednisone good responders, PGR*)

i wiek \geq 1 rok do <6 lat

i wstępna leukocytoza (WBC) $<20 \times 10^9/l$

i w 15 dobie szpik M1 lub M2

i w 33 dobie szpik M1

Grupa ryzyka pośredniego (*ang. intermediate risk group, IRG*):

steroidowrażliwość

i wiek >6 lat i/lub $WBC \geq 20 \times 10^9/l$

i w 15 dobie szpik M1 lub M2

i w 33 dobie szpik M1 lub

kryteria SRG, ale w 15 dobie szpik M3 i w 33 dobie szpik M1

Grupa ryzyka wysokiego (*ang. high risk group, HRG*):

1. IRG i w 15 dobie szpik M3 lub

2. steroidooporność (*prednisone poor responders, PPR*) lub

3. w 33 dobie szpik M2 lub M3 lub

4. translokacje t(9;22) lub t(4;11)

Pacjenci otrzymywali chemioterapię przedstawioną poniżej (Rycina 1, Tabela 2).

Rycina 1. Schemat leczenia wg ALL-IC-BFM-2002

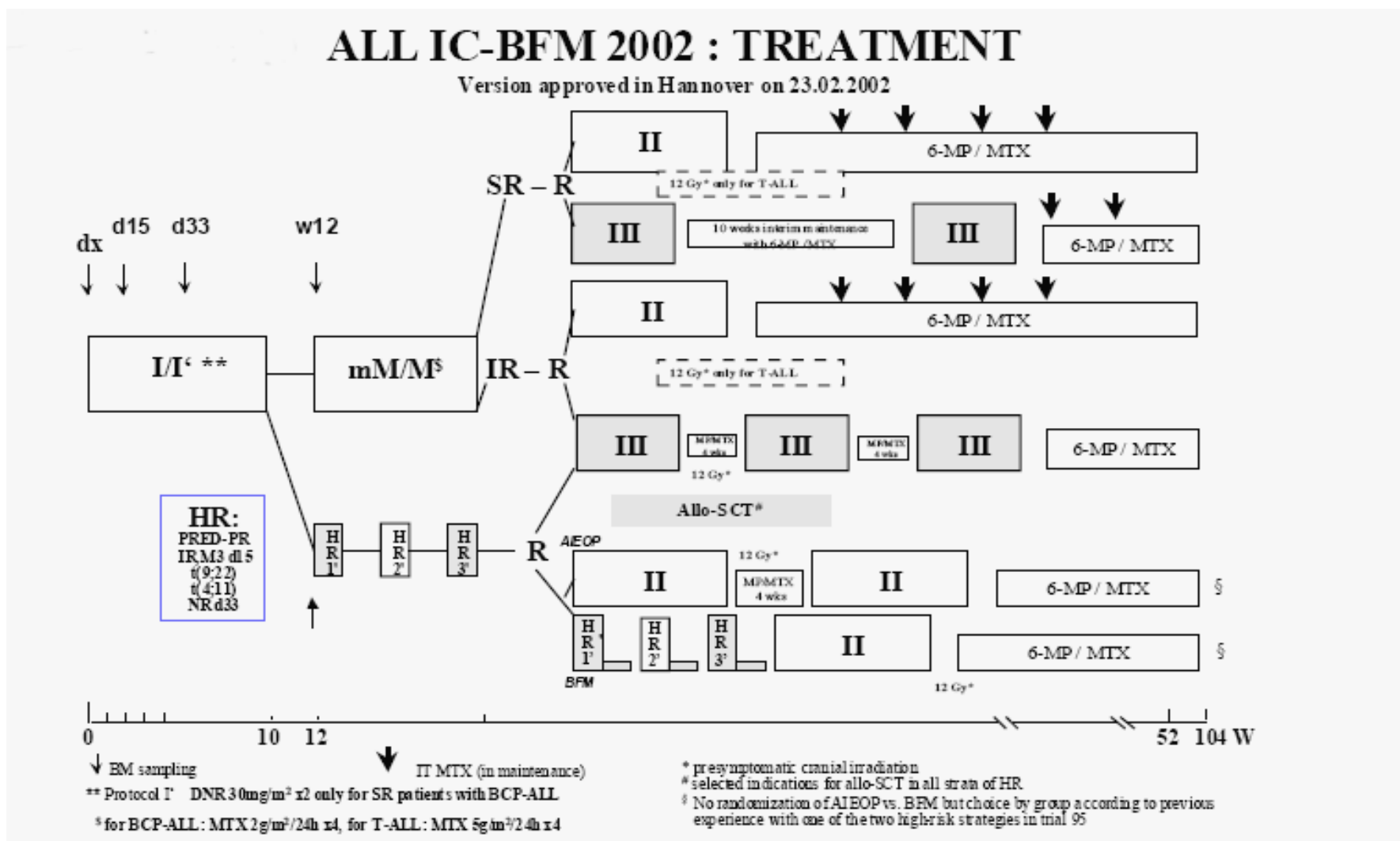


Tabela 2. Szczegółowy schemat leczenia wg ALL-IC-BFM-2002

| Etap leczenia | Leki | Dawka (mg/m ²) | Dni |
|------------------------|--|--|--|
| Protokół I | Encorton p.o. Winkrystyna i.v. Daunorubicyna i.v. L-asparaginaza i.v. Cyklofosfamid i.v. 6-Merkaptopuryna p.o. Cytarabina i.v. Metotreksat i.th. | 60 1,5 (max.2mg) 30 5000IU/m ² 1000 60 75 w zal. od wieku ¹ | 1-28 8, 15, 22, 29 8, 15, 22, 29 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33 36, 64 36-63 38-41, 45-48, 52-55, 59-62 1, 15, (18) ² , (27) ² , 29, 45, 59 |
| Protokół mM | 6-Merkaptopuryna p.o. MTX i.v. Metotreksat i.th. | 25 2000 w zal. od wieku ¹ | 1-56 8/9, 22/23, 36/37, 50/51 8, 22, 36, 50 |
| Protokół M | 6-Merkaptopuryna p.o. MTX i.v. Metotreksat i.th. | 25 5000 w zal. od wieku ¹ | 1-56 8/9, 22/23, 36/37, 50/51 8, 22, 36, 50 |
| Protokół II | Deksamethason p.o. Winkrystyna i.v. Doksorubicyna i.v. L-asparaginaza i.v. Cyklofosfamid i.v. 6-Tioguanina p.o. Cytarabina i.v. Metotreksat i.th. | 10 1,5(max 2mg) 30 10000IU/m ² 1000 60 75 w zal. od wieku ¹ | 1-21 8, 15, 22, 29 8, 15, 22, 29 8, 11, 15, 18 36 36-49 38-41, 45-48 (1) ² , (18) ² , 38, 45 |
| Protokół III | Deksamethason p.o. Winkrystyna i.v. Doksorubicyna i.v. L-asparaginaza i.v. Cyklofosfamid i.v. 6-Tioguanina p.o. Cytarabina i.v. Metotreksat i.th. | 10 1,5(max 2mg) 30 10000IU/m ² 500 60 75 w zal. od wieku ¹ | 1-14 1, 8 1, 8 1, 4, 8, 11 15 15-28 17-20, 24-27 (1) ² , 17, 24 |
| Blok HR1 | Deksamethason p.o. Winkrystyna i.v. Cytarabina i.v. Metotreksat i.v. Cyklofosfamid i.v. L-asparaginaza i.v. Metotreksat i.th. Cytarabina i.th. Solu-Decortin i.th. | 20 1,5 (max 2mg) 2000 5000 200x5 25000 w zależności od wieku ¹ | 1-5 1, 6 5, 6 1/2 1x2, 2x3, 2x4 6, 11 1 1 1 |
| Blok HR2 | Deksamethason p.o. Windezyna i.v. Daunorubicyna i.v. Metotreksat i.v. Ifosfamid i.v. L-asparaginaza i.v. Metotreksat i.th. Cytarabina i.th. Solu-Decortin i.th. | 20 3 30 5000 800x5 25000 w zależności od wieku ¹ | 1-5 1, 6 5/6 1/2 1x2, 2x3, 2x4 6, 11 1, (5) ² 1, (5) ² 1, (5) ² |
| Blok HR3 | Deksamethason p.o. Cytarabina i.v. Etopozyd L-asparaginaza i.v. Metotreksat i.th. Cytarabina i.th. Solu-Decortin i.th. | 20 2000x4 100x5 25000 w zależności od wieku ¹ | 1-5 2x1, 2x2 2x3, 2x4, 1x5 6, 11 5 5 5 |
| Leczenie podtrzymujące | Metotreksat p.o. 6-Merkaptopuryna | 20 50 | 1x tydzień codziennie do 104 tyg. lecz. |

Pacjenci kwalifikowani byli do zabiegu przeszczepu komórek krwiotwórczych według wskazań w protokole ALL-IC-BFM-2002 – zmodyfikowane przez grupę BFM (Tabela 3).

Tabela 3. ALL-IC-BFM-2002 –zmodyfikowane prze grupę BFM wskazania do HSCT u dzieci z ALL w CR1.

| Wskazania | | MSD HSCT | MUD HSCT | MMD HSCT |
|-----------|--------------------------------|----------|----------|----------|
| NR BM33 | | + | + | + |
| PPR | + T-ALL | + | + | - |
| | + pro B-ALL | + | + | - |
| | + WBC > 100x10 ⁹ /l | + | + | - |
| | + t(9;22) lub <i>BCR/ABL1</i> | + | + | + |
| | + t(4;11) lub <i>MLL/AF4</i> | + | + | - |
| PGR | + t(9;22) lub <i>BCR/ABL1</i> | + | + | - |
| | + t(4;11) lub <i>MLL/AF4</i> | + | - | - |
| HRG | + M3 BM15 | + | + | - |

ALL – ang. acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; *BCR/ABL1* - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); *BM* – ang. bone marrow, szpik kostny: *BM15*-status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię w 15 dniu leczenia, *BM33* – w 33 dniu leczenia, *M1* - <5% blastów, *M2*≥5%, <25% blastów, *M3*≥25% blastów; *HSCT* – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; *MLL* = (ang. mixed lineage leukemia gene) gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; *MLL/AF4* – rearanżacja genu *MLL*; *MMD* – ang. mismatched donor, dawca częściowo niezgodny; *MUD* – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; *MSD* – ang. matched sibling donor, zgodny dawca rodzinny; *NR* – ang. non Respondek, pacjent nieodpowiadający na chemioterapię; *PR* – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; *PGR* – ang. prednisone good response, steroidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, *PPR* – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; *pro-B-ALL* – ostra białaczka limfoblastyczna z wczesnych prekursorów limfocyta B; *RG* – ang. risk group, grupa ryzyka; *HRG* – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka; *T-ALL* – ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkowa; *WBC* – ang. white blood cells, leukocyty;

Od sierpnia 2009 ponownie zmieniły się wskazania do HSCT dla dzieci z ALL w CR1 w zależności od poziomu choroby resztkowej (MRD) (Tabela 4).

Tabela 4. Wskazania do HSCT w ALL w CR1 według BFM (2009)

| | | Wyniki PCR-MRD | | | | Brak wyników MRD |
|---------------------------------|------------------------------------|----------------|-------------|--------------------------|--------------------------|------------------|
| | | MRD-SR | MRD-MR | MRD-HR | | |
| | | | | MRD-TP2>10 ⁻³ | MRD-TP2>10 ⁻² | |
| Tylko MRD-HR >=10 ⁻³ | | Nie dotyczy | Nie dotyczy | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | Nie dotyczy |
| KRYTERIA HRG | NR d 33 | - | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD/MMD |
| | PPR+(9;22) | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD/MMD |
| | PPR+(4;11) | MSD/MUD | MSD/MUD | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD |
| | PPR+proB-ALL | Nie | Nie | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD |
| | PPR+T-ALL | Nie | Nie | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD |
| | PPR+M3 BM15 | Nie | Nie | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD |
| | PPR+ WBC>100x10 ⁹ /l | Nie | Nie | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD |
| | PGR+(9;22) | Nie | MSD/MUD | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | MSD/MUD |
| | PGR+(4;11) | MSD | MSD | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | MSD |
| | PPR | Nie | Nie | MSD/MUD | MSD/MUD/MMD | Nie |

ALL – ang. acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); BM – ang. bone marrow, szpik kostny; BM15-status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię w 15 dniu leczenia, BM33 – w 33 dniu leczenia, M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; MLL = (ang. mixed lineage leukemia gene) gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; MLL/AF4 – rearanżacja genu MLL; MMD – ang. mismatched donor, dawca częściowo niezgodny; MUD – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; MSD – ang. matched sibling donor, zgodny dawca rodzinny; NR – ang. non Respondek, pacjent nieodpowiadający na chemioterapię; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; pro-B-ALL – ostra białaczka limfoblastyczna z wczesnych prekursorów limfocyta B; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka; T-ALL – ostra białaczka limfoblastyczna T-komórkowa; WBC – ang. white blood cells, leukocyty;

MRD – ang. minimal residual disease, choroba resztkowa:

MRD-SR: MRD ujemne w 4 i 12 tyg. indukcji remisji

MRD-MR: MRD dodatnie w 4 i 12 tyg. indukcji remisji, ale <10⁻³ w 12 tyg. (TP2)

MRD-HR: MRD >=10⁻³ w 12 tyg. (TP2).

3.2.7.2. Protokół leczniczy AML-BFM-2004-Interim

Grupa ryzyka standardowego (SRG): AML FAB M3; t(15;17)

AML + zespół Downa

AML FAB M1/M2 z pałkami Auera¹

AML FAB M1/M2; t(8;21)¹

AML FAB M4Eo¹; inv.(16)¹

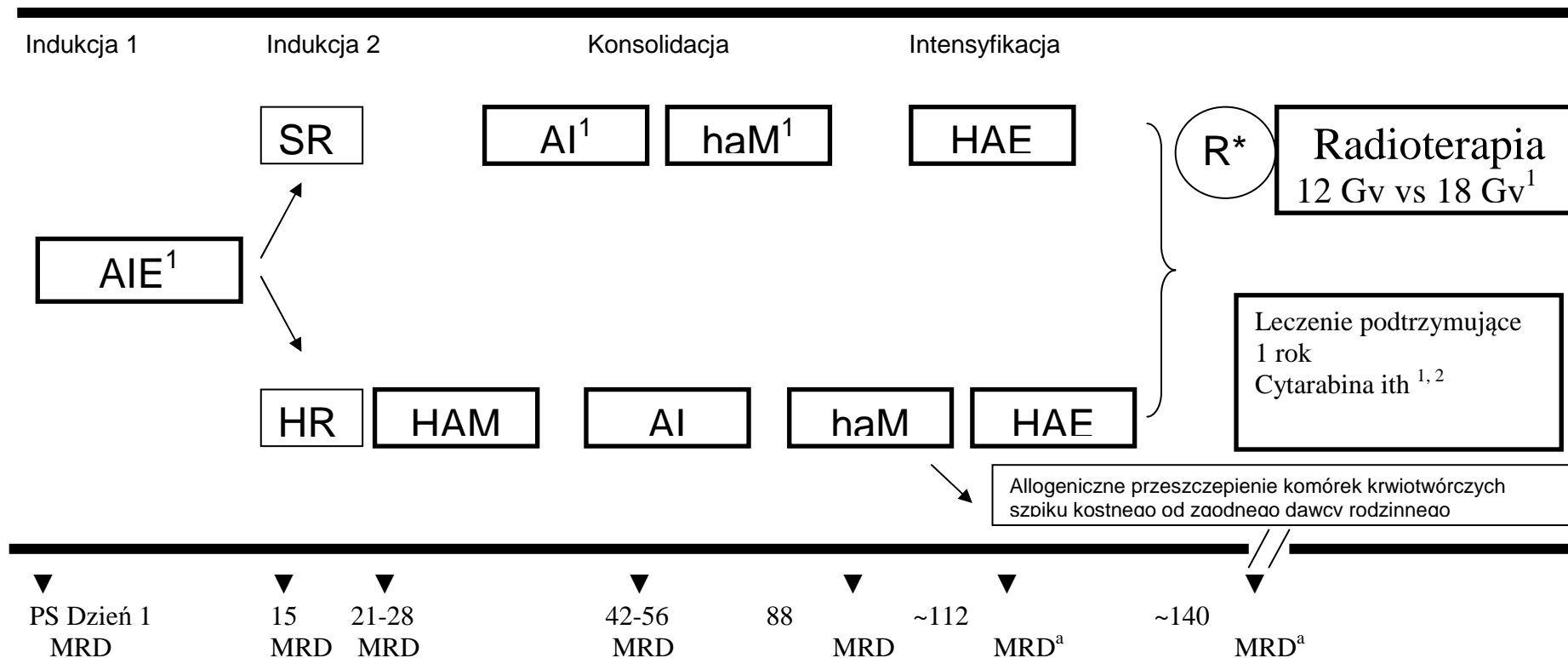
Grupa ryzyka wysokiego (HRG): AML FAB M0, M4, M5, M6, M7

AML FAB M1/M2 bez pałek Auera

¹ W przypadku stwierdzenia blastów >5% w dniu 15 (od 1 dnia indukcji) lub *FLT3-ITD*, należy przekwalifikować do grupy HRG.

Pacjenci otrzymywali chemioterapię przedstawioną poniżej (Rycina 2, Tabela 5).

Rycina 2. Schemat leczenia wg AML-BFM-2004-Interim



^a – u pacjentów z obecnym markerem molekularnym

¹ – inne postępowanie dla **dzieci z AML w zespole Downa i dla dzieci z AML M3**

² – jeden raz w tygodniu, przez 4 tygodnie od rozpoczęcia leczenia podtrzymującego

A: cytarabina

I: idarubicyna

E: etopozyd

HA: cytarabina wysokodawkowana

HAE:

R:

SR:

HR:

wysokie dawki cytarabina/ etopozyd

randomizacja

grupa standardowego ryzyka

grupa wysokiego ryzyka

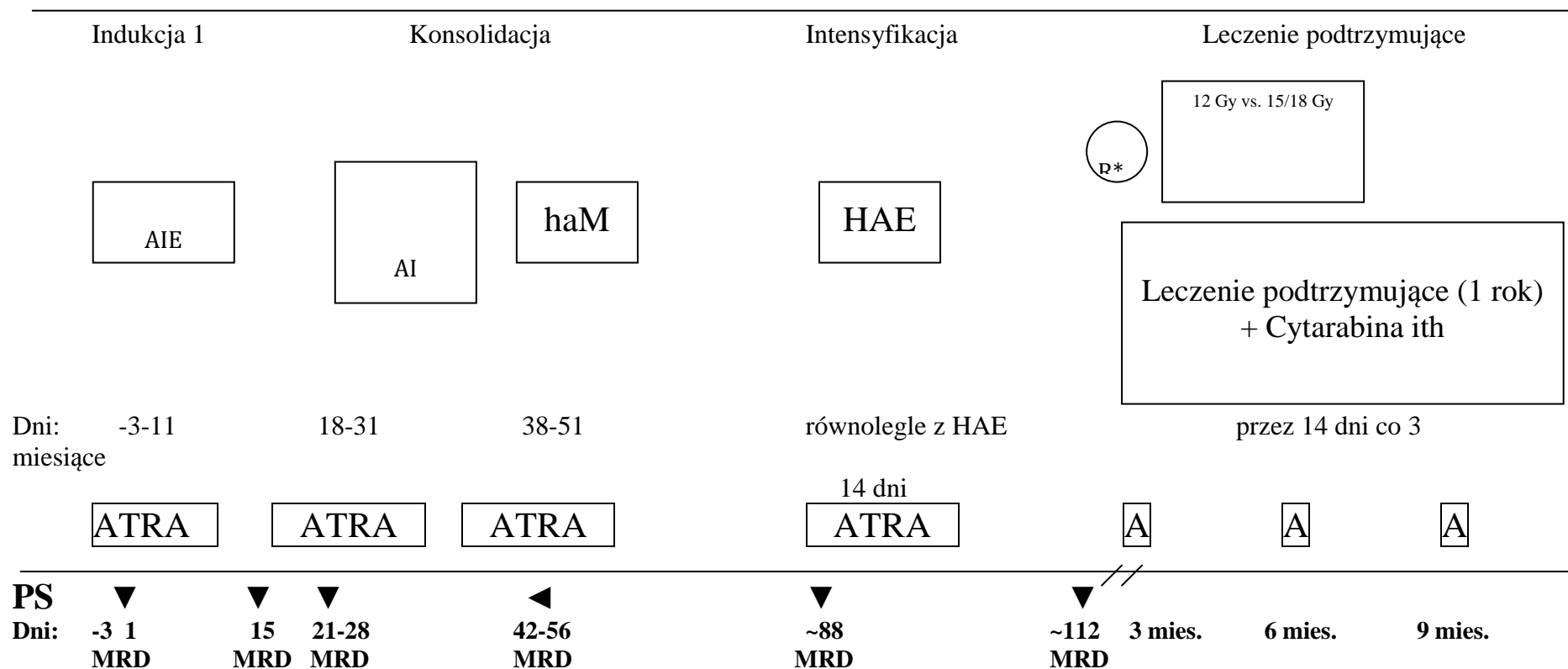
R* - w PPGLBC bez randomizacji

M: mitoksantron

MRD: minimalna choroba resztkowa

PS: punkcja szpiku

Rycina 3. Schemat leczenia ostrej białaczki promielocytowej (APL) - FAB M3 według AML-BFM-2004-Interim



W przypadku objawów rozpoczynającego się zespołu ATRA (ból głowy, płyn w osierdziu, opłucnej, nacieki płucne, gorączka) natychmiast rozpocząć leczenie deksametazonem (0.5-2mg/kg)

A: ATRA - kwas transretinowy (all-trans retinoic acid), 25 mg/m²/dobę doustnie, w dwóch dawkach podzielonych

Tabela 5. Szczegółowy schemat leczenia wg AML-BFM-2004-Interim

| Etap leczenia | Leki | Dawki (mg/m²) | Dni |
|---------------------------|--|--|--|
| AIE | Cytarabina i.v. Cytarabina i.v. Idarubicyna i.v. Etopozyd Cytarabina i.th. | 100 100 x 2 12 150 w zależności od wieku ¹ | 1, 2 3-8 3, 5, 7 6, 7, 8 1, 8 |
| HAM | Cytarabina i.v. Mitoksantron i.v. Cytarabina i.th. | 3000 x 2 10 w zależności od wieku ¹ | 1, 2, 3 3, 4 1 |
| AI | Cytarabina i.v. Idarubicyna i.v. Cytarabina i.th. | 500 7 w zależności od wieku ¹ | 1-4 3, 5 0, 6 |
| haM | Cytarabina i.v. Mitoksantron i.v. Cytarabina i.th. | 1000 x 2 10 w zależności od wieku ¹ | 1, 2, 3 3, 4 0, 6 |
| HAE | Cytarabina i.v. Etopozyd i.v. Cytarabina i.th. | 3000 x 2 125 w zależności od wieku ¹ | 1, 2, 3 2-5 0 |
| Leczenie podtrzymujące | 6-tioguanina p.o. Cytarabina s.c. Cytarabina i.th. | 40 40 w zależności od wieku ¹ | Codziennie przez 1 rok 1-4 co 4 tygodnie 1, 2, 3, 4 tydz. Leczenia |

¹ Cytarabina i.th. 20mg <1 roku życia, 26mg : 1 - 2 r. ż., 34mg: 2-3 r.ż., 40mg>3r.ż.

U dzieci leczonych według programu AML-BFM-2004-Interim wskazaniem do allo-HSCT od zgodnego dawcy rodzinnego była obecność co najmniej jednego wykładnika złego rokowania:

- 1) AML M0,
- 2) AML M1/M2 bez pałeczek Auera,
- 3) AML M4 bez eozynofilii,
- 4) AML M5, M6, M7,
- 5) duplikacja tandemowa *FLT3-ITD* oraz
- 6) blastoza >5% w szpiku kostnym w 15 dobie terapii.

Pozostałe typy HSCT (MUD lub MMD) wykonywane były w AML odpornej na leczenie tzn. obecność >5% blastów w szpiku po Indukcji 2 (HAM) lub szpik aplastyczny 6 tygodni po Indukcji 2 oraz w każdej następnej remisji po wznowie choroby.

3.2.7.3. Protokół leczniczy INTERFANT-06

Grupy ryzyka:

Niskiego (*low risk group*, LRG): bez rearanżacji *MLL*

Wysokiego (*high risk group*, HRG): rearanżacje *MLL* oraz

wiek w chwili rozpoznania < 6 miesięcy (<183 dni) oraz

$WBC \geq 300 \times 10^9/l$

Pośredniego (*middle risk group*, MRG): wszystkie inne przypadki, tj.:

- nie znany wynik *MLL* lub
- obecność rearanżacji *MLL* i wiek > 6 miesięcy lub
- obecność rearanżacji *MLL* i wiek > 6 miesięcy i $WBC < 300 \times 10^9/l$

Pacjenci otrzymywali chemioterapię przedstawioną poniżej (Rycina 3, Tabela 6).

Rycina 4. Schemat leczenia wg INTERFANT-06

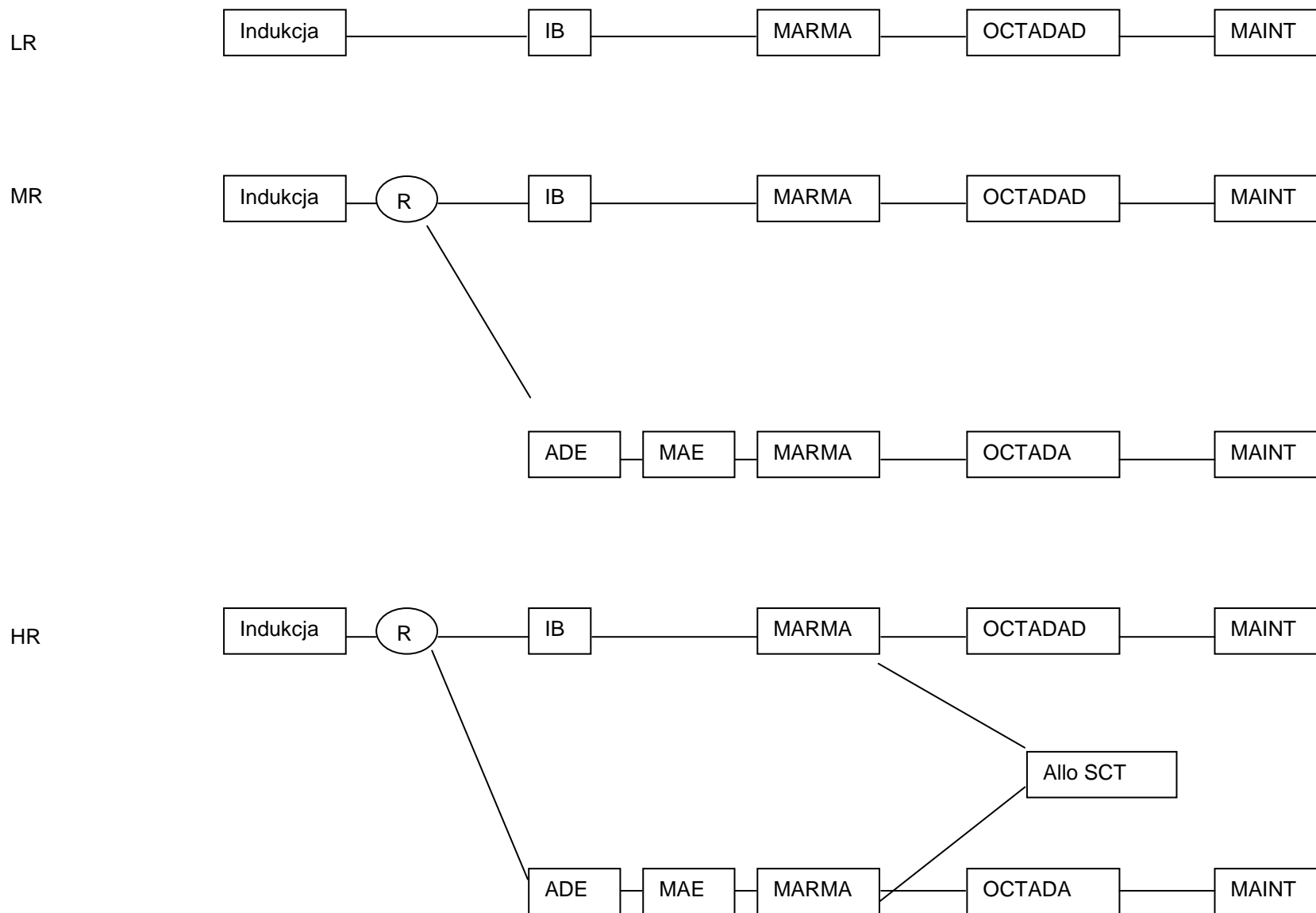


Tabela 6. Szczegółowy schemat leczenia wg INTERFANT-06

| Etap leczenia | Leki | Dawki (mg/m ²) | Dni |
|------------------------|---|---|---|
| Indukcja | Encorton p.o. Deksametazon p.o. Winkrystyna i.v. Cytarabina i.v. Daunorubicyna i.v. L-asparaginaza i.v. Metotreksat i.th. Cytarabina i.th. Solu-Decortin H i.th. | 60 6 1,5 75 30 10000 w zależności od wieku ¹ | 1-7 8-29 8, 15, 22, 29 8-21 8,9 15, 18, 22, 25, 29, 32 1, (8) ² , (22) ² , 29 15 1, (8) ² , 15, (22) ² , 29 |
| IB | Cyklofosfamid 6-Merkaptopuryna Cytarabina Metotreksat i.th. Cytarabina i.th. Solu-Decortin H i.th. | 1000 60 75 w zależności od wieku ¹ | 1, 29 1-29 3-6, 10-13, 17-20, 24-27 24 10 10, 24 |
| ADE | Cytarabina i.v. Daunorubicyna i.v. Etopozyd Cytarabina i.th. Solu-Decortin H i.th. | 100 x 2 50 100 w zależności od wieku ¹ | 1-10 1, 3, 5 1-5 1 1 |
| MAE | Cytarabina i.v. Mitoksantron i.v. Etopozyd Metotrksat i.th. Solu-Decortin H i.th. | 100 x 2 12 100 w zależności od wieku ¹ | 1-10 1, 3, 5 1-5 1 1 |
| MARMA | 6-Merkaptopuryna p.o. Cytarabina i.v. Metotreksat i.v. PEG-asparaginaza i.v. Metotreksat i.th. Solu-Decortin i.th. | 25 5000 3000 x 2 2500 w zależności od wieku ¹ | 1-14 15, 16, 22, 23 1/2, 8/9 24 2, 9 2, 9 |
| OCTADA(D) | Deksamethason p.o. 6-Tioguanina Winkrystyna i.v. (Daunorubicyna i.v.) Cytarabina i.v. PEG-asparaginaza i.v. Cyklofosfamid i.v. Cytarabina i.th. Solu-Decortin i.th. | 6 60 1,5 30 75 2500 500 w zależności od wieku ¹ | 1-14 1-28, 36-49 1, 8, 15, 22 1, 8, 15, 22 2-5, 9-12, 16-19, 23-26, 37-40, 45-48 1 36, 49 1, 15 1, 15 |
| Leczenie podtrzymujące | 6-Merkaptopuryna p.o. Metotreksat p.o. Metotreksat i.th. Cytarabina i.th. Solu-Decortin H i.th. | 50 20 w zależności od wieku ¹ | Codziennie 43-104 tyg. leczenia Jeden raz na tydzień do 104 tyg. leczenia 1 i 15 tydz. leczenia 8 tydz. leczenia 1, 8, 15 tydz. Leczenia |

¹ Cytarabina i.th. 15mg <1 roku życia, 20mg >=1 r. ż.; Metotreksat i.th. 6mg <1 r. ż., 8mg >= 1 r. ż., Solu-Decortin H i.th. 6mg <1 r. ż., 8mg >=1 r. ż

² Przy wstępnym zajęciu OUN

U niemowląt z AL leczonych protokołem INTERFANT-06 allo-HSCT przeprowadzane było wyłącznie w sytuacji, kiedy spełniono 3 kryteria:

- 1) wiek w chwili rozpoznania poniżej 183 dni,
- 2) obecność rearanżacji *MLL* oraz
- 3) wstępna leukocytoza blastyczna $>300 \times 10^9/l$.

3.2.8. KWALIFIKACJA DO LECZENIA POSZCZEGÓLNYMI PROTOKOŁAMI LECZNICZYMI

Chorzy z rozpoznaniem ostrej białaczki bifenotypowej (grupa badana 1), zakwalifikowani do podgrupy Ly-BAL, otrzymywali leczenie według protokołu ALL-IC-BFM-2002. Dzieci z podgrupy My-BAL leczeni byli według protokołu AML-BFM-2004-Interim. Wybór terapii u pacjentów, u których stwierdzono antygeny cytoplazmatyczne z linii limfocytarnej i mielocytarnej (Ly/My-BAL), uzależniono od morfologii komórek blastycznych – z morfologią mieloblata – otrzymali leczenie według protokołu AML-BFM-2004-Interim, limfoblata – według protokołu ALL-IC-BFM-2002. Pacjenci z białaczką dwuliniową leczeni byli schematem w zależności od przewagi procentowej jednej z linii. U wszystkich niemowląt do ukończenia 1 roku życia stosowano protokół INTERFANT-06. Jeśli po pierwszym cyklu chemioterapii według AML-BFM-2004-Interim lub w 15 dobie indukcji według ALL-IC-BFM-2002 nie uzyskano redukcji komórek blastycznych w szpiku kostnym ($>50\%$ blastów), zmieniano schemat leczenia z ALL-IC-BFM-2002 na AML-BFM-2004-Interim i odwrotnie.

Pacjenci z ostrą białaczką z koekspresją, leczeni byli według schematów odpowiednio do dominującej linii: My+ALL – ALL-IC-BFM-2002 lub INTERFANT-06, Ly+AML – AML-BFM-2004-Interim.

3.2.9. OCENA REAKCJI NA LECZENIE

Reakcję na leczenie oceniano w następujących punktach czasowych:

- wrażliwość na prednizon (ALL-IC-BFM-2002, INTERFANT-06) – 8 doba leczenia.

Reakcja na prednizon była obliczana na podstawie całkowitej liczby blastów (ABC) we krwi obwodowej (PB) w 8 dniu, po 7 dniach podawania prednizonu w profazie i po 1 dawce MTX i.th. w 1 dniu z/lub bez allopurinolu. Dzień podania pierwszej dawki prednizonu był dniem 1.

Całkowitą liczbę blastów we krwi obwodowej oceniano w oparciu o następującą formułę:

$ABC/mcl\ PB = \text{blasty}(\%) \times WBC/mcl\ PB.$

Jako steroidowrażliwość (*prednisone good response*, PGR) uznawano obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej, steroidooporność (*prednisone poor response*, PPR) - obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej pacjentów.

Szpik kostny oceniano w 15 i 33 (ALL-IC-BFM-2002, INTERFANT-06) lub 29 (AML-BFM-2004-Interim) dobie leczenia. Wykonywano analizę rozmazu szpiku (liczono do 200 komórek jądrzastych), w sytuacjach wątpliwych wykonywano badanie cytofluorymetryczne. Szpik kostny określano na podstawie ilości komórek blastycznych: M1 - <5% blastów, M2 – 5-<25% blastów, M3 - \geq 25% blastów.

Za remisję choroby uznawano osiągnięcie szpiku M1.

3.2.10. ZDARZENIA NIEKORZYSTNE

Za zdarzenia niekorzystne uznawano progresję choroby, wznowę choroby oraz zgon w remisji z powodu powikłań leczenia. Wznowę choroby definiowano jako ponowne pojawienie się blastów po uprzednim uzyskaniu remisji. Wznowy dzielono na szpikową, którą stwierdzano na podstawie mielogramu zawierającego >25% komórek blastycznych, mózgową, którą oceniano na podstawie cytozy płynu mózgowo-rdzeniowego, stosując kryteria jak w momencie rozpoznania wstępnego zajęcia CNS lub/i badań obrazowych CNS, narządową – pojawienie się nacieków w narządach Nielimfatycznych potwierdzonych badaniem histopatologicznym oraz mieszaną – połączenie wznowy szpikowej z mózgową lub narządową. Na podstawie kryterium czasowego wyróżniono wznowę wczesną, do ujawnienia się której doszło w trakcie leczenia i nie później niż 6 miesięcy po jego zakończeniu oraz wznowę późną, którą obserwowano powyżej 6 miesięcy od zakończenia leczenia.

3.2.11. ANALIZA STATYSTYCZNA

We wszystkich badanych grupach przedstawiono charakterystykę kliniczną dzieci, reakcję na leczenie, niepowodzenia leczenia: progresję, wznowy i zgony.

Początek obserwacji stanowił dzień ustalenia rozpoznania a punkty końcowe - zdarzenie niekorzystne lub ostatnia obserwacja dla dzieci pozostających w remisji (dzień 31.12.2009).

Ponadto przeanalizowano wpływ na uzyskane efekty terapeutyczne, czynników prognostycznych takich jak: wiek, ekspresję poszczególnych antygenów stwierdzaną w badaniu cytofluorymetrycznym, obecność zmian genetycznych (nieprawidłowości w karyotypie, obecność genów fuzyjnych *BCR/ABL1*, *ETV6/RUNX1 (TEL/AML1)*),

RUNX1/RUNX1T1 (AML1/ETO), *PML/RARA*, inwersję w obrębie chromosomu 16 (inv16), mutację D835 oraz duplikację tandemową genu *FLT3* oraz rearanżację genu *MLL*), wstępne zajęcie CNS, dobór terapii oraz reakcję na leczenie: odpowiedź na sterydy (dla dzieci leczonych jak ALL), szpik w 15 i 33 (29) dobie.

Opracowanie i analiza wyników przeprowadzono przy pomocy następujących narzędzi statystycznych:

- Prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od niekorzystnych zdarzeń (ang. *probability of event free survival*, pEFS), prawdopodobieństwo przeżycia wolnego od białaczki (ang. *probability of leukemia free survival*, pLFS) oraz prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia oceniane były za pomocą metody Kaplana-Meiera.
- Różnice pomiędzy krzywymi prawdopodobieństwa przeżycia weryfikowano testem Mantel-Coxa.
- Znaczenie rokownicze wybranych czynników oceniano za pomocą testu niezależności chi-kwadrat,
- Do przeprowadzenia analizy statystycznej wykorzystano program komputerowy Statistica oraz PASW Statistics wersja 18.00.

4. WYNIKI

4.1. OSTRA BIAŁACZKA BIFENOTYPOWA (BAL wg. EGIL)

4.1.1. WYSTĘPOWANIE BAL

BAL rozpoznano u 25 (2.8%) spośród ogółem 888 dzieci, u których w okresie od 01.01.2007 r. do 31.12.2009 r. rozpoznano ostrą białaczkę. Wiek dzieci z BAL wynosił od 2 miesięcy do 16 lat 9 miesięcy (mediana 7 lat). Stosunek płci żeńskiej do męskiej wyniósł 1 : 2.1.

Do podgrupy Ly/My-BAL zakwalifikowano 12 (48%) dzieci, do Ly-BAL 10 (40%), do My-BAL 2 (8%) pacjentów, a u jednego (4%) dziecka rozpoznano białaczkę dwuliniową.

Okres obserwacji wyniósł 1-34 miesięcy (mediana 13 miesięcy).

4.1.2. PODGRUPA Ly/My-BAL

W podgrupie Ly/My-BAL (n=12) blasty u 8 (66,6%) dzieci wykazywały ekspresję antygenów typowych dla linii limfoidalnej B i mieloidalnej z iMPO, a u pozostałych 4 (33,3%) - antygenów charakterystycznych dla linii limfoidalnej T i mieloidalnej z iMPO (Tabela 7). Liczba białych krwinek we krwi obwodowej przy rozpoznaniu wynosiła od 1,9 do $91,4 \times 10^9/l$ (mediana $5,9 \times 10^9/l$). Hiperleukocytozę ($>50 \times 10^9/l$) zanotowano u jednego dziecka. U 2 na 12 pacjentów stwierdzono obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1*, u jednego obecność genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1*, a u jednego mutację punktową D835 genu *FLT3*.

Protokół ALL-IC-BFM-2002 zastosowano u 8 (66,6%) dzieci, pozostałych 4 (33,3%) leczono według programu terapeutycznego AML-BFM-Interim 2004 (Tabela 8).

W podgrupie 8 dzieci leczonych według protokołu ALL-IC-BFM-2002, do IRG zakwalifikowano 4 pacjentów, do HRG – 3, a do SRG - jedno dziecko. PPR stwierdzono u 2 pacjentów. U dziecka z obecnością *BCR/ABL1*, szpik badany w 15 dobie oceniono na M3, w związku z czym zmieniono program leczenia na AML-BFM-Interim 2004 osiągając remisję. Następnie wykonano HSCT i pacjent żyje w CR1. Pozostałe 7 dzieci uzyskało remisję o czasie. U jednej pacjentki wystąpiła wczesna wznowa mieszana szpikowo-mózgowa miesiąc po zakończeniu leczenia podtrzymującego (25 miesięcy od rozpoznania).

W CCR żyje 6 (75%) dzieci od 2 do 29 miesięcy od uzyskania remisji (mediana 17 miesięcy).

W podgrupie 4 dzieci leczonych zgodnie z protokołem AML-BFM-2004-Interim, wszystkie zakwalifikowano do HRG. Remisję uzyskało 2 pacjentów, w tym jedno o czasie. U pozostałych dwojga, pomimo zastosowanego leczenia, obserwowano prowadzącą do zgonu progresję choroby (dziecko z *BCR/ABL1* zmarło w 67 dobie leczenia, drugie dziecko w 60 dobie). W CCR żyje 2 pacjentów 4 i 34 miesięcy od uzyskania remisji.

Tabela 7. Charakterystyka pacjentów z Ly/My-BAL (n=12)

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL) | Profil markerów | WBC (x10 ⁹ /l) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|-------|------|----------------------------------|---|-----------------|---------------------------|--|-------------|
| 1. | BAL1 | M | 13,9 | CDi22+, 19+, 10+, iMPO+, 15+ | B/My | 10,0 | Brak danych dotyczących kariotypu; p190(-) | 1 |
| 2. | BAL2 | K | 7,2 | CDi79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 91,4 | Kariotyp niemożliwy do oceny; t(12;21)(p13;q22) <i>ETV6/RUNX1</i> | 1 |
| 3. | BAL3 | M | 5,7 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, 20+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 3,8 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 1 |
| 4. | BAL4 | K | 4,4 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 33+ | B/My | 13,3 | 55,XX,+X,+6,+10,+14,+14,+18,+18,+21,+21[20], w 92% tetrasomia 21 mutacja punktowa D835 genu <i>FLT3</i> | 1 |
| 5. | BAL5 | K | 7,4 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 5,9 | 40-46,X,+mar[3]/46XX[1] | 1 |
| 6. | BAL11 | K | 16,4 | CDi3+, 2+, 5+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | 2,1 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 1 |
| 7. | BAL12 | M | 6,1 | CDiIgM+, i3+, 2+, 5+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | Brak danych | 46XY | Brak danych |
| 8. | BAL16 | M | 6,9 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, 24+, iMPO+, 13+, 33+, 65+, 15+ | B/My | 11 | 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[16]/46,XY,der(5)t(1;5)(q21;q33),t(9;22)[6]/47,XY,t(9;22),+17[3]/47,idem,der(22)t(1;22)(q11;p11)[4]. <i>BCR/ABL1</i> | 1 |
| 9. | BAL17 | M | 16,8 | CDi79a+, 19+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | Brak danych | 46XY; t(9;22)(q34;q11) <i>BCR/ABL1</i> | 3 |
| 10. | BAL18 | M | 3,9 | CDi79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+ | B/My | 1,9 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 3 |
| 11. | BAL21 | M | 14,2 | CDi3+, 7+, iMPO+, 13+, 117+ | T/My | Brak danych | W części metazaz-monosomia 16, 18 | Brak danych |
| 12. | BAL22 | M | 7,4 | CDi3+, 2+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | 3,1 | 47,XY,add(1)(p36),+8[6]/46,XY[15] | 1 |

B – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy: CNS1 – bez zajęcia CNS, CNS3 – zajęcie CNS; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, ETV6/RUNX1 - (kiedyś TEL/AML1) = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(12;21)(p13;q22); FLT3 - gen receptora kinazy tyrozynowej 3 fms-zależnej znajdujący się na chromosomie 13q12; K – płeć żeńska, M – płeć męska, My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; T - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta T; WBC – ang. white blood cells, leukocyty;

Tabela 8. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z Ly/My-BAL

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|-------|--------------------------------------|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|---|-------------------------------|
| 1. | BAL1 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M2 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 23 miesiące |
| 2. | BAL2 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M2 | M1 | 33 | Nie | Wznowa (BM+CNS), 25 miesięcy od rozpoznania | Żyje w CR2 2 miesiące po HSCT |
| 3. | BAL3 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M2 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 18 miesięcy |
| 4. | BAL4 | ALL-IC-BFM-2002 | SRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 7 miesięcy |
| 5. | BAL5 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PGR | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 22 miesiące |
| 6. | BAL11 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 3 miesiące |
| 7. | BAL12 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 29 miesięcy |
| 8. | BAL16 | ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim 2004 | HRG | PPR | M3 | Nie dotyczy | 60 | Tak | Nie | Żyje w CR1 5 miesięcy |
| 9. | BAL17 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M2/M3 | Nie uzyskał remisji | Nie | Zgon z powodu progresji w 67 dobie leczenia | Nie żyje |
| 10. | BAL18 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M3 | 44 | Nie | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 11. | BAL21 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | Nie dotyczy | Nie uzyskał remisji | Nie | Zgon z powodu progresji w 60 dobie leczenia | Nie żyje |
| 12. | BAL22 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 6 miesięcy |

ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsz całkowita remisja, CR2 - druga całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych, M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną: PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka: HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka, IRG – ang. intermediate risk group, grupa pośredniego ryzyka, SRG – ang. standard risk group, grupa niskiego ryzyka;

4.1.3. PODGRUPA Ly-BAL

W podgrupie 10 dzieci z Ly-BAL, u 7 (70%) dzieci komórki blastyczne demonstrowały antygeny charakterystyczne dla linii limfocyta B i mieloidalnej bez iMPO, u 2 (20%) dzieci antygeny typowe dla linii limfocyta B i T, a u jednego (10%) antygeny limfocyta T i mieloidalne bez iMPO (Tabela 9). Liczba białych krwinek we krwi obwodowej przy rozpoznaniu wynosiła od 2,1 do $269,9 \times 10^9/l$ (mediana $5,4 \times 10^9/l$). Hiperleukocytozę ($>50 \times 10^9/l$) demonstrowało 2 dzieci. U dwojga niemowląt stwierdzono rearanżacje w obrębie genu *MLL*, u kolejnych 2 dzieci obecność genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1* oraz u jednego pacjenta stwierdzono obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1*.

Według programu terapeutycznego ALL-IC-BFM-2002 leczonych było 7 (70%) dzieci (Tabela 10). U dwojga (20%) niemowląt z rearanżacjami *MLL*, zastosowano INTERFANT-06, a pacjent z ekspresją antygenów linii limfocyta T i mieloidalnych, otrzymał terapię według protokołu leczenia AML.

W podgrupie 7 dzieci leczonych według ALL-IC-BFM-2002 do IRG zakwalifikowano 3 dzieci, 2 dzieci do SRG oraz 2 do HRG. Oporność na kortykosteroidy spostrzegano u jednego pacjenta. Remisję uzyskało 7 (100%) dzieci, w tym o czasie 6 chorych, natomiast pacjent z obecnością genu fuzyjnego *BCR/ABL1* uzyskał remisję dopiero w 90 dobie leczenia, jednak zmarł w 163 dobie z powodu powikłań leczenia pozostając w CR1. Przeszczepienie komórek hematopoetycznych w CR1 przeprowadzono u jednego pacjenta z HRG, który zmarł w 180 dobie po allogenicznej HSCT z powodu przewlekłej GvHD. U żadnego dziecka nie wystąpiła wznowa choroby. W CCR żyje 5 (71%) dzieci od 10 do 33 miesięcy od uzyskania remisji (mediana 18 miesięcy).

Pacjent leczony programem AML-BFM-2004-Interim zakwalifikowany został do HRG, uzyskał remisję o czasie, jednak zmarł w 160 dobie z powodu powikłań leczenia pozostając w CR1.

Dwoje niemowląt leczonych protokołem INTERFANT-06 zostało również zakwalifikowane do HRG. U obojga stwierdzono rearanżacje genu *MLL*. Jedno z nich zmarło w 10 dobie leczenia z powodu progresji choroby, a drugie osiągnęło remisję o czasie, jednak zginęło w 35 dobie leczenia z powodu powikłań leczenia.

Tabela 9. Charakterystyka pacjentów z Ly BAL (n=10)

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL) | Profil markerów | WBC (x10 ⁹ /l) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|-------|------|----------------------------------|--|-----------------|---------------------------|---|-------------|
| 1. | BAL6 | M | 3 | CD79a+, i22+, 19+, 10+, 20+, TdT+, 13+, 33+, 117+, 15+ | B/My | 2,1 | Brak danych dotyczących kariotypu | 1 |
| 2. | BAL7 | M | 9,5 | CDi22+, 19+, 10+, TdT+, 13+, 33+, 117+, | B/My | 2,2 | 46XY; t(9; 22)(q34; q11) BCR/ABL1 | 1 |
| 3. | BAL8 | M | 12,4 | CD79a+, i22+, iIgM+, 19+, 10+, TdT+, 13+, 33+, 15+ | B/My | 2,1 | Kariotyp niemożliwy do oceny ; t(12;21)(p13;q22) ETV6/RUNX1 | 1 |
| 4. | BAL9 | K | 11,3 | CD79a+, 19+, 10+, TdT+, 13+, 33+, 117+, | B/My | 4,9 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 1 |
| 5. | BAL10 | M | 3,2 | CD79a+, i22+, 19+, 10+, 20+, TdT+, 13+, 33+, 117+, | B/My | 3,8 | 46XY; t(12;21)(p13;q22) ETV6/RUNX1 | 1 |
| 6. | BAL13 | M | 10,8 | CDi22+, 19+, 10+, 20+, i3+, 2+, 8+, 7+ | B/T | 3,4 | Tetrasomia 21 w 57% komórek, trisomia 21 w 27% komórek | 1 |
| 7. | BAL14 | M | 9,7 | CD79a+, i22+, TdT+, i3+, 5+, 7+, 13+, 33+, | B/T | 30 | Brak danych dotyczących kariotypu | 1 |
| 8. | BAL23 | M | 8,6 | CDi3+, 2+, 7+, 13+, 117+, 15+ | T/My | 269,9 | 46XY | 1 |
| 9. | BAL24 | K | 0,2 | CD79a+, i22+, 19+, 13+, 14+, 15+ | B/My | 3,8 | 46XX; t(4;11)(q21;q23) MLL-AF4 | 1 |
| 10. | BAL25 | K | 0,7 | CD79a+, 19+, 13+, 33+, 65+ | B/My | 170 | 46,XX del(11)(q13)[7]/84,XXXX,-1,-2,-3,-5,-9,-11,del(11)(q13),-17,-21[13] nuc ish(MLLx2)(5'MLL sep 3'MLLx1)[124]/(5'MLLx4,3'MLLx3)(5'MLL con 3'MLLx2)(5'MLL sep 3'MLLx1)[95]/(MLLx4)(5'MLL sep 3'MLLx2)[3]/(MLLx2)[4]; MLL-AF4 | Brak danych |

B – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy: CNS1 – bez zajęcia CNS; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, ETV6/RUNX1 - (kiedyś TEL/AML1) - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(12;21)(p13;q22); K – płeć żeńska, M – płeć męska, MLL – ang. mixed lineage leukemia gene, gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; T - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta T; WBC – ang. white blood cells, leukocyty;

Tabela 10. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z Ly BAL (n=10)

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|-------|----------------------|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|--|------------------------|
| 1. | BAL6 | ALL-IC-BFM-2002 | SRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 2. | BAL7 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PGR | M3 | Pusty | 90 | Nie | Zgon z powodu powikłań leczenia w 150 dobie leczenia | Nie żyje |
| 3. | BAL8 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 4. | BAL9 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 13 miesięcy |
| 5. | BAL10 | ALL-IC-BFM-2002 | SRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 11 miesięcy |
| 6. | BAL13 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 12 miesięcy |
| 7. | BAL14 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M3 | M1 | 33 | Tak | Zgon w 180 dobie po HSCT z powodu cGvHD | Nie żyje |
| 8. | BAL23 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M2 | M1 | 33 | Nie | Zgon z powodu powikłań leczenia w 180 dobie leczenia | Nie żyje |
| 9. | BAL24 | INTERFANT-06 | HRG | Nie dotyczy | M1 | M1 | 15 | Nie | Zgon z powodu powikłań leczenia w 35 dobie leczenia | Nie żyje |
| 10. | BAL25 | INTERFANT-06 | HRG | Nie dotyczy | Nie dotyczy | Nie dotyczy | Nie uzyskał remisji | Nie | Zgon powodu progresji choroby w 10 dobie leczenia | Nie żyje |

ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; cGvHD - ang. chronic graft versus host disease, przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi, HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; INTERFANT-06 - protokół leczenia ostrej białaczki u niemowląt obowiązujący od 2006 roku nadal; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka: HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka, IRG – ang. intermediate risk group, grupa pośredniego ryzyka, SRG – ang. standard risk group, grupa niskiego ryzyka;

4.1.4. PODGRUPA My-BAL

U dwojga dzieci z My-BAL, komórki blastyczne zawierały antygeny mieloidalne z iMPO oraz antygeny charakterystyczne dla linii limfocyta B bez iCD22-, iCD79a- i iIgM- (Tabela 11). Wstępna leukocytoza wynosiła 1,9 i $17 \times 10^9/l$. U obojga pacjentów stwierdzono obecność genów fuzyjnych charakterystycznych dla AML, w tym u jednego *PML/RARA* a *RUNX1-RUNX1T1* u drugiego chorego.

Pacjenci zostali zakwalifikowani do HRG i otrzymali leczenie według programu AML-BFM-2004-Interim (Tabela 12). Oboje uzyskali remisję o czasie i żyją w CR1 z okresem obserwacji 14 i 30 miesięcy.

Tabela 11. Charakterystyka pacjentów z My-BAL (n=2)

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL) | Profil markerów | WBC ($\times 10^9/l$) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|-------|------|----------------------------------|--|-----------------|-------------------------|--|-------------|
| 1. | BAL19 | K | 16,6 | CDiIgM+, 19+, 2+, 13+, 33+, 117+, | B/My | 17 | 46XX; t(15;17)(q22;q21) <i>PML/RARA</i> | Brak danych |
| 2. | BAL20 | M | 4,2 | CD79a+, 19+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 117+, 15+, 64+ | B/My | 10,5 | 46XY; t(8;21)(q22;q22) <i>RUNX1-RUNX1T1</i> | 1 |

B – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CNS1 – bez zajęcia CNS; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, K – płeć żeńska, M – płeć męska; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; PML/RARA - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(15;17)(q22;q12); RUNX1-RUNX1T1 (AML1/ETO) - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(8;21)(q22;q22); WBC – ang. white blood cells, leukocyty;

Tabela 12. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z My-BAL

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|-------|----------------------|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|------------------------|------------------------|
| 1. | BAL19 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | Pusty | M1 | 29 | Nie | Nie | Żyje w CR1 31 miesięcy |
| 2. | BAL20 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | Pusty | M1 | 29 | Nie | Nie | Żyje w CR1 15 miesięcy |

AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka

4.1.5. PACJENT Z BIAŁACZKĄ DWULINIOWĄ

Pacjent z białaczką dwuliniową, u którego wykryto obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1*, początkowo leczony był programem terapeutycznym dla ALL, jednak źle odpowiedział na wstępną kortykosteroidoterapię (PPR), a w 15 dobie stwierdzono szpik M3 (>25% komórek blastycznych). W związku z tym podjęto leczenie według AML-BFM-Interim 2004 uzyskując remisję. Wykonano allogeniczną HSCT i pacjent żyje 32 miesiące w CR1 (Tabela 13 i 14).

Tabela 13. Charakterystyka pacjenta z ostrą białaczką dwuliniową

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL) | Profil markerów | WBC ($\times 10^9/l$) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|-------|------|----------------------------------|--|-----------------|-------------------------|---|-------------|
| 1. | BAL15 | M | 15 | Dwie linie: CD19+, 10+, 13+, 33+ | B/My 2 linie | 114 | 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[17]/46,XY[3]; BCR/ABL1 | Brak danych |

B – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, M – płeć męska; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; WBC – ang. white blood cells, leukocyty;

Tabela 14. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjenta z ostrą białaczką dwuliniową

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|-------|--------------------------------------|--------------|-----|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|------------------------|------------------------|
| 1. | BAL15 | ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim 2004 | HRG | PPR | M3 | Nie dotyczy | 51 | Tak | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |

ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka

4.1.6. CHARAKTERYSTYKA WSZYSTKICH DZIECI Z BAL I KWALIFIKACJA DO GRUP ROKOWNICZYCH.

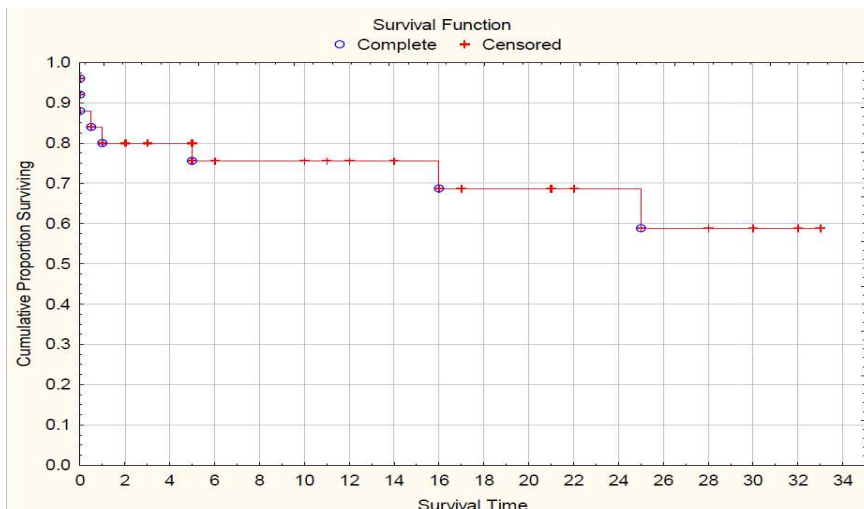
Podsumowując całą grupę dzieci z BAL (n=25), u 18 dzieci (72%) komórki blastyczne zawierały antygeny charakterystyczne dla linii mieloidalnej i limfocyta B, u 5 (20%) antygeny mieloidalne i limfocyta T, a u 2 dzieci (8%) typowe dla limfocyta B i T. Liczba białych krwinek we krwi obwodowej przy rozpoznaniu wynosiła od 1,9 do $269,9 \times 10^9/l$ (mediana $5,9 \times 10^9/l$). Hiperleukocytozę zanotowano u 4 (16%) dzieci. Obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* stwierdzono u 4 (16%) pacjentów, *ETV6/RUNX1* u 3 (12%), *RUNX1-RUNX1T1* u 1 (4%) i *PML/RARA* u 1 (4%) pacjenta, rearanżacje *MLL* u 2 (8%) a mutację D835 w genie *FLT3* u 1 (4%). Ogółem do HRG zakwalifikowano 15 (60%) pacjentów, 7 (28%) do IRG, a 3 (12%) chorych do SRG.

4.1.7. ZASTOSOWANE LECZENIE I WYNIKI LECZENIA W BAL

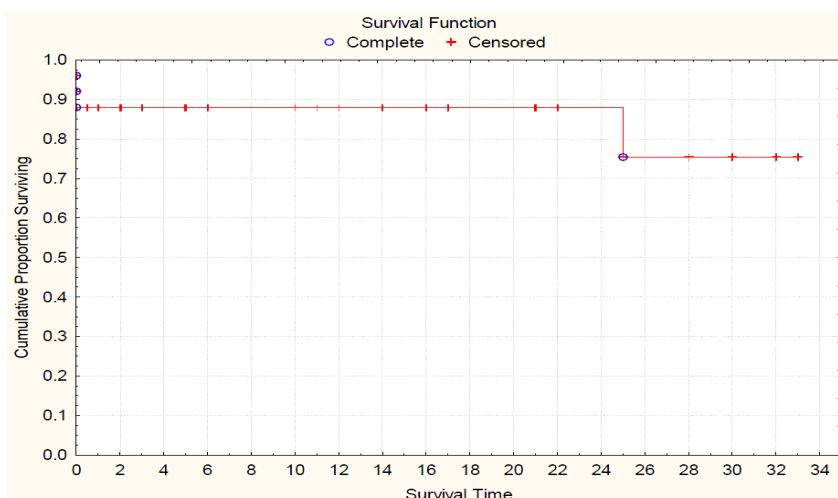
ALL-IC-BFM-2002 zastosowano u 14 (56%), AML-BFM-Interim 2004 u 7 (28%), INTERFANT-06 u 2 (8%), a u 2 (8%) dzieci podjęto leczenie według ALL-IC-BFM-2002, które następnie w związku z niekorzystną odpowiedzią na to leczenie zastąpiono terapią według programu AML-BFM-Interim 2004. PPR stwierdzono u 4 (25%) chorych spośród 16 leczonych początkowo jak ALL. Remisję uzyskano u 22 (88%) leczonych, w tym o czasie u 18 (72%) dzieci, a 3 (12%) nie uzyskało remisji. Allogeniczną HSCT w CR1 przeprowadzono u 4 dzieci (16%). Wznowę rozpoznano u jednego (4,5%) dziecka (wczesna wznowa mieszana) spośród 22 dzieci, które uzyskały remisję. Zginęło 7 (28%) dzieci, w tym 3 z powodu progresji choroby (pomimo

zastosowania intensywnej chemioterapii, nigdy nie uzyskali remisji) i 4 z powodu powikłań leczenia, wszyscy w CR1. W CCR żyje 17 (68%) pacjentów.

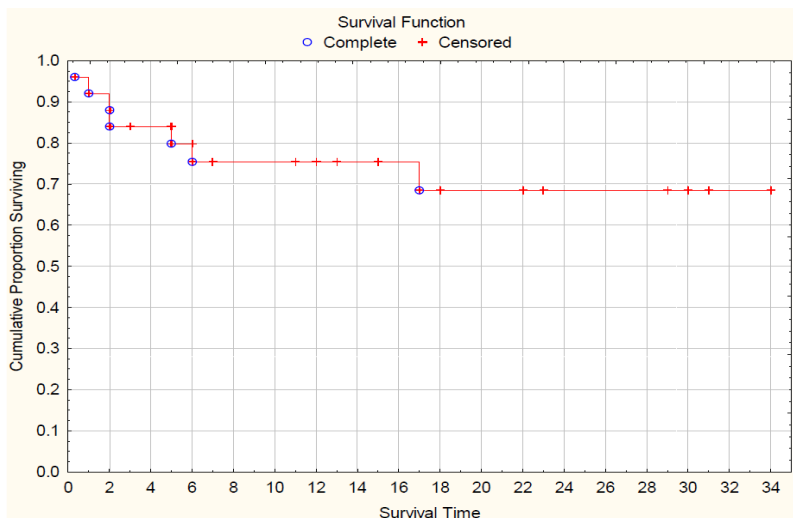
W badanej grupie pEFS, pLFS i pOS wyniosły odpowiednio 0.589 ± 0.126 , 0.754 ± 0.129 i $0,685 \pm 0,103$ (Ryciny 4, 5 i 6). Z powodu małej liczby pacjentów analiza statystyczna dotyczy całej grupy bez możliwości podziału na podgrupy.



Ryc.5. pEFS u dzieci z BAL (n=25)



Ryc. 6. pLFS u dzieci z BAL (n=25)



Ryc. 7. pOS u dzieci z BAL (n=25)

4.1.8. ANALIZA NIEPOWODZEŃ I ROKOWANIE W BAL

W podgrupie Ly/My-BAL, u jednego dziecka stwierdzono wznowę choroby. U pacjentki wykryto obecność genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1* uznawanego za wykładnik korzystnej prognozy, jednak ze względu na wiek powyżej 6 lat, dziewczynkę zakwalifikowano do IRG i zastosowano terapię odpowiednim ramieniem programu terapeutycznego ALL-IC-BFM-2002. Wznowa mieszana szpikowo-mózgowa ujawniła się miesiąc po zakończeniu leczenia podtrzymującego (wznowa wczesna). U dziewczynki zastosowano 2 cykle IDA-FLAG, po których uzyskała CR2, a następnie przeprowadzono allogeniczną HSCT. Pacjentka żyje 2 miesiące w CR2.

W tej samej podgrupie jedno dziecko z obecnością *BCR/ABL1*, leczone protokołem AML-BFM-Interim 2004, zmarło bez uzyskania remisji z powodu progresji choroby.

W podgrupie Ly-BAL, nie stwierdzono wznowy choroby u żadnego pacjenta, natomiast zgony z powodu progresji białaczki zanotowano u niemowlęcia z obecnością rearanżacji genu *MLL*, które leczone protokołem INTERFANT-06 oraz u pacjenta bez zmian genetycznych leczonego według programu AML-BFM-Interim 2004.

Analizę niepowodzeń przedstawiono w tabelach 15 i 16, a w tabeli 17 scharakteryzowano dzieci poddane HSCT w CR1.

Tabela 15. Wznowy u pacjentów z BAL

| L.p. | UPN | Typ wznowy | Czas wystąpienia (miesiące) od rozpoznania choroby | Rodzaj leczenia wznowy | CR2 | Zgon (miesiące od rozpoznania) | Stan na dzień 31.12.2009 |
|------|------|------------------|--|------------------------|-----|--------------------------------|--------------------------|
| 1. | BAL2 | Szpikowo-mózgowa | 26 | Ida-FLAG, HSCT | Tak | Nie | Żyje w CR2 2 miesiące |

BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR2 – druga całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; Ida-FLAG – protokół leczenia wznów ostrej białaczki mieloblastycznej

Tabela 16. Zgony z powodu progresji u dzieci z BAL

| L.p. | UPN | genetyka | Czas wystąpienia zgonu (dni) od rozpoznania choroby | Przyczyna zgonu |
|------|-------|-----------------|---|--|
| 1. | BAL17 | <i>BCR/ABL1</i> | 67 | Progresja choroby, powikłania infekcyjne, niewydolność wielonarządowa, |
| 2. | BAL21 | Norma | 60 | Progresja choroby, zapalenie płuc, niewydolność oddechowa |
| 3. | BAL25 | <i>MLL</i> | 11 | Progresja choroby, powikłania infekcyjne |

BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; *BCR/ABL1* - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji *t(9;22)(q34;q11.2)*; *MLL* – ang. mixed lineage leukemia gene, gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23

Tabela 17. Charakterystyka dzieci z BAL poddanych allogenicznej HSCT w CR1

| L.p. | UPN | Płeć, wiek (lata) | Grupa ryzyka, PR, BM15, BM33, genetyka | Rodzaj HSCT, czas od rozpoznania (miesiące) | Zdarzenia niepożądane po HSCT | Stan na dzień 31.12.2009 |
|------|-------|-------------------|---|---|--|--------------------------|
| 1. | BAL14 | M, 9,7 | HRG, PPR, BM15-M3, BM33-M1, norma | MUD, 6,5 | Zgon z powodu cGvHD (6 miesięcy po HSCT) | Nie żyje |
| 2. | BAL15 | M, 15 | HRG, PPR, BM15-M3, BM33- nie dotyczy (zmiana protokołu leczenia), <i>BCR/ABL1</i> | MSD, 7 | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 3. | BAL16 | M, 6,9 | HRG, PPR, BM15-M3, BM33- nie dotyczy (zmiana protokołu leczenia), <i>BCR/ABL1</i> | MUD, 5 | Nie | Żyje w CR1 5 miesięcy |

BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; *BCR/ABL1* - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); BM – ang. bone marrow, szpik kostny: BM15-status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię w 15 dniu leczenia, BM33 – w 33 dniu leczenia, M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; cGvHD - ang. chronic graft versus host disease, przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi, CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; MUD – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; MSD – ang. matched sibling donor, zgodny dawca rodzinny; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka: HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka

4.1.9. ANALIZA WYNIKÓW CYTOFLUORYMETRYCZNEJ OCENY IMMUNOFENOTYPU U DZIECI Z BAL

Pacjentom stawiano rozpoznanie BAL na podstawie kryteriów EGIL (patrz str. 13). W tabeli 18 przeanalizowano u 25 pacjentów z BAL objętych badaniem częstość wykonywania oznaczeń oraz występowania poszczególnych antygenów, których ekspresję w diagnostyce BAL uwzględniają kryteria EGIL. Analizując te antygeny w

teście chi kwadrat, nie stwierdzono, aby obecność któregośkolwiek antygenów predysponowała do progresji, wznowy lub zgonu pacjenta.

Tabela 18. Ekspresja antygenów z linii limfoidalnej i mieloidalnej u dzieci z BAL (n=25)

| Antygeny | Liczba oznaczeń | ≥20% komórek (+) | <20% komórek (-) |
|--------------------------|------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Linia mieloidalna | | | |
| iMPO | 23 (92%) | 14 (56%) | 9 (36%) |
| CD13 | 24 (96%) | 22 (88%) | 2 (8%) |
| CD33 | 24 (96%) | 18 (72%) | 6 (24%) |
| CD65 | 3 (12%) | 2 (8%) | 1 (4%) |
| CD117 | 20 (80%) | 8 (32%) | 12 (48%) |
| CD14 | 19 (76%) | 1 (4%) | 18 (72%) |
| CD15 | 22 (88%) | 9 (36%) | 13 (52%) |
| CD64 | 6 (24%) | 1 (4%) | 5 (20%) |
| Linia limfocyta B | | | |
| CDi79a | 21 (84%) | 15 (60%) | 6 (24%) |
| CDiIgM | 14 (56%) | 3 (12%) | 11 (44%) |
| CDi22 | 20 (80%) | 12 (48%) | 8 (32%) |
| CD19 | 24 (96%) | 19 (76%) | 5 (20%) |
| CD10 | 24 (96%) | 14 (56%) | 10 (40%) |
| CD20 | 24 (96%) | 4 (16%) | 20 (80%) |
| itd. | 22 (88%) | 12(48%) | 10 (40%) |
| CD24 | 3 (12%) | 2 (8%) | 1 (4%) |
| Linia limfocyta T | | | |
| CDi3 | 21 (84%) | 7 (28%) | 14 (56%) |
| TCR αβ | 1 (4%) | 0 | 1 (4%) |
| TCR γδ | 1 (4%) | 0 | 1 (4%) |
| CD2 | 17 (68%) | 6 (24%) | 11 (44%) |
| CD5 | 20 (80%) | 3 (12%) | 17 (68%) |
| CD8 | 21 (84%) | 2 (8%) | 19 (76%) |
| CD7 | 20 (80%) | 7 (28%) | 13 (52%) |
| CD1a | 11 (44%) | 0 | 11 (44%) |

4.2. OSTRA BIAŁACZKA O MIESZANYM FENOTYPIE (MPAL WEDŁUG WHO)

4.2.1. WYSTĘPOWANIE MPAL

MPAL rozpoznano u 19 (2,1%) spośród ogółem 888 dzieci, u których w okresie od 01.01.2007 r. do 31.12.2009 r. rozpoznano ostrą białaczkę. Wiek dzieci z MPAL wynosił od 2 miesięcy do 16 lat 10 miesięcy (mediana 7 lat). Stosunek płci żeńskiej do męskiej wyniósł 1 : 1.7.

Zgodnie z kryteriami opublikowanymi przez WHO w 2009 r. (patrz str. 6-8 i 16-17) do podgrupy MPAL B-myeloid NOS (ang. not otherwise specified, bez innych cech specyficznych) zakwalifikowano 8 (42%) dzieci, 4 (21%) do podgrupy T-myeloid NOS, 3 (15,8%) dzieci do MPAL z t(9;22)(q34;q11.2), kolejnych 3 (15,8%) do MPAL z t(v;11q23), a do podgrupy „rzadkie typy” jedno (5,3%) dziecko. Ostrej białaczki niezróżnicowanej bez ekspresji antygenów charakterystycznych dla linii limfocytarnej lub mielocytarnej oraz innych ALAL (ang. acute leukemia of ambiguous lineage, ostra białaczka z niezidentyfikowanej linii), takich jak np. białaczki z komórek NK, nie stwierdzono.

Okres obserwacji wyniósł 1-34 miesięcy (mediana 13,5 miesiąca).

4.2.2. PODGRUPA B-MYELOID NOS

W podgrupie ośmiorga dzieci z B-myeloid NOS, wstępna leukocytoza wynosiła od $1,9$ do $91,4 \times 10^9/l$ (mediana $8,5 \times 10^9/l$). Hiperleukocytozę stwierdzono u jednego

pacjenta. Obecność genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1* stwierdzono u jednego pacjenta, mutację punktową D835 genu *FLT3* u drugiego (Tabela 19).

Leczenie według protokołu ALL-IC-BFM-2002 otrzymało sześcioro pacjentów (Tabela 20). Do IRG zakwalifikowano 3 dzieci, 2 do HRG, a do SRG jedno dziecko. PPR stwierdzono u jednego pacjenta. Wszyscy chorzy osiągnęli remisję o czasie. U jednego dziecka z IRG rozpoznano wczesną wznowę mieszaną mózgowo-szpikową choroby.

W CR1 żyje 5 pacjentów od 6 do 22 miesięcy od uzyskania remisji (mediana 17 miesięcy).

Leczenie według programu terapeutycznego AML-BFM-Interim 2004 otrzymało dwoje pacjentów (SRG, n=1; HRG, n=1). Remisję o czasie uzyskało dziecko zakwalifikowane do SRG, a pacjent z HRG osiągnął remisję dopiero w 44 dobie. Oboje żyją w CCR, do czasu niniejszej analizy odpowiednio 32 i 33 miesiące.

Tabela 19. Charakterystyka pacjentów z MPAL B-myeloid NOS (n=8).

| L.p | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL i WHO) | Profil markerów | WBC (x10 ⁹ /l) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|-----|--------|------|----------------------------------|--|-----------------|---------------------------|--|-------------|
| 1. | MPAL1 | K | 14,1 | CDi22+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+ | B/My | 9,1 | Brak danych dotyczących kariotypu | 1 |
| 2. | MPAL2 | M | 13,9 | CDi22+, 19+, 10+, iMPO+, 15+ | B/My | 10,0 | Brak danych dotyczących kariotypu | 1 |
| 3. | MPAL3 | K | 7,2 | CDi79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 91,4 | Kariotyp niemożliwy do oceny ; t(12;21) (p13;q22) <i>ETV6/RUNX1</i> | 1 |
| 4. | MPAL4 | M | 5,7 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, 20+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 3,8 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 1 |
| 5. | MPAL5 | K | 4,4 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 33+ | B/My | 13,3 | 55,XX,+X,+6,+10,+14,+14,+18,+18,+21,+21[20] , w 92% tetrasomia 21, mutacja D835 genu <i>FLT3</i> | 1 |
| 6. | MPAL6 | K | 7,4 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 5,9 | 40-46,X,+mar[3]/46XX[1] | 1 |
| 7. | MPAL13 | M | 6,7 | CD19+, 20+, iMPO+, 13+, 33+, 117+, 15+ | B/My | 7,8 | 45,X,-Y t(8;21)(q22;q22)[11]/46,XY [5] | Brak danych |
| 8. | MPAL15 | M | 3,9 | CDi79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+ | B/My | 1,9 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 3 |

B – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; *CNS* – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy: *CNS1* – bez zajęcia CNS; *CNS3* – zajęcie CNS; *EGIL* – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, *ETV6/RUNX1* - (kiedyś *TEL/AML1*) - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(12;21)(p13;q22); *FLT3*- gen receptora kinazy tyrozynowej 3 fms-zależnej na chromosomie 13q12; *K* – płeć żeńska, *M* – płeć męska, *MPAL* – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; *My* - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; *WBC* – ang. white blood cells, leukocyty; *WHO* – ang. World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia;

Tabela 20. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL B-myeloid NOS (n=8).

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|--------|----------------------|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|---|-------------------------------|
| 1. | MPAL1 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 8 miesięcy |
| 2. | MPAL2 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M2 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 23 miesiące |
| 3. | MPAL3 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M2 | M1 | 33 | Nie | Wznowa (BM+CNS), 25 miesięcy od rozpoznania | Żyje w CR2 2 miesiące po HSCT |
| 4. | MPAL4 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M2 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 18 miesięcy |
| 5. | MPAL5 | ALL-IC-BFM-2002 | SRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 7 miesięcy |
| 6. | MPAL6 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PGR | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 22 miesiące |
| 7. | MPAL13 | AML-BFM-Interim 2004 | SRG | Nie dotyczy | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 33 miesiące |
| 8. | MPAL15 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M3 | 44 | Nie | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |

ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną: PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka: HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka, IRG – ang. intermediate risk group, grupa pośredniego ryzyka, SRG – ang. standard risk group, grupa niskiego ryzyka;

4.2.3. PODGRUPA T-MYELOID NOS

W podgrupie czworga dzieci z T-myeloid NOS, wstępna leukocytoza wynosiła 2,1 i $3,1 \times 10^9/l$ (brak danych u pozostałych 2 pacjentów). U jednego pacjenta stwierdzono hiperploidię, u drugiego - hipoploidię (Tabela 21).

Leczenie protokołem ALL-IC-BFM-2002 otrzymało dwoje pacjentów (Tabela 22). Oboje zostali zakwalifikowani do IRG, osiągnęli remisję o czasie i żyją w CCR 2 i 29 miesięcy od uzyskania CR1.

Pozostałych dwoje pacjentów leczonych było według programu terapeutycznego AML-BFM-Interim 2004 ramieniem dla HRG zgodnie ze spostrzeganymi czynnikami rokowniczymi. Remisję o czasie uzyskało jedno dziecko, które żyje w CR1 3 miesiące. Drugi pacjent nie uzyskał remisji i zginął w 60 dobie leczenia w następstwie progresji białaczki po przeprowadzeniu dwóch pierwszych bloków leczenia według wyżej wymienionego programu.

Tabela 21. Charakterystyka pacjentów z MPAL T-myeloid NOS (n=4).

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL i WHO) | Profil markerów | WBC ($\times 10^9/l$) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|--------|------|----------------------------------|--|-----------------|-------------------------|-------------------------------------|-------------|
| 1. | MPAL7 | K | 16,4 | CDi3+, 2+, 5+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | 2,1 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 1 |
| 2. | MPAL8 | M | 6,1 | CDiIgM+, i3+, 2+, 5+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | Brak danych | 46XY | Brak danych |
| 3. | MPAL17 | M | 14,2 | CDi3+, 7+, iMPO+, 13+, 117+ | T/My | Brak danych | W części metafaz - monosomia 16, 18 | Brak danych |
| 4. | MPAL18 | M | 7,4 | CDi3+, 2+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | 3,1 | 47,XY,add(1)(p36),+8[6]/46,XY[15] | 1 |

CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CNS1 – bez zajęcia CNS; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, K – płeć żeńska, M – płeć męska, MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; T – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta T; WBC – ang. white blood cells, leukocyty; WHO – ang. World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia;

Tabela 22. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL T-myeloid NOS (n=4).

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|--------|----------------------|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|---|------------------------|
| 1. | MPAL7 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 3 miesiące |
| 2. | MPAL8 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 29 miesięcy |
| 3. | MPAL17 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | Nie dotyczy | Nie uzyskał | Nie | Zgon z powodu progresji choroby w 60 dobie leczenia | Nie żyje |
| 4. | MPAL18 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M1 | 29 | Nie | Nie | Żyje w CR1 6 miesięcy |

ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; MUD – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka, IRG – ang. intermediate risk group, grupa pośredniego ryzyka;

4.2.4. PODGRUPA MPAL Z *BCR/ABL1*

Komórki blastyczne trojga dzieci z MPAL z *BCR/ABL1* zawierały antygeny charakterystyczne dla linii limfocyta B oraz mieloidalne (Tabela 23). Wstępna leukocytoza wynosiła 11 i $114 \times 10^9/l$ (brak danych u jednego pacjenta).

Dwaj pacjenci rozpoczęli leczenie według ALL-IC-BFM-2002 (Tabela 24). U obojga stwierdzono PPR oraz M3 w 15 dobie leczenia, w związku z tym zamieniono program terapeutyczny na AML-BFM-Interim 2004. Oboje uzyskali remisję, wykonano u nich allogeniczną HSCT 5 i 7 miesięcy od rozpoznania. Żyją w CCR 3 i 32 miesiące od uzyskania CR1.

Leczenie protokołem AML-BFM-Interim 2004 otrzymał jeden pacjent zakwalifikowany do HRG, który zmarł w 67 dobie leczenia bez uzyskania remisji z powodu progresji choroby.

Tabela 23. Charakterystyka pacjentów z MPAL z BCR/ABL1 (n=3).

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL i WHO) | Profil markerów | WBC (x10 ⁹ /l) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|--------|------|----------------------------------|--|-----------------|---------------------------|---|-------------|
| 1. | MPAL10 | M | 15 | Dwie linie: CD19+, 10+, 13+, 33+ | B/My | 114 | 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[17]/46,XY[3]; BCR/ABL1 | Brak danych |
| 2. | MPAL11 | M | 6,9 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, 24+, iMPO+, 13+, 33+, 65+, 15+ | B/My | 11 | 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[16]/46,XY,der(5)t(1;5)(q21;q33),t(9;22)[6]/47,XY,t(9;22),+17[3]/47,idem,der(22)t(1;22)(q11;p11)[4]. nuc ish(ABLx3), (BCRx3),(ABL con BCRx2)[198]/(ABLx2),(BCRx2)[23]; BCR/ABL1 | 1 |
| 3. | MPAL14 | M | 16,8 | CDi79a+, 19+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | Brak danych | 46XY; t(9; 22) (q34; q11); BCR/ABL1 | 3 |

CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CNS1 – bez zajęcia CNS, CNS3 – zajęcie CNS; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, K – płeć żeńska, M – płeć męska, MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; T – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta T; WBC – ang. white blood cells, leukocyty; WHO – ang. World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia;

Tabela 24. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL z BCR/ABL1(n=3).

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|--------|--|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|---|------------------------|
| 1. | MPAL10 | ALL-IC-BFM-2002 → AML-BFM-Interim 2004 | HRG | PPR | M3 | Nie dotyczy | 51 | Tak | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 2. | MPAL11 | ALL-IC-BFM-2002 → AML-BFM-Interim 2004 | HRG | PPR | M3 | Nie dotyczy | 60 | Tak | Nie | Żyje w CR1 5 miesięcy |
| 3. | MPAL14 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M2/M3 | Nie uzyskał | Nie | Zgon z powodu progresji w 67 dobie leczenia | Nie żyje |

ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M3≥25% blastów; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, sterooidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, sterooidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia ; RG – ang. risk group, grupa ryzyka: HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka;

4.2.5. PODGRUPA MPAL Z REARANŻACJĄ GENU *MLL*

Spośród trojga dzieci z MPAL z rearanżacją genu *MLL*, komórki blastyczne dwojga z nich zawierały antygeny charakterystyczne dla linii limfocyta B oraz mieloidalne, jednego antygeny linii limfocyta T i mieloidalne (Tabela 25). Wstępna leukocytoza wynosiła 3,8 i $358 \times 10^9/l$ (brak danych u jednego pacjenta).

Leczenie według programu terapeutycznego AML-BFM-Interim 2004 otrzymało dwoje pacjentów (Tabela 26), którzy osiągnęli remisję o czasie, jednak u obydwójga stwierdzono bardzo wczesną pozaszpikową wznowę choroby, tj. u jednego wznowę mózgową 4,5 miesiąca od rozpoczęcia leczenia, a u drugiego wznowę w skórze 2 miesiące od rozpoczęcia leczenia. Trzeci pacjent – niemowlę – otrzymał leki według protokołu INTERFANT-06, uzyskał remisję o czasie, jednak zginął w 35 dobie leczenia z powodu powikłań leczenia.

Tabela 25. Charakterystyka pacjentów z MPAL MLL+ (n=3).

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL i WHO) | Profil markerów | WBC (x10 ⁹ /l) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|--------|------|----------------------------------|--|-----------------|---------------------------|---|-------------|
| 1. | MPAL12 | K | 0,2 | CD19+, 20+, iMPO+, 13+, 33+, 117+, 15+, 14+ | B/My | Brak danych | 46XX[24]; t(4;11)(q21;q23) MLL-AF4 | Brak danych |
| 2. | MPAL16 | M | 15,4 | 19+, i3+, 13+, 33+, 14+, 15+, 64+ | T/My | 358 | Kariotyp niemożliwy do oceny; t(4;11) (q21;q23) MLL-AF4 | 1 |
| 3. | MPAL19 | K | 0,2 | CD79a+, i22+, 19+, 13+, 14+, 15+ - 2 linie | B/My | 3,8 | Brak danych dotyczących kariotypu; t(4;11) (q21;q23) MLL-AF4 | 1 |

B – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CNS1 – bez zajęcia CNS; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, K – płeć żeńska, M – płeć męska, MLL – ang. mixed lineage leukemia gene, gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; T – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta T; WBC – ang. white blood cells, leukocyty; WHO – ang. World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia;

Tabela 26. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL z MLL+ (n=3).

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|--------|----------------------|--------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|---|---|
| 1. | MPAL12 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M1 | M1 | 15 | Nie | Wznowa (CNS) 4,5 miesiąca od rozpoznania | Żyje w CR2 32 miesiące |
| 2. | MPAL16 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M1 | M1 | 15 | Nie | Wznowa w skórze 2 miesiące od rozpoznania | Nie żyje, zgon z powodu progresji choroby 5 miesięcy od rozpoznania |
| 3. | MPAL19 | INTERFANT-06 | HRG | M1 | M1 | 15 | Nie | Zgon z powodu powikłań leczenia w 35 dobie leczenia | Nie żyje |

AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja, CR2 – druga całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; INTERFANT-06 - protokół leczenia ostrej białaczki u niemowląt obowiązujący od 2006 roku nadal; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: $M \geq 25\%$ blastów; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie, HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka;

4.2.6. PODGRUPA „RZADKIE TYPY” – B/T MPAL

Kryteria podgrupy „rzadkie typy MPAL” – B/T spełnił jeden pacjent ze wstępną leukocytozą $3,4 \times 10^9/l$ oraz hiperploidią. Pacjent otrzymał leczenie według ALL-IC-BFM-2002 (IRG), osiągnął remisję o czasie i żyje 12 miesięcy w CR1.

4.2.7. CHARAKTERYSTYKA WSZYSTKICH DZIECI Z MPAL I KWALIFIKACJA DO GRUP ROKOWNICZYCH

Podsumowując całą grupę dzieci z MPAL, u 13 dzieci (68,5%) komórki blastyczne wykazywały ekspresję antygenów charakterystycznych dla linii mieloidalnej i limfocyta B, u 5 (26,5%) antygenów mieloidalnych i limfocyta T, a u jednego dziecka (5%) antygenów typowych dla limfocyta B i T. Liczba białych krwinek we krwi obwodowej przy rozpoznaniu wynosiła od 1,9 do $358 \times 10^9/l$ (mediana $7,8 \times 10^9/l$). Hiperleukocytozę zanotowano u 3 (16%) dzieci. Obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* spostrzegano u 3 (16%) chorych, u kolejnych 3 (16%) rearanżacje genu *MLL*, u jednego (5%) obecność genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1* i także u jednego (5%) chorego mutację punktową D835 genu *FLT3*. Do HRG zakwalifikowano 11 (58%) pacjentów, 6 (31,5%) do IRG, a 2 (10,5%) chorych do SRG.

4.2.8. ZASTOSOWANE LECZENIE I WYNIKI LECZENIA W MPAL

Spośród 19 pacjentów z MPAL leczenie według programu terapeutycznego ALL-IC-BFM-2002 zastosowano u 11 (58%), u 7 (37%) według AML-BFM-Interim 2004, a u jednego (5%) dziecka według programu INTERFANT-06.

Wśród 11 chorych leczonych z zastosowaniem ALL-IC-BFM-2002 u 3 pacjentów (33%) stwierdzono PPR. Remisję o czasie uzyskano u 9 chorych z tej podgrupy. U pozostałych 2 pacjentów w związku z PPR i szpikiem M3 w 15 dobie leczenia, zamieniono program leczenia na AML-BFM-Interim 2004 uzyskując za jego pomocą remisję, którą następnie skonsolidowano przeprowadzając allogeniczną HSCT. Wznowa choroby wystąpiła u jednego dziecka leczonego według programu ALL-IC-BFM-2002. W CR1 żyje 10 dzieci, czas przeżycia od uzyskania remisji wynosi od 3 do 34 miesięcy (mediana 15 miesięcy).

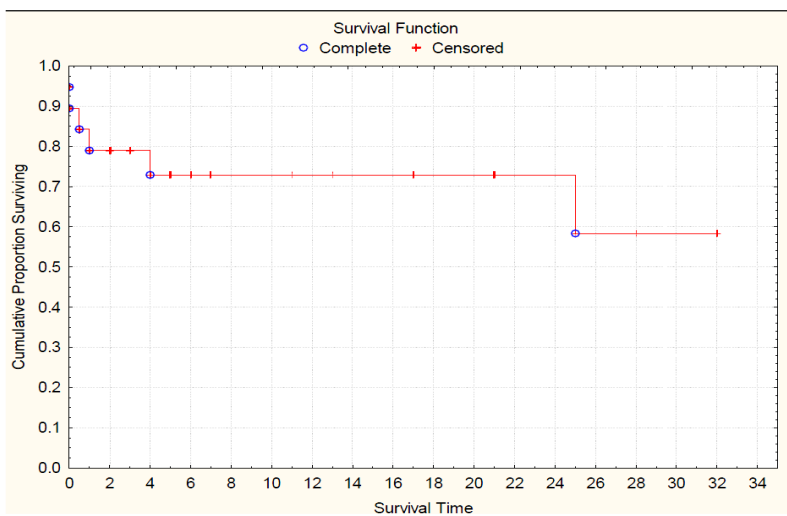
W podgrupie 7 dzieci leczonych schematem AML-BFM-2004-Interim remisję osiągnęło 5, w tym 3 pacjentów remisję o czasie. Z powodu progresji choroby zmarło 2 dzieci, natomiast u 2 zdiagnozowano wznowę MPAL. W CR1 żyje 3 dzieci. Czas przeżycia wynosi 6, 33 i 34 miesiące.

Jedno niemowlę leczone protokołem INTERFANT-06, zakwalifikowane do HRG, osiągnęło remisję o czasie, lecz zmarło w CR1 z powodu powikłań leczenia w 35 dobie od rozpoznania choroby.

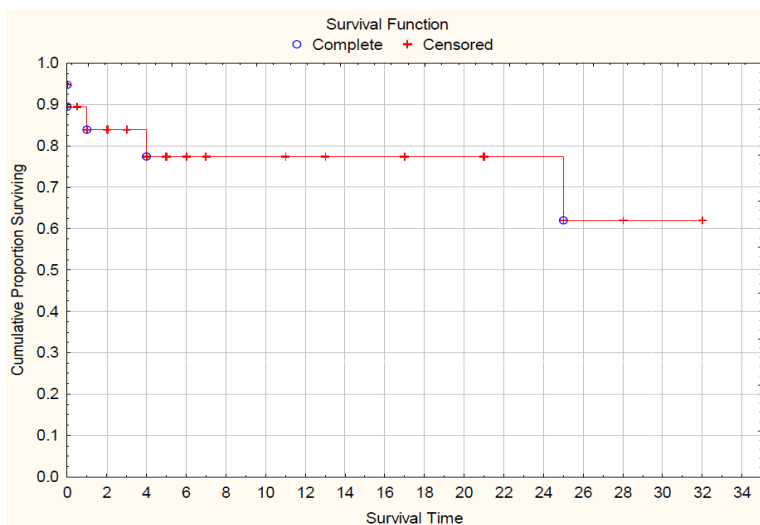
W całej grupie dzieci z MPAL remisję uzyskało 17 (90%) dzieci, w tym 14 (74%) o czasie, a 2 (10%) nie uzyskało remisji i zmarło z powodu progresji choroby. Wznowę rozpoznano u 3 (18%) chorych, w tym dwie bardzo wczesne wznowy pozaszpikowe (w skórze i w OUN) oraz wczesną wznowę mieszaną szpikowo-mózgową. Jedno dziecko zmarło w CR1 w 35 dniu od rozpoznania z powodu powikłań

leczenia. W CCR żyje 13 (68%) pacjentów od 5 do 34 miesięcy (mediana 18) od uzyskania CR1.

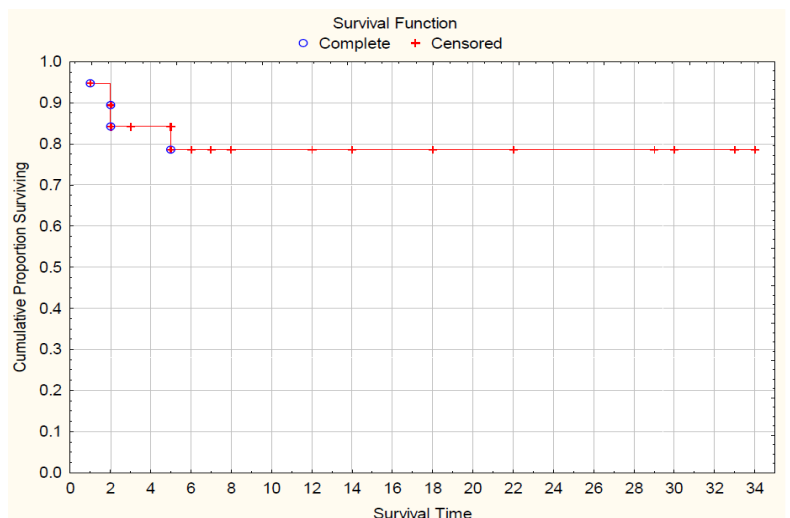
W badanej grupie pEFS, pLFS i pOS wyniosło odpowiednio $0,583 \pm 0,155$, $0,619 \pm 0,160$ i $0,786 \pm 0,095$ (ryciny 7, 8 i 9). Z powodu małej liczby pacjentów z MPAL analiza statystyczna dotyczy całej grupy bez możliwości podziału na podgrupy według kryteriów WHO.



Ryc. 8. pEFS u dzieci z MPAL (n=19)



Ryc. 9. pLFS u dzieci z MPAL (n=19)



Ryc. 10. pOS u dzieci z MPAL ($n=19$)

4.2.9. ANALIZA NIEPOWODZEŃ I ROKOWANIE W MPAL

W podgrupie 8 dzieci z B-myeloid NOS, u jednego dziecka stwierdzono wznowę choroby. U pacjentki wykryto obecność wiążącego się z korzystniejszym rokowaniem genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1* i zastosowano terapię według ALL-IC-BFM-2002 zgodnie z ramieniem IRG ze względu na wiek powyżej 6 lat w chwili rozpoznania. Wczesna wznowa mieszana szpikowo-mózgowa ujawniła się miesiąc po zakończeniu leczenia podtrzymującego. U dziewczynki zastosowano 2 cykle leczenia reindukującego remisję IDA-FLAG, po których uzyskała CR2, a następnie wykonano allogeniczną HSCT. Na koniec obserwacji (31.12.2009) dziewczynka żyła w CRR przez 2 miesiące od uzyskania CR2.

W podgrupie T-myeloid NOS, u jednego pacjenta nie uzyskano remisji i zmarł z powodu progresji choroby w 60 dobie leczenia. Pacjent leczony był programem AML-BFM-Interim 2004. Szpik kostny w 15 dobie oceniono na M3.

W podgrupie 3 pacjentów z MPAL z *BCR/ABL1*, dwoje pacjentów, którzy nie odpowiedzieli na leczenie według ALL-IC-BFM-2002 uzyskało remisję po zastosowaniu programu AML-BFM-2004-Interim. Pacjentów dodatkowo poddano allogenicznej HSCT i obaj żyją w CCR przez 5 i 34 miesiące od uzyskania CR1. Trzeci pacjent leczony protokołem AML-BFM-Interim 2004, nie uzyskał remisji i zmarł w 67 dobie leczenia z powodu progresji choroby.

W podgrupie MPAL z rearanżacją genu *MLL* u wszystkich trojga pacjentów wystąpiły zdarzenia niepożądane, tj. u 2 dzieci bardzo wczesna pozaszpikowa wznowa białaczki (2 i 4,5 miesiąca od rozpoznania), a u trzeciego dziecka zgon w CR1 z powodu powikłań w 35 dobie leczenia.

Charakterystykę pacjentów z MPAL, u których wystąpiły zdarzenia niepożądane przedstawiono w tabelach 27 i 28, natomiast w tabeli 29 scharakteryzowano dzieci z MPAL poddane allogenicznej HSCT w CR1.

Tabela 27. Wznowy u dzieci z MPAL (n=3).

| Lp | UPN | Typ wznowy | Czas wystąpienia (miesiące) od rozp. choroby | Rodzaj leczenia wznowy | CR2 | Zgon (miesiące od rozp.) | Stan na dzień 31.12.2009 |
|----|---------|------------------|--|--|-----|----------------------------|--------------------------|
| 1. | MPA L3 | Szpikowo-mózgowa | 26 | Ida-FLAG, HSCT | Tak | Nie | Żyje w CR2 2 miesiące |
| 2. | MPA L12 | Mózgowa | 4,5 | REZ AML 2001(FLAG 2x, konsolidacja o wysokiej intensywności 2 bloki, lecz. podtrzymujące | Tak | Nie | Żyje w CR2 32 miesiące |
| 3. | MPA L16 | W skórze | 2 | Ida-FLAG, Mylotarg, Dauno-FLAG | Nie | Tak (5), progresja choroby | Nie żyje |

MPAL – ang. *mixed phenotype acute leukemia*, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; CR – ang. *complete remission*, całkowita remisja choroby, CR2 – druga całkowita remisja; Ida-FLAG, FLAG, Dauno-FLAG – bloki chemioterapii stosowane we wznowie ostrej białaczki szpikowej; HSCT – ang. *hematopoietic stem cell transplantation*, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; REZ AML 2001 – protokół leczenia wznowy ostrej białaczki szpikowej

Tabela 28. Zgony z powodu progresji u dzieci z MPAL (n=2).

| L.p. | UPN | Aberracje genetyczne | Czas wystąpienia zgonu (dni) od rozpoznania choroby | Przyczyna zgonu |
|------|--------|----------------------|---|---|
| 1. | MPAL14 | <i>BCR/ABL1</i> | 67 | Progresja choroby, powikłania infekcyjne, niewydolność wielonarządowa |
| 2. | MPAL17 | Nie stwierdzono | 60 | Progresja choroby, zapalenie płuc, niewydolność oddechowa |

BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji *t(9;22)(q34;q11.2)*; MPAL – ang. *mixed phenotype acute leukemia*, ostra białaczka o mieszanym fenotypie;

Tabela 29. Charakterystyka dzieci z MPAL poddanych HSCT w CR1 (n=2).

| L.p. | UPN | Płeć, wiek (lata) | Grupa ryzyka, PR, BM15, BM33, genetyka | Rodzaj HSCT, czas od rozpoznania (miesiące) | Zdarzenia niepożądane po HSCT | Stan na dzień 31.12.2009 |
|------|--------|-------------------|---|---|-------------------------------|--------------------------|
| 1. | MPAL10 | M, 15 | HR, PPR, BM15-BM3, M33-nie dotyczy (zmiana protokołu leczenia), <i>BCR/ABL1</i> | MSD, 7 | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 2. | MPAL11 | M, 6,9 | HR, PPR, BM15-M3, BM33-nie dotyczy (zmiana protokołu leczenia), <i>BCR/ABL1</i> | MUD, 5 | Nie | Żyje w CR1 5 miesięcy |

BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); BM – ang. bone marrow, szpik kostny: BM15- status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię w 15 dniu leczenia, BM33 – w 33 dniu leczenia, M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; M – płeć męska; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; MUD – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; MSD – ang. matched sibling donor, zgodny dawca rodzinny; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka

4.2.10. ANALIZA WYNIKÓW CYTOFLUORYMETRYCZNEJ OCENY IMMUNOFENOTYPU U DZIECI Z MPAL

Kryteria WHO identyfikujące MPAL spośród innych typów ostrej białaczki, wykorzystują, w porównaniu z kryteriami EGIL dla BAL, obecność znacznie mniejszej liczby swoistych antygenów na komórkach blastycznych. W tabeli 30 przeanalizowano

u 19 pacjentów z MPAL objętych badaniem częstość wykonywania oznaczeń oraz występowania poszczególnych antygenów, których ekspresję w diagnostyce MPAL uwzględniają kryteria WHO. Analizując te antygeny w teście chi kwadrat, stwierdzono, iż obecność CD14 predysponuje do progresji ($\chi^2=(1, N=15) 4,286, p=.038$), wznowy ($\chi^2=(1, N=15) 9,231, p=.002$) i zgonu pacjenta ($\chi^2=(1, N=15) 9,231, p=.002$). Obecność pozostałych antygenów CD nie korelowała z wynikami leczenia.

Tabela 30. Ekspresja antygenów z linii limfoidalnej i mieloidalnej u dzieci z MPAL (n=19)

| Antygeny | Liczba oznaczeń | ≥20% komórek (+) | <20% komórek (-) |
|-------------------|-----------------|------------------|------------------|
| Linia mieloidalna | | | |
| iMPO | 18 (95%) | 14 (74%) | 4 (21%) |
| CD14 | 14 (74%) | 3 (16%) | 11 (58%) |
| CD64 | 5 (26%) | 1 (5%) | 4 (21%) |
| CD11c | 0 | | |
| Linia limfocyta B | | | |
| CD19 | 19 (100%) | 15 (79%) | 4 (21%) |
| CD10 | 18 (95%) | 10 (53%) | 8 (42%) |
| CD22 | 13 (68%) | 8 (42%) | 5 (26%) |
| CD79a | 14 (74%) | 8 (42%) | 6 (32%) |
| Linia limfocyta T | | | |
| CD3 | 16 (85%) | 6 (32%) | 10 (53%) |

4.3. GRUPA PACJENTÓW SPEŁNIAJĄCYCH KRYTERIA ZARÓWNO BAL, JAK I MPAL

Spośród 25 pacjentów z BAL i 19 z MPAL, 15 spełniało zarówno kryteria MPAL według WHO oraz BAL według EGIL (Tabela 31). Spośród nich u 3 (20%) pacjentów w chwili rozpoznania stwierdzono obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1*, u

jednego (7%) *ETV6/RUNX1*, u jednego (7%) rearanżację genu *MLL* i także u jednego (7%) chorego mutację punktową D835 genu *FLT3*.

Program ALL-IC-BFM-2002 zastosowano u 8 (53%) chorych, AML-BFM-Interim 2004 u 4 (27%), INTERFANT-06 u jednego (7%) chorego, a u 2 (14%) dzieci leczenie najpierw prowadzono według ALL-IC-BFM-2002, po czym zgodnie z programem AML-BFM-Interim w związku z niekorzystną odpowiedzią na leczenie podjęte na wstępie (Tabela 32). Do HRG zakwalifikowano 9 (60%) pacjentów, do IRG - 5 (33%) i do SRG jednego (7%) chorego. PPR stwierdzono u 5 (50%) spośród 10 chorych, u których podjęto leczenie programem ALL-IC-BFM-2002. Ogółem remisję uzyskano u 13 (87%) dzieci, w tym o czasie u 10 (67%) leczonych, 2 (14%) nie uzyskało remisji. Allogeniczną HSCT w CR1 przeprowadzono u 2 dzieci (14%). Wznowę rozpoznano w jednym przypadku (wczesna wznowa mieszana szpikowo-mózgowa) u dziecka z IRG leczonego protokołem ALL-IC-BFM-2002. Zginęło 3 (20%) dzieci, w tym 2 z powodu progresji choroby (pacjent *BCR/ABL1* w 67 dobie leczenia i pacjent T-myeloid NOS w 60 dobie leczenia, obydwaj leczeni według protokołu AML-BFM-Interim 2004) i jedno w CR1 z powodu powikłań leczenia (niemowlę z rearanżacją genu *MLL* w 35 dobie leczenia protokołem INTERFANT-06). W CCR żyje 11 (73%) pacjentów od 2 do 33 miesięcy (mediana 17 miesięcy) od uzyskania remisji.

W omawianej grupie 15 chorych z BAL/MPAL pEFS, pLFS i pOS wyniosły odpowiednio $0,60 \pm 0,19$, $0,65 \pm 0,20$ i $0,80 \pm 0,10$ (ryciny 10, 11 i 12).

Tabela 31. Charakterystyka pacjentów spełniających kryteria zarówno BAL wg. EGIL, jak i MPAL wg. WHO (n=15).

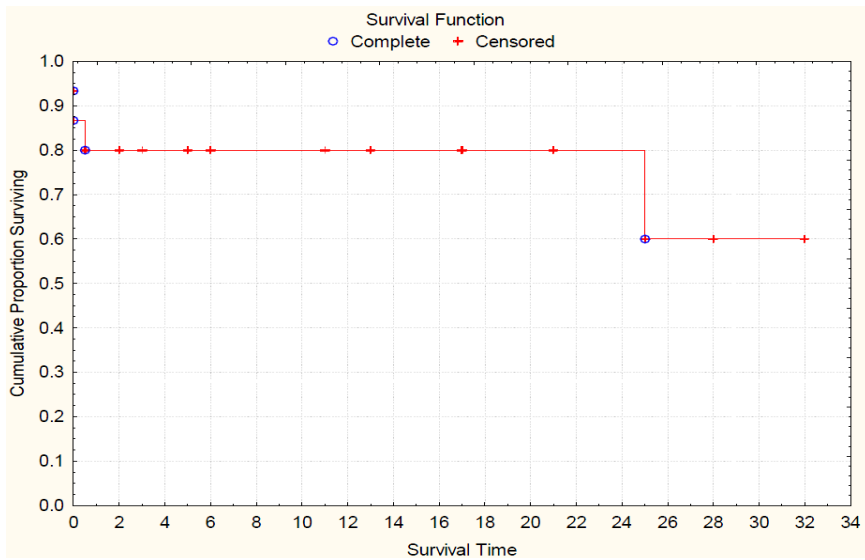
| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL i WHO) | Profil markerów | WBC (x10 ⁹ /l) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|------------------|------|----------------------------------|--|-----------------|---------------------------|--|-------------|
| 1. | MPAL2/ BAL1 | M | 13,9 | CDi22+, 19+, 10+, iMPO+, 15+ | B/My | 10,0 | Brak danych dotyczących kariotypu | 1 |
| 2. | MPAL3/ BAL2 | K | 7,2 | CDi79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 91,4 | Kariotyp niemożliwy do oceny; t(12;21) (p13;q22);ETV6/RUNX1 | 1 |
| 3. | MPAL4/ BAL3 | M | 5,7 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, 20+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 3,8 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 1 |
| 4. | MPAL5/ BAL4 | K | 4,4 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 33+ | B/My | 13,3 | 55.XX,+X,+6,+10,+14,+14,+18,+18,+21,+21[20] , w 92% tetrasomia 21, mutacja D835 genu <i>FLT3</i> | 1 |
| 5. | MPAL6/ BAL5 | K | 7,4 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | 5,9 | 40-46,X,+mar[3]/46XX[1] | 1 |
| 6. | MPAL7/ BAL11 | K | 16,4 | CDi3+, 2+, 5+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | 2,1 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 1 |
| 7. | MPAL8/ BAL12 | M | 6,1 | CDiIgM+, i3+, 2+, 5+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | Brak danych | 46XY | Brak danych |
| 8. | MPAL9/ BAL13 | M | 10,8 | CDi22+, 19+, 10+, 20+, i3+, 2+, 8+, 7+ | B/T | 3,4 | tetrasomia chr. 21 w 57% komórek, trisomia chr. 21 w 27% kom | 1 |
| 9. | MPAL10/ BAL15 | M | 15 | Dwie linie: CD19+, 10+, 13+, 33+ | B/My | 114 | 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[17]/46,XY[3], <i>BCR/ABL1</i> | Brak danych |
| 10. | MPAL11/ BAL16 | M | 6,9 | CDi22+, i79a+, 19+, 10+, 24+, iMPO+, 13+, 33+, 65+, 15+ | B/My | 11 | 46,XY,t(9;22)(q34;q11)[16]/46,XY,der(5)t(1;5)(q21;q33),t(9;22)[6]/47,XY,t(9;22),+17[3]/47,idem,der(22)t(1;22)(q11;p11)[4]. <i>BCR/ABL1</i> | 1 |
| 11. | MPAL14/ BAL17 | M | 16,8 | CDi79a+, 19+, TdT+, iMPO+, 13+, 33+ | B/My | Brak danych | 46XY t(9; 22) (q34; q11), <i>BCR/ABL1</i> | 3 |
| 12. | MPAL15/ BAL18 | M | 3,9 | CDi79a+, 19+, 10+, TdT+, iMPO+, 13+ | B/My | 1,9 | Kariotyp niemożliwy do oceny | 3 |
| 13. | MPAL17/ BAL21 | M | 14,2 | CDi3+, 7+, iMPO+, 13+, 117+ | T/My | Brak danych | W części metafaz - monosomia 16, 18 | Brak danych |
| 14. | MPAL18/ BAL22 | M | 7,4 | CDi3+, 2+, 7+, iMPO+, 13+, 33+, 15+ | T/My | 3,1 | 47,XY,add(1)(p36),+8[6]/46,XY[15] | 1 |
| 15. | MPAL19/ BAL24 | K | 0,2 | CD79a+, i22+, 19+, 13+, 14+, 15+ - 2 linie | B/My | 3,8 | Brak danych dotyczących kariotypu t(4;11) (21;q23); <i>MLL/AF4</i> | 1 |

B – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy: CNS1 – bez zajęcia CNS, CNS3 – zajęcie CNS; EGIL – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, ETV6/RUNX1 - (kiedyś TEL/AML1) = gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(12;21)(p13;q22); FLT3 - gen receptora kinazy tyrozynowej 3 fms-zależnej znajdujący się na chromosomie 13q12; K – płeć żeńska, M – płeć męska; MLL – ang. mixed lineage leukemia gene, gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; T - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta T; WBC – ang. white blood cells, leukocyty; WHO – ang. World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia;

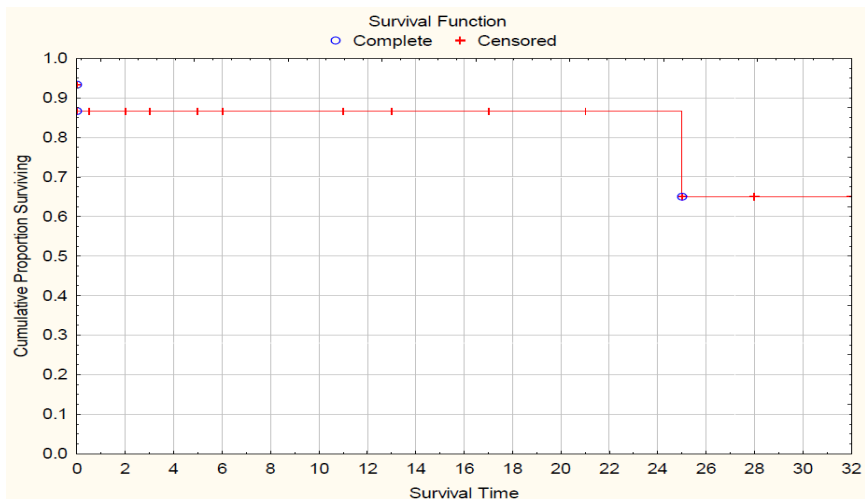
Tabela 32. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów spełniających zarówno kryteria BAL wg. EGIL oraz MPAL wg. WHO (n=15)

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|------------------|--|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|---|-------------------------------|
| 1. | MPAL2/ BAL1 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M2 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 23 miesiące |
| 2. | MPAL3/ BAL2 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M2 | M1 | 33 | Nie | Wznowa (BM+CNS) 25 miesięcy od rozpoznania | Żyje w CR2 2 miesiące po HSCT |
| 3. | MPAL4/ BAL3 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M2 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 18 miesięcy |
| 4. | MPAL5/ BAL4 | ALL-IC-BFM-2002 | SRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 7 miesięcy |
| 5. | MPAL6/ BAL5 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PGR | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 6. | MPAL7/ BAL11 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 3 miesiące |
| 7. | MPAL8/ BAL12 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 29 miesięcy |
| 8. | MPAL9/ BAL13 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 12 miesięcy |
| 9. | MPAL10/ BAL15 | AML-BFM-Interim 2004/ ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M3 | Nie dotyczy | 51 | Tak | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 10. | MPAL11/ BAL16 | AML-BFM-Interim 2004/ ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M3 | Nie dotyczy | 60 | Tak | Nie | Żyje w CR1 5 miesięcy |
| 11. | MPAL14/ BAL17 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M2/M3 | Nie uzyskał | Nie | Zgon z powodu progresji w 67 dobie leczenia | Nie żyje |
| 12. | MPAL15/ BAL18 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M3 | 44 | Nie | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 13. | MPAL17/ BAL21 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | Nie dotyczy | Nie uzyskał | Nie | Zgon z powodu progresji w 60 dobie leczenia | Nie żyje |
| 14. | MPAL18/ BAL22 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M3 | M1 | 29 | Nie | Nie | Żyje w CR1 6 miesięcy |
| 15. | MPAL19/ BAL24 | INTERFANT-06 | HRG | Nie dotyczy | M1 | M1 | 15 | Nie | Zgon w CR1 z powodu powikłań leczenia w 35 dobie leczenia | Nie żyje |

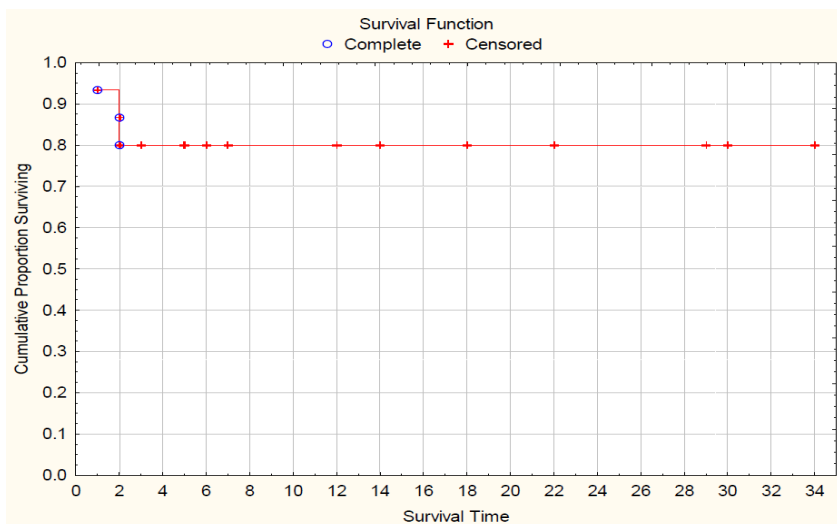
ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja, CR2 - druga całkowita remisja; INTERFANT-06 - protokół leczenia ostrej białaczki u niemowląt obowiązujący od 2006 roku nadal; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych, M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka: HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka, IRG – ang. intermediate risk group, grupa pośredniego ryzyka, SRG – ang. standard risk group, grupa niskiego ryzyka;



Ryc. 11. pEFS u dzieci z BAL/MPAL ($n=15$)



Ryc. 12. pLFS u dzieci z BAL/MPAL ($n=15$)



Ryc. 13. pOS u dzieci z BAL/MPAL ($n=15$)

4.4. OSTRA BIAŁACZKA LIMFOBLASTYCZNA BCP-KOMÓRKOWĄ Z KOEKSPRESJĄ ANTYGENÓW MIELOIDALNYCH (My+BCP-ALL)

4.4.1. WYSTĘPOWANIE I CHARAKTERYSTYKA PACJENTÓW Z My+BCP-ALL

My+BCP-ALL rozpoznano u 111 (12,5%) spośród ogółem 888 dzieci, u których w okresie od 01.01.2007 r. do 31.12.2009 r. zdiagnozowano ostrą białaczkę. Wiek dzieci z My+BCP-ALL wynosił od 1,5 miesiąca do 17,5 roku (mediana 5 lat). Stosunek płci żeńskiej do męskiej wyniósł 1 : 1.01.

Początkowa liczba białych krwinek we krwi obwodowej wyniosła od 0,5 do $540 \times 10^9/l$ (mediana $37 \times 10^9/l$). Hiperleukocytozę zanotowano w 13 (12%) przypadkach. Zmiany w kariotypie wykryto ogółem u 26 (23,4%) pacjentów, natomiast obecność genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1* stwierdzono u 11 (9,9%) chorych, rearanżację genu *MLL* u 5 (4,5%), obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* u 4 (3,6%), a mutację punktową D835 genu *FLT3* u jednego pacjenta. Do IRG zakwalifikowano 43 (38,7%) dzieci, 37 (33,3%) do SRG, a 31 (27,9%) do HRG. Zajęcie OUN przy rozpoznaniu odnotowano u 7 (6,3%) chorych.

4.4.2. ZASTOSOWANE LECZENIE I WYNIKI LECZENIA PACJENTÓW Z My+BCP-ALL

Leczenie według protokołu ALL-IC-BFM-2002 otrzymało 108 (97,3%) pacjentów, dwoje niemowląt leczono protokołem INTERFANT 06, a jeden pacjent otrzymał początkowo terapię według ALL-IC-BFM-2002, a następnie, z powodu braku zadowalającej odpowiedzi na stosowane cytostatyki, włączono chemioterapię według

protokołu AML-BFM-Interim 2004. PPR stwierdzono u 20 (18%) spośród 108 pacjentów leczonych programem ALL-IC-BFM-2002. Ogółem remisję o czasie osiągnęło 107 (96,3%) chorych, 4 (3,6%) nie uzyskało remisji, z czego 3 zginęło z powodu progresji choroby, natomiast jedno dziecko pozostawało bez remisji w chwili zakończenia obserwacji. Allogeniczną HSCT w CR1 przeprowadzono u 5 (4,5%) dzieci, spośród których czworo żyje w CR1 (80%), a jedno zmarło z powodu powikłań po HSCT (tabela 33). Wznowa My+BCP-ALL wystąpiła u 5 (4,5%) pacjentów (5, 6, 11, 27 i 32 miesiące od rozpoznania, mediana 11 miesięcy), w tym u 4 rozpoznano izolowaną wznowę szpikową, a u jednego mieszaną wznowę szpikowo-narządową. Spośród 5 pacjentów, u których spostrzegano wznowę 2 pacjentów żyje w CR2 (jeden po allogenicznej HSCT, a drugi przygotowywany do HSCT), jeden chory żyje bez remisji w trakcie chemioterapii, a 2 pacjentów zmarło z powodu wznowy. W sumie zginęło 6 (5,4%) pacjentów (3 z powodu progresji, 2 z powodu wznowy i jeden z powodu powikłań terapii). Charakterystykę niepowodzeń przedstawiono w tabelach 34 i 35. W CCR żyje 101 (91%) pacjentów od 1 do 34 miesięcy (mediana 14) od uzyskania CR1. U 111 dzieci z My+BCP-ALL pEFS, pLFS i pOS wyniosło odpowiednio $0,78\pm 0,09$, $0,80\pm 0,09$ i $0,93\pm 0,03$ (ryciny 13, 13 i 15).

Tabela 33. Charakterystyka dzieci z My+BCP-ALL poddanych allogenicznej HSCT w CR1 (n=5).

| L.p. | UPN | Płeć, wiek (lata) | Grupa ryzyka, PR, BM15, BM33, genetyka | Rodzaj HSCT, czas od rozpoznania (miesiące) | Zdarzenia niepożądane po HSCT | Stan na dzień 31.12.2009 |
|------|---------------|-------------------|---|---|--|--------------------------|
| 1. | My-BCP-ALL 9 | M, 4 | HRG, PPR, BM15-M3, BM33-M1, norma | MUD 8 | Zgon 3,5 miesiąca po HSCT z powodu śródmiąższowe zapalenia płuc w przebiegu GvHD | Nie żyje |
| 2. | My-BCP-ALL 10 | M, 11 | HRG, PPR, BM15-M3, BM33-M1, norma | MSD, 6 | Nie | Żyje w CR1 15 miesięcy |
| 3. | My-BCP-ALL 11 | M, 17 | proB-ALL, HRG, PPR, BM15-M2, BM33-M1, norma | MSD, 8 | Nie | Żyje w CR1 21 miesięcy |
| 4. | My-BCP-ALL 12 | M, 12 | HRG, PPR, BM15-M2, BM33-M1, norma | MUD, 10 | Nie | Żyje w CR1 18 miesięcy |
| 5. | My-BCP-ALL 13 | K, 10 | HRG, PPR, BM15-M3, BM33-M1, BCR/ABL1 | MUD, 9 | Nie | Żyje w CR1 14 miesięcy |

BCR/ABL1 - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); *BM* – ang. bone marrow, szpik kostny; *BM15*- status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię w 15 dniu leczenia, *BM33* – w 33 dniu leczenia, *M1* - <5% blastów, *M2*≥5%, <25% blastów, *M3*≥25% blastów; *CR* – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, *CR1* – pierwsza całkowita remisja; *GvHD* – ang. graft versus host disease, choroba przeszczep przeciw gospodarzowi; *HSCT* – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; *K* – płeć żeńska; *M* – płeć męska; *MUD* – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; *MSD* – ang. matched sibling donor, zgodny dawca rodzinny; *My-BCP-ALL* – ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocyta B z koekspresją antygenów mieloidalnych; *PR* – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; *PGR* – ang. prednisone good response, steroidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, *PPR* – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; *RG* – ang. risk group, grupa ryzyka; *HRG* – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka

Tabela 34. Charakterystyka pacjentów z My+BCP-ALL z niepowodzeniami leczenia (n=9)

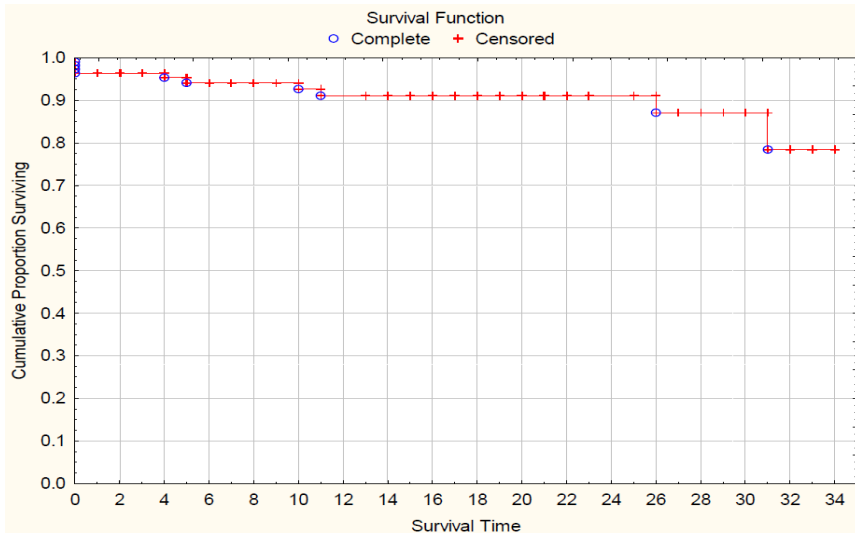
| L.p. | UPN | Płeć | Wiek (lata) | Obecność koekspresji | Początkowe WBC ($\times 10^9/l$) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|--------------|------|-------------|----------------------|------------------------------------|--|-------------|
| 1. | My-BCP-ALL 1 | K | 17 | CD15 | 422 | 46XX, t(9; 22) (q34; q11) <i>BCR/ABL1</i> | Brak danych |
| 2. | My-BCP-ALL 2 | M | 9 | CD33 | 3,7 | 46,XY,t(9;13;15)(q32;q12;q22)[17]/46XY[5] | Brak danych |
| 3. | My-BCP-ALL 3 | M | 2 | CD13 | 4,5 | 56,XY,+X,+Y,+4,+6,+10,+14,+17,+18,+21,+21 [1]/56,sl,dup(1) (q21q?32)[10]/46,XY[10] | Brak danych |
| 4. | My-BCP-ALL 4 | K | 9 | CD33, CD7 | 15 | 46XX | 1 |
| 5. | My-BCP-ALL 5 | K | 2 | CD13 | 3,9 | Brak danych dotyczących kariotypu | 1 |
| 6. | My-BCP-ALL 6 | M | 14 | CD13, CD33 | 183,1 | 46XY, t(9; 22) (q34; q11) rearanżacje chromosomu 7, <i>BCR/ABL1</i> | 1 |
| 7. | My-BCP-ALL 7 | K | 6 | CD15, CD65 | 89 | 46XX; t(4;11) (21;q23), <i>MLL-AF4</i> | 1 |
| 8. | My-BCP-ALL 8 | K | 17 | CD33 | 24,7 | 46XX | 1 |
| 9. | My-BCP-ALL 9 | M | 4 | CD15 | 33,5 | 46XY | 1 |

ALL – ang. acute lymphoplastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; *BCP* – ang. B-cell precursors, prekursorzy komórek B; *BCR/ABL1* - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(9;22)(q34;q11.2); *CNS* – ang. central nervous system, centralny układ nerwowy; *K* – płeć żeńska, *M* – płeć męska; *MLL* – ang. mixed lineage leukemia gene, gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; *My* - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; *My-BCP-ALL* – ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocyta B z koekspresją antygenów mieloidalnych; *WBC* – ang. white blood cells, leukocyty;

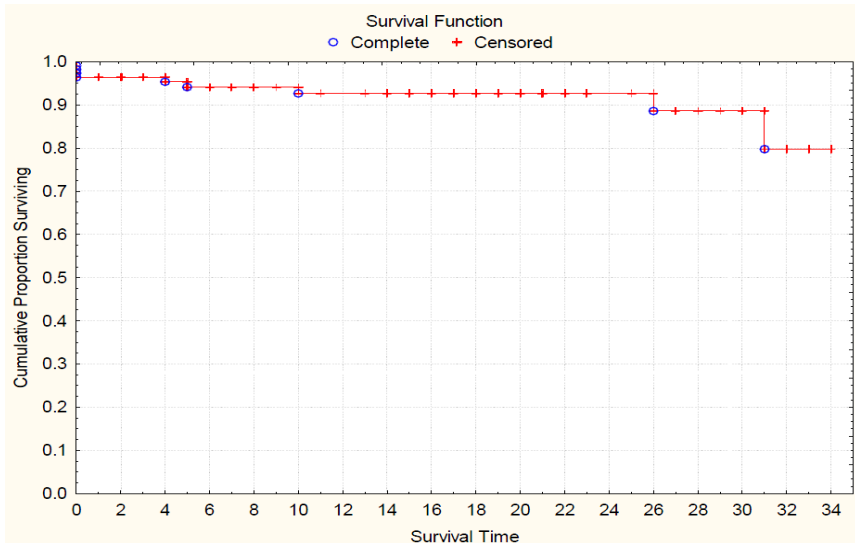
Tabela 35. Zastosowane leczenie i zdarzenia niekorzystne u pacjentów z My+BCP-ALL z niepowodzeniami leczenia (n=9)

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|--------------|-----------------|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|--|--|
| 1. | My-BCP-ALL 1 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | Nie dotyczy | Nie dotyczy | Nie dotyczy | Nie uzyskał | Nie | Zgon w 2 dobie leczenia- progresja choroby | Nie żyje |
| 2. | My-BCP-ALL 2 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M3 | Nie dotyczy | Nie uzyskał | Nie | Zgon z progresji choroby w 20 dobie leczenia | Nie żyje |
| 3. | My-BCP-ALL 3 | ALL-IC-BFM-2002 | SRG | PGR | pusty | Nie dotyczy | Nie uzyskał | Nie | Zgon z progresji choroby w 30 dobie leczenia | Nie żyje |
| 4. | My-BCP-ALL 4 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PGR | M3 | M1 | 33 | Nie | Wczesna wznowa BM 27 miesiący od rozpoznania | Żyje bez remisji |
| 5. | My-BCP-ALL 5 | ALL-IC-BFM-2002 | SRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Późna wznowa BM w 32 miesiące od rozpoznania | Żyje w CR2 1 miesiąc |
| 6. | My-BCP-ALL 6 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M3 | M1 | 15 | Nie | Bardzo wczesna wznowa BM 3 miesiące od rozpoznania | Żyje w CR2, po allo- HSCT 13 miesiący |
| 7. | My-BCP-ALL 7 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Bardzo wczesna wznowa BM 11 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje, nie uzyskał CR2 |
| 8. | My-BCP-ALL 8 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Bardzo wczesna wznowa BM+żuchwa 11 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje, nie uzyskał CR2 |
| 9. | My-BCP-ALL 9 | ALL-IC-BFM-2002 | HRG | PPR | M3 | M1 | 33 | Tak | Zgon z powikłań 12 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje |

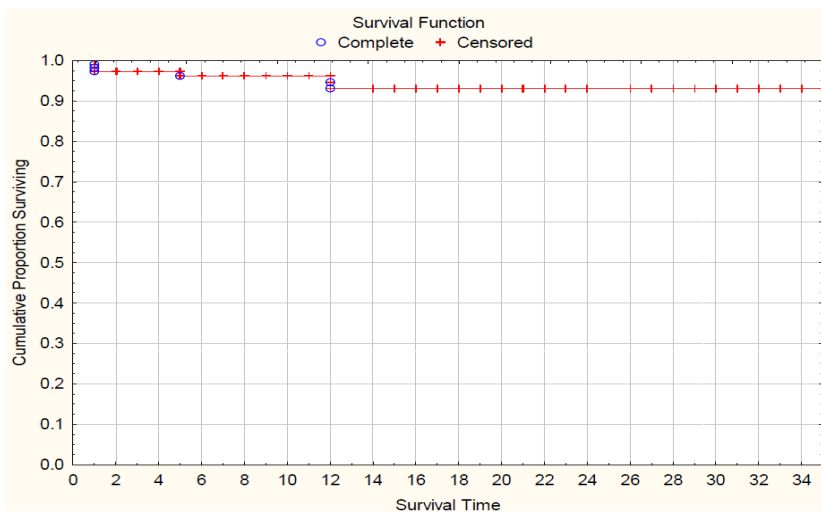
ALL – ang. acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; BCP – ang. B-cell precursors, prekursorzy komórek B; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja, CR2 - druga całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; K – płeć żeńska, M – płeć męska; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; My-BCP-ALL – ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocyta B z koekspresją antygenów mieloidalnych; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednisonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka: HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka, IRG – ang. intermediate risk group, grupa pośredniego ryzyka, SRG – ang. standard risk group, grupa niskiego ryzyka;



Ryc. 14. pEFS u dzieci z My+BCR-ALL ($n=111$)



Ryc. 15. pLFS u dzieci z My+BCP-ALL ($n=111$)



Ryc. 16. pOS u dzieci z My+BCP-ALL ($n=111$)

4.4.3. ANALIZA WYNIKÓW CYTOFLUORYMETRYCZNEJ OCENY IMMUNOFENOTYPU W GRUPIE My+BCP-ALL

W badaniu cytofluorymetrycznym pacjentów z My+BCP-ALL spośród antygenów typowych dla linii mieloidalnej najczęściej obserwowano koekspresję CD13 (n=69; 62,2%), CD33 (n=52; 46,8%) oraz CD15 (n=15; 13,5%), natomiast rzadko koekspresję CD117 (n=4; 3,6%), CD14 (n=2; 1,8%) i CD65 (n=1; 0,9%). Dodatkowo u 20 dzieci występowała koekspresja antygenów charakterystycznych dla linii limfocytów T, tj. CD7 (n=10; 9%), CD2 (n=7; 6,3%), CD8 (n=2; 1,8%) i CD5 (n=1; 0,9%). Analizując powyższe antygeny w teście chi kwadrat, nie stwierdzono zależności pomiędzy obecnością któregośkolwiek z nich a progresją, wznową lub zgonem pacjenta. W tabeli 36 przeanalizowano częstość wykonywania oznaczeń oraz występowania poszczególnych antygenów mieloidalnych i linii limfocyta T ujętych w kryteriach EGIL i WHO u pacjentów, u których postawiono rozpoznanie My+BCP-ALL.

Tabela 36. Ekspresja antygenów z linii mieloidalnej i linii limfocyta T u dzieci z My+BCP-ALL (n=111)

| Antygeny | Liczba oznaczeń | ≥20% komórek (+) | <20% komórek (-) |
|-------------------|-----------------|------------------|------------------|
| Linia mieloidalna | | | |
| iMPO | 77 (67,4%) | 0 | 77 (67,4%) |
| CD13 | 102 (91,9%) | 69 (62,2%) | 33 (29,7%) |
| CD33 | 102 (91,9%) | 52 (46,8%) | 50 (45%) |
| CD65 | 19 (17,1%) | 1 (0,9%) | 18 (16,2%) |
| CD14 | 68 (61,3%) | 2 (1,8%) | 43 (38,7%) |
| CD15 | 98 (88,3%) | 15 (13,5%) | 83 (74,8%) |
| CD117 | 85 (76,6%) | 4 (3,6%) | 81 (73%) |
| CD64 | 23 (20,7%) | 0 | 23 (20,7%) |
| Linia limfocyta T | | | |
| CD3 | 75 (67,6%) | 0 | 75 (67,6%) |
| TCR | 3 (2,7%) | 0 | 3 (2,7%) |
| CD2 | 56 (50,4%) | 7 (6,3%) | 49 (44,1%) |
| CD5 | 71 (64%) | 1 (0,9%) | 70 (63,1%) |
| CD8 | 59 (53,2%) | 2 (1,8%) | 57 (51,4%) |
| CD7 | 89 (80,2%) | 79 (71,2%) | 10 (9%) |
| CD1a | 16 (14,4%) | 0 | 16 (14,4%) |

4.5. OSTRA BIAŁACZKA LIMFOBLASTYCZNA T-KOMÓRKOWA Z KOEKSPRESJĄ ANTYGENÓW MIELOIDALNYCH (My+T-ALL)

4.5.1. WYSTĘPOWANIE I CHARAKTERYSTYKA PACJENTÓW Z My+T-ALL

My+T-ALL rozpoznano u 12 (1,35%) spośród ogółem 888 dzieci, u których w okresie od 01.01.2007 r. do 31.12.2009 r. zdiagnozowano ostrą białaczkę (Tabela 37). Wiek dzieci z My+T-ALL wynosił od 13 miesięcy do 17,5 roku (mediana 10,5 lat). Stosunek płci żeńskiej do męskiej wyniósł 1 : 3.

Początkowa liczba białych krwinek we krwi obwodowej wyniosła od 0,7 do 333,8x10⁹/L (mediana 76x10⁹/l). Hiperleukocytozę (>50x10⁹/l) stwierdzono u 8 (66,7%) dzieci. U jednego pacjenta wykryto rearanżację genu *MLL*. W badaniu

cytofluorymetrycznym najczęściej obserwowano koekspresję CD13 (n=6; 50%), CD33 (n=4; 33%) i CD117 (n=3; 25%), a rzadko CD15 (n=1; 8%). Dodatkowo u 2 (n=16%) dzieci występowała koekspresja antygenów linii limfocyta B (CD19, CD24). U jednego pacjenta stwierdzono wstępne zajęcie CNS. Do HRG zakwalifikowano 7 (58%) pacjentów, a 5 (42%) do IRG.

4.5.2. ZASTOSOWANE LECZENIE I WYNIKI LECZENIA PACJENTÓW Z My+T-ALL

Wszyscy pacjenci otrzymali leczenie według programu ALL-IC-BFM-2002 (Tabela 38). PPR zaobserwowano u 5 (42%) pacjentów. Remisję osiągnęło 10 dzieci (83%), w tym 9 (75%) o czasie. Z powodu progresji choroby zginęło 2 dzieci (w 14 i 38 dniu od rozpoznania). Allogeniczną HSCT przeprowadzono u 3 dzieci z HRG w CR1 (Tabela 39), spośród nich dwoje żyje w CCR, a u trzeciego 5 miesięcy po HSCT (12 miesięcy od rozpoznania) wystąpiła wznowa mieszana szpikowo-mózgowa z powodu której dziecko zmarło. Ponadto wznowę stwierdzono u kolejnych 2 pacjentów, w tym wznowę szpikową 4 miesiące i mózgową 11 miesięcy od rozpoznania białaczki. Wszyscy pacjenci ze wznową zmarli z powodu progresji choroby podstawowej. Z powodu powikłań w CR1 zmarło jedno dziecko, 6 miesięcy od rozpoczęcia terapii (zapalenie płuc). Odnotowano również jeden zgon z powodu posocznicy po pobiciu 9 miesięcy od rozpoczęcia leczenia. W sumie zmarło 7 (58%) pacjentów, w tym 2 z powodu progresji, 3 z powodu wznowy, jedno z powodu powikłań terapii i 1 z powodu niezależnego od choroby podstawowej i stosowanego leczenia. W CR1 żyje jedynie 5 (42%) pacjentów od 13 do 34 miesięcy od uzyskania remisji (mediana 28 miesięcy). U

12 chorych z My+T-ALL pEFS, pLFS i pOS wyniosło odpowiednio $0,31 \pm 0,16$, $0,33 \pm 0,17$ i $0,56 \pm 0,15$ (ryciny 16, 17 i 18).

Tabela 37. Charakterystyka pacjentów z My+T-ALL (n=12)

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | (+) antygeny My i z linii limfocyta B | Zmiany genetyczne | Początkowe WBC ($\times 10^9/L$) | CNS |
|------|-------------|------|----------------------------------|---------------------------------------|-------------------|------------------------------------|-----|
| 1. | My+T-ALL 1 | M | 5,9 | CD13,10 | Nie stwierdzono | 23 | 1 |
| 2. | My+T-ALL 2 | M | 6,7 | CD15 | Nie stwierdzono | 84,6 | 1 |
| 3. | My+T-ALL 3 | K | 8,5 | CD117 | Nie stwierdzono | 187,6 | 1 |
| 4. | My+T-ALL 4 | M | 15,2 | CD13,34 | Nie stwierdzono | 199,6 | 1 |
| 5. | My+T-ALL 5 | M | 17 | CD117,34 | Nie stwierdzono | 55,8 | 1 |
| 6. | My+T-ALL 6 | K | 1,1 | CD13,10 | Nie stwierdzono | 333,8 | 1 |
| 7. | My+T-ALL 7 | M | 2,9 | CD13 | MLL/AF4 | 192,7 | 1 |
| 8. | My+T-ALL 8 | M | 5 | CD13 | Nie stwierdzono | 69,2 | 3 |
| 9. | My+T-ALL 9 | M | 13,7 | CD19, 24, 33, 117, 34 | Nie stwierdzono | 2,8 | 1 |
| 10. | My+T-ALL 10 | M | 14,9 | CD33 | Nie stwierdzono | 19,5 | 1 |
| 11. | My+T-ALL 11 | M | 14,7 | CD33 | Brak danych | 0,7 | 1 |
| 12. | My+T-ALL 12 | K | 17,6 | CD19,13, 33 | Nie stwierdzono | 110 | 1 |

ALL – ang. acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; CNS – ang. central nervous system, centralny układ nerwowy; K – płeć żeńska, M – płeć męska; MLL – ang. mixed lineage leukemia gene, gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; My - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; My+T-ALL – ostra białaczka limfoblastyczna z limfocytów T z koekspresją antygenów mieloidalnych; WBC – ang. white blood cells, leukocyty;

Tabela 38. Rokowanie i wyniki leczenia pacjentów z My+T-ALL (n=12)

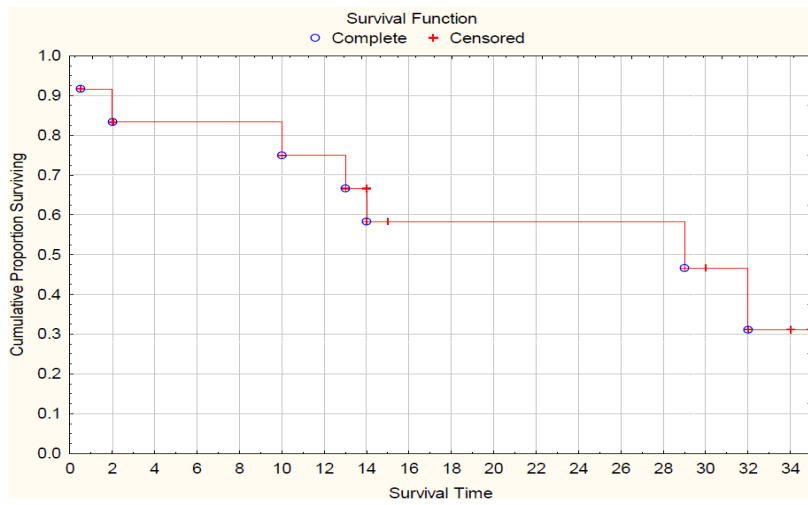
| L.p. | UPN | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|-------------|--------------|-----|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|---|--|
| 1. | My+T-ALL 1 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 14 miesięcy |
| 2. | My+T-ALL 2 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 15 miesięcy |
| 3. | My+T-ALL 3 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Wznowa (CNS) 14 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje, zgon z powodu progresji choroby 29 miesięcy od rozpoznania |
| 4. | My+T-ALL 4 | IRG | PGR | M1 | M1 | 15 | Nie | Zgon z powodu sepsy po pobiciu 9 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje |
| 5. | My+T-ALL 5 | IRG | PGR | zgon | | Nie uzyskał | Nie | Zgon w 15 dobie leczenia z powodu progresji choroby | Nie żyje |
| 6. | My+T-ALL 6 | HRG | PPR | M1 | M1 | 15 | Tak | Wznowa (BM+CNS) 12 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje, zgon z powodu progresji choroby 13 miesięcy od rozpoznania |
| 7. | My+T-ALL 7 | HRG | PPR | M3 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 35 miesięcy |
| 8. | My+T-ALL 8 | HRG | PPR | M1 | M1 | 15 | Tak | Nie | Żyje w CR1 34 miesięcy |
| 9. | My+T-ALL 9 | HRG | PGR | M3 | M1 | 15 | Nie | Zgon z powodu powikłań leczenia 6 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje |
| 10. | My+T-ALL 10 | HRG | PPR | M1 | M1 | 15 | Nie | Wznowa (BM) 4 miesiące od rozpoznania | Nie żyje, zgon z powodu progresji choroby 14 miesięcy od rozpoznania |
| 11. | My+T-ALL 11 | HRG | PGR | M2 | zgon | Nie uzyskał | Nie | Zgon w 45 dobie leczenia z powodu progresji choroby | Nie żyje |
| 12. | My+T-ALL 12 | HRG | PPR | M3 | aplazja | 43 | Tak | Nie | Żyje w CR1 30 miesięcy |

ALL – ang. acute lymphoplasmic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, centralny układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2>5%, <25% blastów, M3>25% blastów; My+T-ALL – ostra białaczka limfoblastyczna z limfocytów T z koekspresją antygenów mieloidalnych; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka, IRG – ang. intermediate risk group, grupa pośredniego ryzyka;

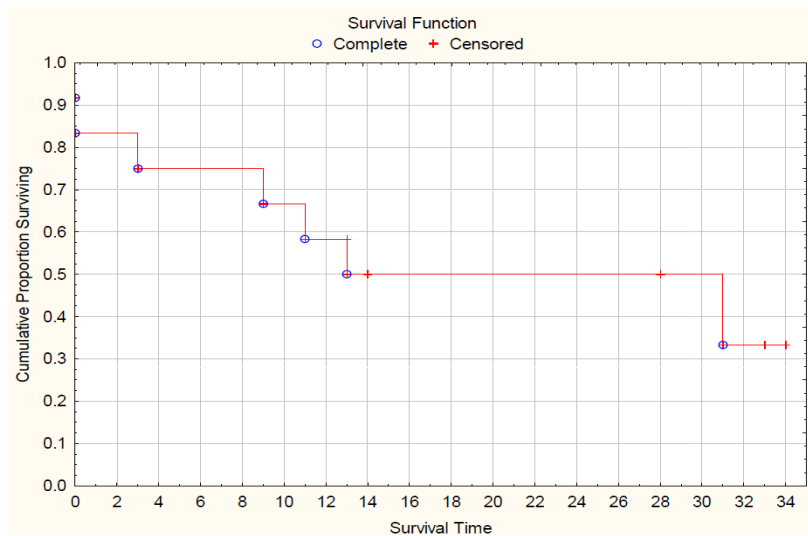
Tabela 39. Charakterystyka i wyniki leczenia dzieci z My+T-ALL poddanych allogenicznej HSCT w CR1 (n=3).

| L.p. | UPN | Płeć, wiek (lata) | RG, PR, BM15, BM33 | Rodzaj HSCT, czas od rozpoznania (miesiące) | Zdarzenia niepożądane po HSCT | Stan na dzień 31.12.2009 |
|------|-------------|-------------------|---|---|-------------------------------|--------------------------|
| 1. | My+T-ALL 6 | K, 1,1 | HRG, PPR, BM15-M1 | MUD, 7 | Tak, wznowa szpikowo-mózgowa | Nie żyje |
| 2. | My+T-ALL 8 | M, 5 | HRG, PPR, BM15-M1 | MSD, 6 | Nie | Żyje w CR1 34 miesiące |
| 3. | My+T-ALL 12 | K, 17,6 | HRG, PPR, BM15-M3, BM33-aplazja, CR-43 doba | MUD, 11 | Nie | Żyje w CR1 30 miesięcy |

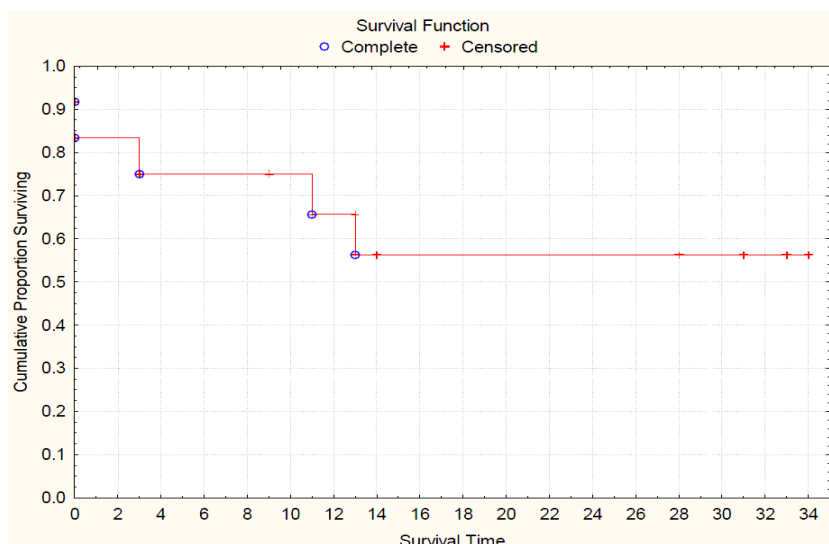
BM – ang. bone marrow, szpik kostny; BM15- status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię w 15 dniu leczenia, BM33 – w 33 dniu leczenia, M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; K – płeć żeńska; M – płeć męska; MUD – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; MSD – ang. matched sibling donor, zgodny dawca rodzinny; My+T-ALL – ostra białaczka limfoblastyczna z limfocytów T z koekspresją antygenów mieloidalnych; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka



Ryc 17. pEFS u dzieci z My+T-ALL (n=12)



Ryc. 18. pLFS u dzieci z My+T-ALL (n=12)



Ryc. 19. *pOS* u dzieci z *My+T-ALL* ($n=12$)

4.6 OSTRA BIAŁACZKA MIELOBLASTYCZNA Z KOEKSPRESJĄ ANTYGENÓW LIMFOIDALNYCH (Ly+AML)

4.6.1. WYSTĘPOWANIE I CHARAKTERYSTYKA PACJENTÓW Z Ly+AML

Ly+AML rozpoznano u 11 (1,2%) spośród ogółem 888 dzieci, u których w okresie od 01.01.2007 r. do 31.12.2009 r. zdiagnozowano ostrą białaczkę (Tabela 40). Wiek dzieci z Ly+AML wynosił od 1 do 17,5 roku (mediana 12 lat). Stosunek płci żeńskiej do męskiej wyniósł 1 : 4,5.

Posługując się klasyfikacją FAB, u 7 dzieci rozpoznano AML-M0, AML-M3 u 3, AML-M2 u jednego i AML-M5 u jednego. Początkowa liczba krwinek białych we krwi obwodowej wyniosła od 13,8 do $239,21 \times 10^9/l$ (mediana $37 \times 10^9/l$). Hiperleukocytozę zanotowano w 3 (27,3%) przypadkach. Duplikację tandemową genu *FLT3* stwierdzono u 3 chorych, a obecność genu fuzyjnego *PML/RARA* u jednego pacjenta. Wszystkie dzieci zakwalifikowano do HRG.

4.6.2. ZASTOSOWANE LECZENIE I WYNIKI LECZENIA PACJENTÓW Z Ly+AML

Według programu AML-BFM-Interim 2004 leczono 10 dzieci, a jedno według stosowanego latach 1998-2002 programu ANNL 98 (tabela 41). Remisję osiągnęło 10 (90,9%) dzieci, w tym o czasie 7 (63,6%) chorych. Jedno (9,1%) dziecko nie uzyskało remisji i zmarło 7 miesięcy od rozpoczęcia terapii. Allogeniczna HSCT w CR1 przeprowadzono u 4 (36,4%) dzieci, które nadal żyją w CCR (tabela 42). Wznowa choroby wystąpiła u 2 (18,2%) pacjentów, w tym jedna izolowana szpikową 10 miesięcy od rozpoczęcia terapii oraz jedna mieszana szpikowo-mózgowa 11 miesięcy od rozpoczęcia leczenia. Pierwszy pacjent ze wznową żyje w CR2 przygotowywany do HSCT, drugi zmarł z powodu niewydolności oddechowej bez uzyskania remisji. Żadne dziecko nie zginęło z powodu powikłań terapii. W CR1 żyje 8 (72,7%) pacjentów od 1 do 18 miesięcy od uzyskania remisji (mediana 8 miesięcy). U 11 dzieci z Ly+AML pEFS, pLFS i pOS wyniosło odpowiednio $0,68\pm 0,15$, $0,68\pm 0,15$ i $0,67\pm 0,21$ (ryciny 19, 20 i 21).

Tabela 40. Charakterystyka pacjentów z Ly+AML (n=11)

| L.p. | UPN | FAB | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | (+) antygeny limfocyta B i/lub T | Początkowe WBC (x10 ⁹ /L) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|----------|------|------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--|-------------|
| 1. | Ly+AML1 | AML0 | M | 1,4 | CD7 | 19,8 | t(1;5) z trisomią 1q, t(6;13) oraz trisomia 19 | 1 |
| 2. | Ly+AML2 | AML5 | M | 7,2 | CD7 | 239,2 | 46XY | 1 |
| 3. | Ly+AML3 | AML0 | M | 8,5 | CD7 | Brak danych | 46XY, FLT3-ITD. | Brak danych |
| 4. | Ly+AML4 | AML0 | M | 16,7 | CD7 | Brak danych | 46XY | Brak danych |
| 5. | Ly+AML5 | AML0 | K | 2,2 | CD2, 7 | 37 | 45XX-17 | 1 |
| 6. | Ly+AML6 | AML0 | M | 13,8 | CD7, 19 | 15 | 46,XY,t(10;11)(p13;q21),16qh+[16] | 1 |
| 7. | Ly+AML7 | AML0 | M | 15,5 | CD2, 7 | 18 | 46XY, FLT3-ITD. | 1 |
| 8. | Ly+AML8 | AML2 | M | 17,2 | CD7 | 112,5 | 46XY, FLT3-ITD. | 1 |
| 9. | Ly+AML9 | AML3 | K | 17,9 | CD2 | 48 | 46XX | 1 |
| 10. | Ly+AML10 | AML3 | M | 1,4 | CD10, 7 | 127,2 | 46XY | 1 |
| 11. | Ly+AML11 | AML3 | M | 12,7 | CD19, 7, TdT | 13,8 | 46XX; t(15;17)(q22;q21), PML/RARA | 1 |

AML – ang. Acute myeloblastic leukemia, ostra białaczka szpikowa, AML0- ostra białaczka szpikowa – podtyp: mieloblastyczna minimalnie zróżnicowana, AML2 – podtyp: mieloblastyczna z cechami dojrzewania, AML3 – podtyp: promielocytowa, AML5 – podtyp: monoblastyczna/monocytowa; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CNS1 – bez zajęcia CNS; FLT3 - gen receptora kinazy tyrozynowej 3 fms-zależnej znajdujący się na chromosomie 13q12, FLT3-ITD. – duplikacja tandemowa genu FLT3; FAB – klasyfikacja białaczek French-American-British; K – płeć żeńska, Ly+AML – ostra białaczka szpikowa z koekspresją antygenów limfoidalnych; M – płeć męska; PML-RARA - gen fuzyjny utworzony w wyniku translokacji t(15;17)(q22;q21); WBC – ang. white blood cells, leukocyty;

Tabela 41. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z Ly+AML (n=11)

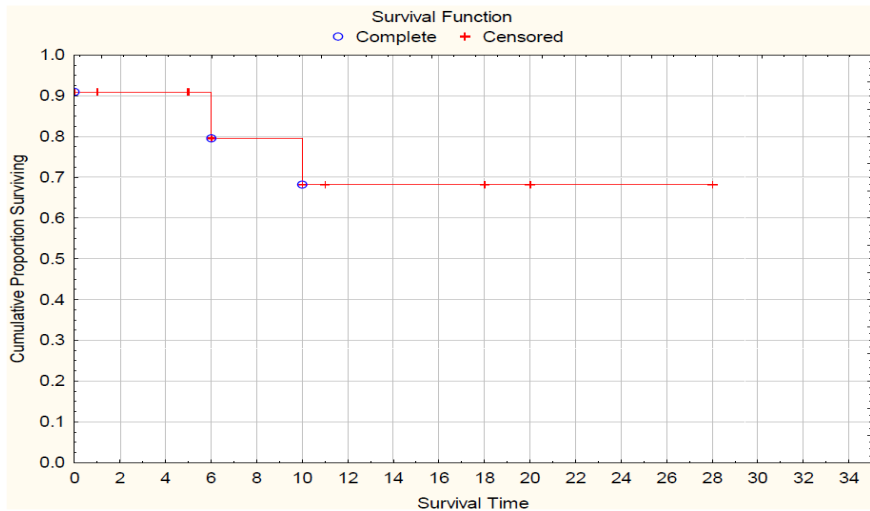
| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 29 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|----------|---|--------------|---------------------|---------------------|-------------------------|------------|--|--|
| 1. | Ly+AML1 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Aplazja | M1 | 29 | Tak | Nie | Żyje w CR1 12 miesięcy |
| 2. | Ly+AML2 | AML-BFM-Interim 2004, Ida-FLAG 2x | HRG | M2 | M3 | 60 | Tak | Nie | Żyje w CR1 13 miesięcy |
| 3. | Ly+AML3 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M2 | M2 | 66 | Nie | Nie | Żyje w CR1 13 miesięcy |
| 4. | Ly+AML4 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M1 | M1 | 15 | Tak | Nie | Żyje w CR1 21 miesięcy |
| 5. | Ly+AML5 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 29 miesięcy |
| 6. | Ly+AML6 | ANNL-98 | HRG | M1 | M1 | 15 | Nie | Wznowa (BM+CNS) 11 miesięcy od rozpoznania | Nie żyje, zgon z powodu progresji choroby 14 miesięcy od rozpoznania |
| 7. | Ly+AML7 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M3 | pusty | 90 | Nie | Wznowa (BM) 10 miesięcy od rozpoznania | Żyje w CR2 1 miesiąc |
| 8. | Ly+AML8 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M3 | M1 | 29 | Tak | Nie | Żyje w CR1 19 miesięcy |
| 9. | Ly+AML9 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M1 | M1 | 15 | Nie | Nie | Żyje w CR1 2 miesiące |
| 10. | Ly+AML10 | AML-BFM-Interim 2004, Ida-FLAG, 1 cykl Mitoxantron - Ara-C - Mylotarg | HRG | M2 | M3 | Nie osiągnął | Nie | Zgon z powodu progresji po 7 miesiącach leczenia | Nie żyje |
| 11. | Ly+AML11 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | M3 | M1 | 29 | Nie | nie | Żyje w CR1 6 miesięcy |

AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; Ara-C – arabinozy cytozyny; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, centralny układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; Ida-FLAG – blok chemioterapii stosowany we wznosach AML; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; Ly+AML – ostra białaczka szpikowa z koekspresją antygenów limfoidalnych; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka;

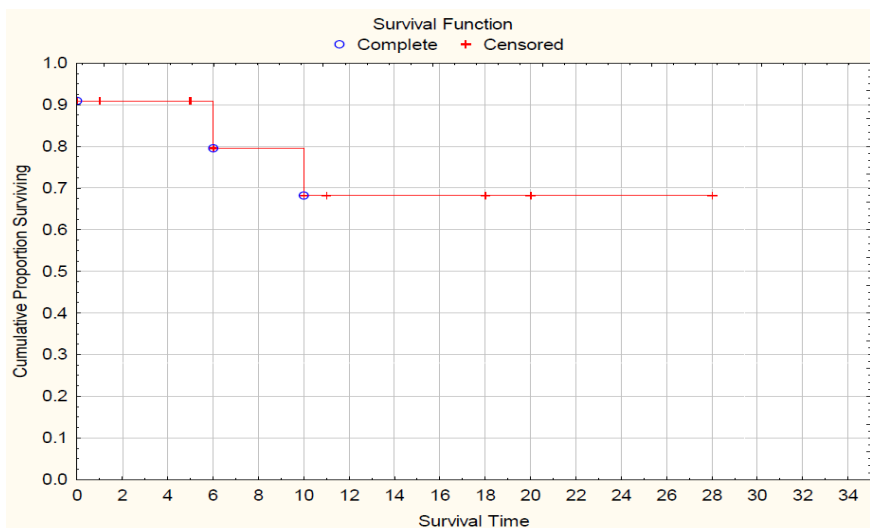
Tabela 42. Charakterystyka pacjentów z Ly+AML poddanych alogenicznej HSCT w CR1 (n=4)

| L.p. | UPN | Płeć, wiek (lata) | FAB, RG, BM15, BM29, genetyka | Rodzaj HSCT, czas od rozpoznania (miesiące) | Zdarzenia niepożądane po HSCT | Stan na dzień 31.12.2009 |
|------|----------|-------------------|---|---|-------------------------------|--------------------------|
| 1. | Ly+AML 1 | M, 1,4 | AML0, HRG, BM15-aplazja, BM29-M1, obecne-t(1;5) z trisomią 1q, t(6;13) oraz trisomia 19 | MSD, 7,5 | Nie | Żyje w CR1 12 miesięcy |
| 2. | Ly+AML 2 | M, 7,2 | AML0, HRG, BM15-M2, BM29-M3, genetyka-norma | MUD, 5 | Nie | Żyje w CR1 13 miesięcy |
| 3. | Ly+AML 4 | M, 16,7 | AML0, HRG, BM15-M1, BM29-M1, genetyka-norma | MSD, 7 | Nie | Żyje w CR1 21 miesięcy |
| 4. | Ly+AML 8 | M, 17,2 | AML2, HRG, BM15-M3, BM29-M1, duplikacja tandemowa <i>FLT3</i> | MUD, 11,5 | Nie | Żyje w CR1 19 miesięcy |

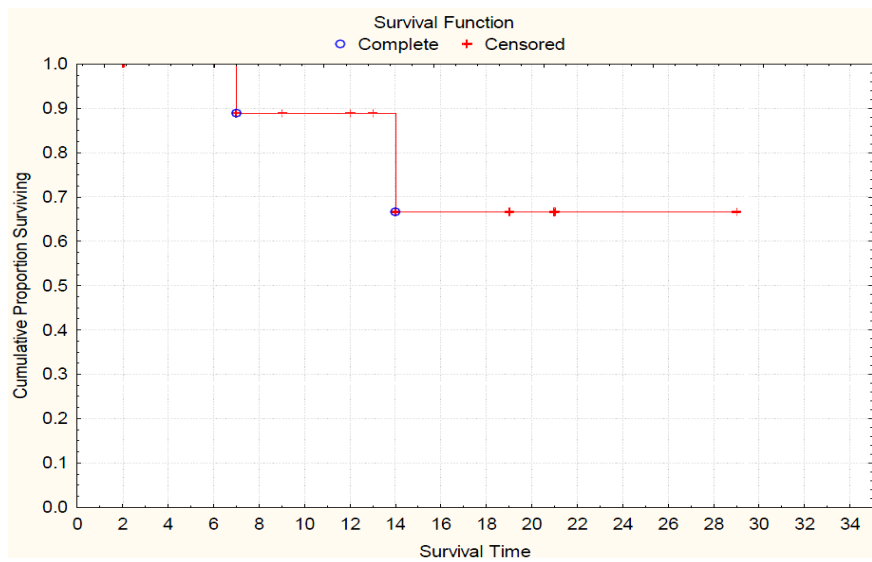
AML – ang. Acute myeloblastic leukemia, ostra białaczka szpikowa, *AML0*- ostra białaczka szpikowa – podtyp: mieloblastyczna minimalnie zróżnicowana, *AML2* – podtyp: mieloblastyczna z cechami dojrzenia; *BM* – ang. bone marrow, szpik kostny; *BM15*- status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię w 15 dniu leczenia, *BM29* – w 29 dniu leczenia, *M1* - <5% blastów, *M2*≥5%, <25% blastów, *M3*≥25% blastów; *CR* – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, *CR1* – pierwsza całkowita remisja; *FLT3* - gen receptora kinazy tyrozynowej 3 fms-zależnej znajdujący się na chromosomie 13q12; *FAB* – klasyfikacja białaczek French-American-British; *HSCT* – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; *K* – płeć żeńska; *Ly+AML* – ostra białaczka szpikowa z koekspresją antygenów limfoidalnych; *M* – płeć męska; *MUD* – ang. matched unrelated donor, zgodny dawca niespokrewniony; *MSD* – ang. matched sibling donor, zgodny dawca rodzinny; *RG* – ang. risk group, grupa ryzyka; *HRG* – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka



Ryc. 20. pEFS u dzieci z Ly+AML ($n=11$)



Ryc 21. pLFS u dzieci z Ly+AML ($n=11$)



Ryc. 22. *pOS* u dzieci z *Ly+AML* ($n=11$)

4.6.3. ANALIZA WYNIKÓW CYTOFLUORYMETRYCZNEJ OCENY IMMUNOFENOTYPU W GRUPIE Ly+AML

W badaniu cytofluorymetrycznym u pacjentów z Ly+AML najczęściej obserwowano koekspresję CD7 (n=8; 72,7%) i CD2 (n=3; 27,3%), a rzadziej CD19 (n=2; 18,1%), CD8 (n=1; 9,1%) oraz iTdT (n=1; 9,1%). Analizując powyższe antygeny w teście chi kwadrat nie stwierdzono zależności pomiędzy obecnością któregośkolwiek z nich a progresją, wznową czy zgonem pacjenta. Niemniej spośród 3 dzieci, u których zanotowano koekspresję antygenów z linii limfocyta B, u 2 wystąpiły zdarzenia niepożądane, tj. wznowa i progresja. W tabeli 43 przeanalizowano częstość wykonywania oznaczeń oraz występowania poszczególnych antygenów z linii limfocyta T i B uwzględnianych w kryteriach EGIL i WHO.

Tabela 43. Ekspresja antygenów z linii limfocyta B i T u dzieci z Ly+AML (n=11)

| Antygeny | Liczba oznaczeń | ≥20% komórek (+) | <20% komórek (-) |
|--------------------------|-----------------|------------------|------------------|
| Linia limfocyta B | | | |
| i79a | 5 (45,5%) | 0 | 5 (45,5%) |
| sigm | 3 (27,3%) | 0 | 3 (27,3%) |
| CD22 | 6 (54,5%) | 0 | 6 (54,5%) |
| CD19 | 11 (100%) | 2 (18,2%) | 9 (81,8%) |
| CD10 | 7 (63,6%) | 0 | 7 (63,6%) |
| CD20 | 6 (54,5%) | 0 | 6 (54,5%) |
| itd. | 4 (36,4%) | 1 (9,1%) | 3 (27,3%) |
| CD24 | 0 | 0 | 0 |
| Linia limfocyta T | | | |
| CD3 | 9 (81,8%) | 0 | 9 (81,8%) |
| TCR | 0 | 0 | 0 |
| CD2 | 6 (54,5%) | 3 (27,3%) | 3 (27,3%) |
| CD5 | 5 (45,5%) | 0 | 5 (45,5%) |
| CD8 | 8 (72,7%) | 1 (9,1%) | 7 (63,6%) |
| CD7 | 11 (100%) | 8 (72,7%) | 3 (27,3%) |
| CD1a | 0 | 0 | 0 |

4.7 NIEMOWLĘTA Z BAL LUB MPAL ORAZ Z OSTRĄ BIAŁACZKĄ Z KOEKSPRESJĄ

Wśród objętych badaniem dzieci znalazło się 6 niemowląt, spośród których tylko jedno spełniało zarówno kryteria diagnostyczne BAL wg EGIL i MPAL wg WHO, jedno wyłącznie kryteria BAL, również jedno wyłącznie kryteria MPAL, a u pozostałych trojga rozpoznano My+BCP-ALL wg EGIL (Tabela 44). U wszystkich trojga dzieci, które spełniały kryteria BAL i/lub MPAL wystąpiły zdarzenie niepożądane, w tym jedna wznowa, jeden zgon z powodu progresji choroby oraz jeden zgon z powodu powikłań leczenia (Tabela 45). Natomiast troje niemowląt z My+BCP-ALL uzyskało remisję o czasie i nie zanotowano u nich niepowodzeń leczenia.

Tabela 44. Charakterystyka niemowląt z BAL, MPAL lub ostrą białaczką z koekspresją (n=6).

| L.p. | UPN | Płeć | Wiek w chwili rozpoznania (lata) | Immunofenotyp (antygeny zawarte w klasyfikacji EGIL i WHO) | Profil markerów | WBC (x10 ⁹ /L) | Kariotyp i aberracje genetyczne | CNS |
|------|------------------|------|----------------------------------|--|-----------------|---------------------------|--|-------------|
| 1. | MPAL19/ BAL24 | K | 2 | CD79a+, i22+, 19+, 13+, 14+, 15+ | B/My, Ly-BAL | 3,8 | 46XX, <i>MLL/AF4</i> | 1 |
| 2. | BAL25 | K | 7 | CD79a+, 19+, 13+, 33+, 65+ | B/My, Ly-BAL | 170 | 46,XX del(11)(q13)[7]/84,XXXX,-1,-2,-3,-5,-9,-11,del(11)(q13),-17,-21[13] nuc ish(<i>MLL</i> x2)(5' <i>MLL</i> sep 3' <i>MLL</i> x1)[124]/(5' <i>MLL</i> x4,3' <i>MLL</i> x3)(5' <i>MLL</i> con 3' <i>MLL</i> x2)(5' <i>MLL</i> sep 3' <i>MLL</i> x1)[95]/(<i>MLL</i> x4)(5' <i>MLL</i> sep 3' <i>MLL</i> x2)[3]/(<i>MLL</i> x2)[4]; <i>MLL/AF4</i> | Brak danych |
| 3. | MPAL12 | K | 2 | CD19+, 20+, iMPO+, 13+, 33+, 117+, 15+ | B/My | Brak danych | 46XX, <i>MLL/AF4</i> | Brak danych |
| 4. | My-BCP-ALL 14 | K | 1,5 | CD13+ | My-BCP-ALL | 10,4 | 46XX | 1 |
| 5. | My-BCP-ALL 15 | K | 8 | CD15+ | My-BCP-ALL | 129 | 46XX | 1 |
| 6. | My-BCP-ALL 16 | K | 1,5 | CD15+ | My-BCP-ALL | 124,7 | 46XX, <i>MLL/AF4</i> | 3 |

ALL – ang. acute lymphoblastic leukemia, ostra białaczka limfoblastyczna; *B* – obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii limfocyta B; *BAL* – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa, *Ly-BAL* – podtyp limfoblastyczny osrej białaczki bifenotypowej; *CNS* – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; *CNS1* – bez zajęcia *CNS*, *CNS3* – zajęcie *CNS*; *EGIL* – ang. European Group for Immunological Classification of Leukemia, Europejska Grupa do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek, *K* – płeć żeńska; *MLL* – ang. mixed lineage leukemia gene, gen białaczki mieszanokomórkowej występujący na chromosomie 11q23; *MPAL* – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; *My* - obecność antygenów powierzchniowych i/lub cytoplazmatycznych specyficznych dla linii mieloidalnej; *My-BCP-ALL* – ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocyta B z koekspresją antygenów mieloidalnych; *WBC* – ang. white blood cells, leukocyty; *WHO* – ang. World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia;

Tabela 45. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia niemowląt z BAL, MPAL lub ostrą białaczką z koekspresją (n=6).

| L.p. | UPN | Rodzaj terapii | Grupa ryzyka | PR | Status BM w dniu 15 | Status BM w dniu 33 | Dzień uzyskania remisji | HSCT w CR1 | Zdarzenia niekorzystne | Stan na 31.12.2009 |
|------|---------------|----------------------|--------------|-------------|---------------------|---------------------|-------------------------|----------------|---|------------------------|
| 1. | MPAL19/BAL24 | INTERFANT-06 | HRG | Nie dotyczy | M1 | M1 | 15 | Nie | Zgon z powodu powikłań leczenia w 35 dobie leczenia | Nie żyje |
| 2. | BAL25 | INTERFANT-06 | HRG | Nie dotyczy | Nie dotyczy | Nie dotyczy | Nie uzyskał | Nie | Zgon bez remisji w 10 dobie leczenia | Nie żyje |
| 3. | MPAL12 | AML-BFM-Interim 2004 | HRG | Nie dotyczy | M1 | M1 | 15 | Nie | Wznowa (CNS) 4,5 miesiąca od rozpoznania | Żyje w CR2 32 miesiące |
| 4. | My-BCP-ALL 14 | ALL-IC-BFM-2002 | IRG | PGR | aplazja | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 31 miesiące |
| 5. | My-BCP-ALL 15 | INTERFANT-06 | HRG | PPR | M2 | M1 | 33 | Nie | Nie | Żyje w CR1 26 miesiące |
| 6. | My-BCP-ALL 16 | INTERFANT-06 | HRG | PPR | aplazja | M1 | 33 | Przygotowywana | Nie | Żyje w CR1 3 miesiące |

ALL-IC-BFM-2002 - protokół leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej u dzieci obowiązujący od 2002 roku nadal; AML-BFM-Interim 2004 - protokół leczenia ostrej białaczki mieloblastycznej u dzieci obowiązujący od 2004 roku nadal; BAL – ang. biphenotypic acute leukemia, ostra białaczka bifenotypowa; BM – ang. bone marrow, szpik kostny; CNS – ang. central nervous system, ośrodkowy układ nerwowy; CR – ang. complete remission, całkowita remisja choroby, CR1 – pierwsza całkowita remisja; HSCT – ang. hematopoietic stem cell transplantation, przeszczepienie komórek hematopoetycznych; INTERFANT-06 - protokół leczenia ostrej białaczki u niemowląt obowiązujący od 2006 roku nadal; M – status szpiku kostnego oceniany w oparciu o jego cytologię: M1 - <5% blastów, M2≥5%, <25% blastów, M3≥25% blastów; My-BCP-ALL – ostra białaczka limfoblastyczna z prekursorów limfocyta B z koekspresją antygenów mieloidalnych; MPAL – ang. mixed phenotype acute leukemia, ostra białaczka o mieszanym fenotypie; PR – ang. prednisone response, odpowiedź na 7-dniową kurację prednizonem u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną; PGR – ang. prednisone good response, steroidoowrażliwość, obecność <1000 blastów w mcl krwi obwodowej w 8 dobie leczenia, PPR – ang. prednisone poor response, steroidooporność, obecność >1000 blastów w mcl krwi obwodowej; RG – ang. risk group, grupa ryzyka; HRG – ang. high risk group, grupa wysokiego ryzyka

4.8. WYNIKI ALLOGENICZNEJ HSCT U DZIECI Z BAL/MPAL, My+BCP-ALL, My+T-ALL I Ly+AML Z GRUPY WYSOKIEGO RYZYKA W CR1

Allogeniczną HSCT przeprowadzono w CR1 ogółem u 15 dzieci (MSD-HSCT, n=6, MUD-HSCT, n=9, w tym u 2 z BAL/MPAL, jednego z BAL, 5 z My+BCP-ALL, 4 z Ly+AML i 3 z My+T-ALL, zakwalifikowanych w oparciu o kryteria rokownicze obecnie obowiązujące u dzieci z ALL i AML do grupy wysokiego ryzyka (Tabela 17, 29, 33, 39 i 42). Potransplantacyjna wznowa białaczki wystąpiła u jednego dziecka (7%) (wznowa szpikowo-mózgowa, 5 miesięcy po HSCT), a dwoje (13%) dzieci zginęło z powodu powikłań HSCT (przewlekła GvHD, 6 miesięcy po HSCT; śródmiąższowe zapalenie płuc w przebiegu ostrej GvHD, 3,5 miesiąca po HSCT). W CCR żyje 12 (75%) dzieci od 5 do 34 miesięcy (mediana 19 miesięcy) po allogenicznej HSCT.

5. DYSKUSJA

Celem podjętych prospektywnych badań była ocena występowania ostrej białaczki bifenotypowej (*biphenotypic acute leukemia*, BAL) rozpoznawanej według kryteriów EGIL¹⁸ oraz ostrej białaczki limfoblastycznej z koekspresją antygenów charakterystycznych dla linii mieloidalnej (My+ALL) i ostrej białaczki szpikowej z koekspresją antygenów typowych dla linii limfoidalnej (Ly+AML) w populacji polskich dzieci i młodzieży, a także próba zidentyfikowania czynników rokowniczych oraz ocena aktualnie uzyskiwanych wyników leczenia w wymienionych postaciach ostrej białaczki.

Pod koniec 2008 r., a zatem w trakcie badań realizowanych w latach 2007-2009, została wprowadzona nowa klasyfikacja WHO chorób nowotworowych układu krwiotwórczego i układu limfatycznego^{14, 35}. W klasyfikacji tej, wśród ostrych białaczek, po raz pierwszy uwzględniono nie tylko immunofenotyp komórek blastycznych, ale również obecność określonych aberracji genetycznych nadając im priorytetowe znaczenie. Wszystkie ostre białaczki o niejednoznacznym immunofenotypie, tj. białaczki charakteryzujące się obecnością więcej niż jednej linii komórkowej lub obecnością antygenów typowych dla więcej niż jednej linii na komórce blastycznej lub brakiem obecności antygenów charakterystycznych dla jakiejkolwiek linii komórek szpiku, zakwalifikowano do jednej grupy nazwanej ostrą białaczką o mieszanym immunofenotypie (MPAL). Z tej grupy wykluczono białaczki, w których pomimo immunofenotypu spełniającego kryteria MPAL, stwierdzono markery genetyczne charakterystyczne dla ostrej białaczki szpikowej.

W związku z wprowadzeniem nowej klasyfikacji WHO, postanowiono w ramach prowadzonych badań dodatkowo ocenić występowanie, rokowanie i wyniki leczenia MPAL w badanej populacji i porównać z BAL.

5.1. OSTRA BIAŁACZKA BIFENOTYPOWA (BAL) I OSTRA BIAŁACZKA O MIESZANYM FENOTYPIE (MPAL)

5.1.1. WYSTĘPOWANIE BAL I MPAL

Badaniem zostało objęte 888 dzieci, u których w okresie od 1.01.2007 do 31.12.2009 w 16 ośrodkach PPGdsLBiC rozpoznano ostrą białaczkę. Wśród nich kryteria BAL wg EGIL spełniało 2,8%, a MPAL wg WHO 2,1% dzieci. W pięciu pracach dotyczących populacji dzieci z BAL opublikowanych przez innych autorów pod koniec 2009 i w 2010 roku - wcześniej nie opublikowano żadnej pracy na temat ostrych białaczek bifenotypowych tylko u dzieci - odsetek ten waha się od 1,9% do 5% (Rubnitz i wsp.⁸ 2009, 1,9%; Gerr i wsp.¹¹ 2010, 2,4%; Park i wsp.²² 2009, 4,4%; Mejstrikova i wsp.¹³ 2010, 4,6%; Al-Seraihy i wsp.²⁰ 2009; 4,8%). Liczebność dotychczas opisanych grup wahała się od 24 do 92 pacjentów obserwowanych w okresach 8, 9, 10, 13 i 22 lata, którzy ze względu na retrospektywny charakter badań często leczeni byli według odmiennych programów terapeutycznych. Liczebność badanej grupy dzieci była porównywalna z liczebnością dotychczas opisanych grup, ponadto badanie miało charakter prospektywny, a pacjenci kwalifikowani byli do badania tylko przez ostatnie 3 lata, dzięki czemu u wszystkich pacjentów diagnostyka,

kwalifikacja do grup rokowniczych oraz terapia prowadzone były według takich samych aktualnie obowiązujących protokołów terapeutycznych.

We wszystkich powyższych pracach pacjenci kwalifikowani byli według kryteriów EGIL. Pomimo, iż wszystkie powyższe prace ukazały się po opublikowaniu nowych kryteriów WHO dotyczących klasyfikacji białaczek, to tylko w jednej z nich (Al-Seraihy i wsp. 2009)²⁰, z pacjentów z BAL spełniających kryteria EGIL, wyselekcjonowano także podgrupę spełniającą również kryteria WHO dla MPAL i porównano te dwie grupy pacjentów. Jednak w cytowanej pracy, do grupy MPAL nie włączono dzieci, które według EGIL spełniały jedynie kryteria ostrych białaczek z koekspresją, pomimo że spełniały kryteria MPAL według WHO (dzieci z koekspresją nie były włączone do analizy). W badaniu własnym retrospektywnie przeanalizowano wszystkie dzieci, które spełniały kryteria MPAL, niezależnie od tego czy według EGIL zostały prospektywnie sklasyfikowane zostały jako BAL (n=25) lub ostra białaczka z koekspresją (n=134). Spośród 25 dzieci z BAL, jedynie 15 (60%) spełniało kryteria MPAL, przy czym 4 (3%) dzieci z koekspresją, również zostało zakwalifikowanych do grupy MPAL.

5.1.2. ANALIZA WYNIKÓW CYTOFLUORYMETRYCZNEJ OCENY IMMUNOFENOTYPU U DZIECI Z BAL I MPAL

5.1.2.1. Znaczenie ekspresji poszczególnych antygenów na komórkach blastycznych

W badaniu przeanalizowano znaczenie diagnostyczne i prognostyczne obecności poszczególnych antygenów na komórkach blastycznych, których obecność uwzględniana jest w diagnostyce BAL wg EGIL 1998 i/lub diagnostyce MPAL wg WHO 2008. Klasyfikacja EGIL w pewnym stopniu uporządkowała znaczenie diagnostyczne determinant przypisując tym „najsilniejszym” 2 punkty, mniej znaczącym – 1 punkt i najmniej ważnym – 0,5 punktu. Było to oparte na badaniach przeprowadzonych do 1998 roku. Od ogłoszenia klasyfikacji EGIL, nadal prowadzono intensywne badania nad znaczeniem poszczególnych antygenów. W opublikowanych nowych kryteriach WHO, znacznie ograniczono ilość determinant branych pod uwagę przy klasyfikacji białaczki MPAL.

Znaczenie prognostyczne obecności poszczególnych antygenów na komórkach blastycznych ocenili Mejstrikova i wsp.¹³ Badając korelację pomiędzy występowaniem poszczególnych antygenów z przebiegiem klinicznym białaczki zauważyła, że w podgrupie B-myeloid ze złą prognozą koreluje obecność antygenów CD33, CD65, MPO i CD13, natomiast CD14, CD15, CD117 i CD64 nie mają wpływu na wyniki leczenia. W podgrupie T-myeloid obecność żadnego antygenu mieloidalnego nie korelowała z gorszą lub lepszą prognozą. Gerr i wsp.¹¹ (2010) w kontekście nowej klasyfikacji WHO stwierdzili, iż obecność innych niż MPO markerów mieloidalnych (CD13, CD33, CD117 i CD15) ma wpływ na rokowanie (5-letnie pEFS 69±6%

w MPO(+)BAL wobec $45\pm 10\%$ w MPO(-)BAL). W obecnie przeprowadzonym badaniu w grupie dzieci z BAL nie stwierdzono żadnej korelacji pomiędzy występowaniem poszczególnych antygenów a odpowiedzią na zastosowane leczenie i rokowaniem.

5.1.2.2. Analiza częstości oznaczeń poszczególnych antygenów na komórkach blastycznych

Przeanalizowano panel przeciwciał użytych u poszczególnych dzieci pod kątem oznaczeń tych antygenów, których ocena zalecana jest przez EGIL i WHO, ustalając odsetek wykonanych oznaczeń spośród wszystkich zalecanych. W badaniu retrospektywnym przeprowadzonym w ośrodkach PPGdsLBiCh w 2005 roku (Konatkowska i wsp.²⁸) odsetek ten był bardzo niski, tj. wynosił 53,4%, w grupie BAL a w grupie pacjentów sklasyfikowanych ostatecznie jako ostra białaczka z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej jedynie 43,2%. W obecnie przeprowadzonym badaniu prospektywnym w grupie BAL średni odsetek wykonanych oznaczeń antygenów w stosunku do zalecanych przez EGIL wyniósł 67,5%, w tym dla linii mieloidalnej 70,5%, linii limfocyta B 76%, a dla linii limfocyta T 56%. Najrzadziej oznaczano antygeny CD65, CD64, CD24 i TCR. U dzieci z MPAL odsetek oznaczonych antygenów w stosunku do zalecanych przez WHO był jeszcze wyższy i wyniósł 68,5%, przy czym u żadnego dziecka nie oznaczono obecności antygeny CD11c, który nie był zalecany według EGIL, stąd w ramach prowadzonego w latach 2007-2009 badania prospektywnego nie brano tego antygeny pod uwagę. Wyłączając CD11c, odsetek oznaczalności wyniósł 77%. A zatem w porównaniu z odsetkiem spostrzeganym przed rozpoczęciem niniejszego badania, znacznie rozszerzył się panel

przeciwciał używanych w diagnostyce ostrych białaczek w pracowniach cytofluorymetrycznych w ośrodkach PPGdsLBiCh. W poprzednio cytowanych pracach innych autorów dotyczących dzieci z BAL lub MPAL odsetek oznaczeń zalecanych antygenów wynosił >85%.

5.1.3. ZABURZENIA GENETYCZNE U DZIECI Z BAL I MPAL

5.1.3.1. Zaburzenia genetyczne o znaczeniu diagnostycznym

Obecnie szczególną uwagę poświęca się zmianom genetycznym obserwowanym w chorobach nowotworowych, zwłaszcza w chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego. W obowiązujących obecnie protokołach leczniczych, badania genetyczne stanowią jeden z podstawowych składników obowiązującego panelu badań diagnostycznych, na podstawie których nie tylko ustalane jest rozpoznanie, ale także następuje kwalifikacja do poszczególnych grup ryzyka wznowy białaczki i związany z tym dobór intensywności terapii wraz z kwalifikacją do HSCT. W klasyfikacji EGIL, w rozpoznaniu ostrej białaczki bifenotypowej brano pod uwagę jedynie badanie cytofluorymetryczne szpiku kostnego. W klasyfikacji WHO, obecność genów fuzyjnych *RUNX1-RUNX1T1* i *PML/RARA*, wyklucza nam rozpoznanie MPAL. Ponadto podział na podgrupy MPAL oparty jest na obecności zmian genetycznych: genu fuzyjnego *BCR/ABL1* lub rearanżacji *MLL*.

Poszukuje się zmian genetycznych, których obecność wiązałaby się z rozpoznaniem BAL lub MPAL. Owaidah i wsp.²¹ (2006) opisali nieprawidłowości cytogenetyczne i molekularne u 83% pacjentów z BAL (dorośli + dzieci). Oprócz *BCR/ABL1* i *MLL* były to delecja 6q u 13% i 12p11.2 u 9%, zmiany ilościowe u 13% pacjentów oraz 3 nowe,

wcześniej nie raportowane translokacje t(X;6)(p22.3;q21); t(2;6)(q37;p21.3) i t(8;14)(p21;q32). Hayashi i wsp.³⁹ oraz Al-Seraihy i wsp.²⁰ w badaniach retrospektywnych pacjentów z BAL, najwięcej zmian stwierdzili w chromosomie 14q32. Gerr i wsp.¹¹ analizowali retrospektywnie grupę 92 dzieci z BAL, u których stwierdzili częste występowanie genu fuzyjnego *ETV6/RUNX1* (16%) i trisomii 8 (14.6%). Rubnitz i wsp.⁸ u 88% pacjentów z BAL stwierdzili niepowtarzalne zmiany w kariotypie. W 9 przypadkach były to zmiany w chromosomach 5 lub 7, u 6 pacjentów stwierdzono zmiany w 12p, a 4 chorych posiadało dodatkowo 1q. Batanian i wsp.²⁹ oraz Wu i wsp.³⁰ opisali translokację (6;14) jako charakterystyczną dla MPAL. Nie zostało to jednak potwierdzone w kolejnych badaniach. Strehl i wsp.⁴⁰ zidentyfikowali nowy gen fuzyjny *ETV6-NCOA2* powstały w wyniku translokacji t(8;12)(q13;p13) i wykazali jego związek z koekspresją antygenów limfocyta T i mieloidalnych.

5.1.3.2. Zaburzenia genetyczne o znaczeniu rokowniczym

Wiadomo, że obecność niektórych zmian, np. hiperploidia, obecność genu fuzyjnego *ETV6-RUNX1* (dawniej *TEL/AML1*), korelują z lepszym rokowaniem co do szans na uzyskanie pełnej trwałej remisji białaczki, natomiast obecność innych, takich jak genu fuzyjnego *BCR/ABL1*, czy rearanżacje genu *MLL*, zdecydowanie pogarszają rokowanie. We wszystkich badaniach dotyczących BAL stwierdzono większy odsetek występowania niekorzystnych zmian genetycznych *BCR/ABL1* 20-30% oraz *MLL* 10-20%. W BAL obserwuje się wiele aberracji genetycznych (u ponad 80% chorych), których znaczenie nie zostało dotąd ustalone, ze względu na wciąż zbyt małe grupy pacjentów poddanych analizie.

Gerr i wsp.¹¹ (2010) stwierdzili, że pacjenci z genem fuzyjnym *ETV6/RUNX1* lub trisomią 8 rokowali lepiej niż pozostali. Mejstrikova i wsp.¹³ (2010) przeanalizowali częstość występowania genów fuzyjnych *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB/MYH11*, *PML/RARA*, mutacji D835 oraz duplikacji tandemowej genu *FLT3* i nie wykazała związku żadnej z tych zmian genetycznych z rokowaniem w MPAL (jednak obecnie zgodnie z aktualną klasyfikacją WHO ostre białaczki z *RUNX1-RUNX1T1* i *PML/RARA* są wykluczone z grupy MPAL).

Analizując polską grupę BAL i MPAL również stwierdzono wysoki odsetek dzieci z *BCR/ABL1* (16%), natomiast rearanżację *MLL* w grupie BAL wykryto jedynie u 8% dzieci, podczas gdy w grupie MPAL aż u 16%. Tak jak w badaniach przeprowadzonych przez innych autorów, stwierdzono złe rokowanie u tych pacjentów, tj. w CR1 żyje jedynie 2 (50%) spośród 4 pacjentów z BAL wykazujących gen fuzyjny *BCR/ABL1*, u których leczenie początkowo prowadzono jak w ALL, a następnie jak u dzieci z AML z allogeniczną transplantacją komórek hematopoetycznych. U wszystkich pacjentów z rearanżacją genu *MLL* wystąpiły zdarzenia niepożądane. W grupie BAL spośród 3 (12%) pacjentów z *ETV6/RUNX1*, u jednej pacjentki nastąpiła wznowa choroby. Pacjent z mutacją punktową D835 w genie *FLT3* osiągnął remisję o czasie i żyje w CR1. Pacjenci z genami fuzyjnymi charakterystycznymi dla AML (*PML/RARA* i *RUNX1-RUNX1T1*) również osiągnęli remisję o czasie i żyją w CR1. Zmiany w kariotypie stwierdzono tylko u 6 (24%) pacjentów, w tym u 5 hiperploidię i u jednego hipoploidię. Każda zmiana miała inny charakter, stąd obecnie nie była możliwa ocena, która z nich ma znaczenie diagnostyczne i/lub rokownicze u dzieci z BAL. Wszyscy pacjenci z BAL i ze zmianami w kariotypie, za wyjątkiem jednego niemowlęcia, u którego współistniała hiperploidia z rearanżacją genu *MLL*, a które zmarło z powodu progresji choroby podczas indukcji remisji, osiągnęli remisję o czasie i żyją w CR1.

W grupie MPAL, oprócz wyżej omówionych zmian genetycznych, u jednego pacjenta ze wznową choroby stwierdzono gen fuzyjny *ETV6/RUNX1*, hiperploidię spostrzegano u 3 pacjentów i hipoploidię u jednego dziecka. Wszystkie dzieci z MPAL i zmianami w kariotypie osiągnęły remisję o czasie i żyją w CR1.

5.1.4. POZAGENETYCZNE CZYNIKI ROKOWNICZE U DZIECI Z BAL I MPAL

W pracach obejmujących dzieci z BAL lub MPAL analizowane są również inne czynniki, które mogą mieć znaczenie rokownicze. Matutes i wsp.²⁴ (1997) wykazali, iż podtyp My-BAL i wiek dzieci poniżej 1 r.ż. są czynnikami pogarszającymi prognozę. Gerr i wsp.¹¹ (2010) stwierdził, że u dzieci z MPAL częściej niż u dzieci z innymi typami ostrej białaczki występuje hiperleukocytoza, wyższy średni poziom leukocytów, zajęcie ośrodkowego układu nerwowego oraz wyższy jest średni wiek pacjentów. Xiao-Qian Xu i wsp.⁴¹ (2009) zauważyli, że u pacjentów z BAL częściej występują nacieki pozaszpikowe zwłaszcza w OUN.

W badaniu własnym u dzieci z BAL i MPAL stwierdzono, iż średni wiek pacjentów w obu grupach wynosił odpowiednio 8,6 i 9,0 lat, a stosunek kobiet do mężczyzn 1:2. A zatem średni wiek w badanej grupie, niewiele odbiegał od spostrzeganego w innych ostrych białaczkach u dzieci, jednak niepowodzenia leczenia zanotowano przede wszystkim w 2 grupach wiekowych, tj. poniżej pierwszego oraz powyżej 14 roku życia. BAL lub MPAL zdiagnozowano u 3 niemowląt, z których 2 zmarło z powodu progresji choroby, a u trzeciego wystąpiła bardzo wczesna wznowa mózgowa. Do zgonu z powodu progresji doszło również u dwóch pacjentów w wieku 14 i 17 lat, a wznowę zdiagnozowano u kolejnych dwóch pacjentów, u których

białaczkę rozpoznano w wieku 7 i 15 lat. Średni wiek dzieci, u których wystąpiła progresja lub wznowa choroby (bez niemowląt) wyniósł 13,25 lat (mediana 14,5 lat). Średnia liczba leukocytów we krwi obwodowej w chwili rozpoznania w grupie BAL i MPAL wyniosła odpowiednio 35 i 40x10⁹/l. W obu grupach u 16% dzieci stwierdzono wstępną hiperleukocytozę. Natomiast u dzieci, które zmarły z powodu progresji choroby lub zdiagnozowano wznowę białaczki, średni poziom wstępnej leukocytozy wyniósł 130x10⁹/l w BAL i 224x10⁹/l w MPAL. Wyniki te potwierdzają, że liczba leukocytów spostrzegana przy rozpoznaniu również powinna być brana pod uwagę jako czynnik złego rokowania u dzieci z BAL i MPAL. Nacieki w obrębie OUN zarówno w grupie BAL, jak i MPAL zanotowano u dwóch chorych (odpowiednio 8 i 10,5%) pacjentów.

5.1.5. LECZENIE BAL I MPAL

5.1.5.1. Zastosowane protokoły terapeutyczne

Największym problemem w grupie pacjentów z BAL lub MPAL wydaje się odpowiedni dobór skutecznej terapii. Nie opracowano dotąd specyficznych programów leczenia dla dzieci z tym rozpoznaniem. Także we wszystkich ostatnio opublikowanych pracach, tj. w latach 2009 i 2010, dotyczących wyłącznie dzieci stosowano różne kryteria doboru terapii^{8, 11, 13, 20, 22}.

Wszyscy pacjenci analizowani przez Al-Seraihy i wsp.²⁰(2009) rozpoczynali terapię według zmodyfikowanego protokołu St. Jude XIII-B HR (tabela 45). W indukcji remisji podawane było 6 leków aktywnych wobec zarówno limfo- jak i mieloblastom. Konsolidacja składała się z 2 wysokich dawek metotreksatu. Następnie pacjenci

otrzymywali cotygodniową kontynuację terapii (120 tygodni) – 3 pary leków naprzemiennie. Dzieci bez zajęcia OUN otrzymywały 3 leki dokanałowo co 8 tygodni przez 54 tygodnie terapii, a dzieci z zajęciem (CNS2 i CNS3) co 4 tygodnie przez 54 tygodnie oraz dodatkowo radioterapię mózgu do dawki 2400cGy i rdzenia kręgowego do dawki 1200cGy. Pacjenci z wstępną hiperleukocytozą $>100 \times 10^9/l$ i obecnością genu fuzyjnego *BCR/ABL1* kwalifikowani byli do grupy podwyższonego ryzyka wznowy mózgowej i otrzymywali leczenie dokanałowe jak w zajęciu OUN oraz profilaktyczne napromienianie mózgu do dawki 1800cGy. U wszystkich pacjentów, dla których dobrano dawcę komórek krwiotwórczych zgodnego w HLA, przeprowadzono allo-HSCT.

Tabela 45. Protokół St.Jude XIII-B HR

| |
|--|
| INDUKCJA |
| Prednison 40mg/m ² /dzień przez 28 dni |
| Daunorubicyna 25mg/m ² co tydzień, 2 dawki |
| Winkrystyna 1,5mg/m ² co tydzień, 4 dawki |
| L-Asparaginaza 10000IU/m ² 3x/tydzień, 6 dawek, pacjenci ze szpikiem M2 lub M3 w 15 dobie otrzymywali dodatkowo 3 dawki |
| Etopozyd 300mg/m ² 3 dawki w dobach 22, 25 i 29 |
| Cytarabina 300mg/m ² 3 dawki w dobach 22, 25 i 29 |
| NL z 3 lekami co tydzień: 2 x w CNS1, 4x w CNS2/3 |
| KONSOLIDACJA |
| Metotreksat 2000mg/m ² iv przez 24 co tydzień, 2 dawki |
| Merkaptopuryna 75mg/m ² po codziennie przez 14 dni |
| NL z 3 lekami co tydzień: 2 x |
| PODTRZYMYWANIE – 120 tygodni, pary leków podawane co tydzień rotacyjnie, przerwany opóźnioną terapią intensyfikującą od 16 do 22 tygodnia. L-ASPA 10000IU/m ² podawana do 36 tyg., następnie tylko VCR i dexamethason. Ostatnia wysoka dawka MTX w 53 tyg., a następnie MTX w dawce 40mg/m ² . NL z 3 lekami w każdym 6 tyg. terapii do 54 tyg. u wszystkich pacjentów, dodatkowo w każdym 3 tyg. u pacjentów z CNS2/3 i wysokim ryzykiem wznowy mózgowej. |
| 1. Etopozyd 300mg/m ² iv + Cyklofosfamid 300mg/m ² iv |
| 2. Metotreksat 40mg/m ² iv + Merkaptopuryna 75mg/m ² p.o. codziennie przez 7 dni |
| 3. Metotreksat 40mg/m ² iv + Cytarabina 300mg/m ² iv |
| 4. Winkrystyna 1,5mg/m ² + Dexametazon 8mg/m ² /dzień p.o. przez 7 dni |
| 5. Etopozyd 300mg/m ² + Cyklofosfamid 300mg/m ² iv |
| 6. Metotreksat 2000g/m ² iv + Merkaptopuryna 75mg/m ² po codziennie przez 7 dni |
| 7. Etopozyd 300mg/m ² + Cytarabina 300mg/m ² iv |
| 8. Winkrystyna 1,5mg/m ² + Dexametazon 8mg/m ² /dzień p.o. przez 7 dni |
| OPOŹNIONA INTENSYFIKACJA (16-22 tydzień) |
| Prednison 40mg/m ² /dzień przez 28 dni |
| Daunorubicyna 25mg/m ² co tydzień, 2 dawki |
| Winkrystyna 1,5mg/m ² co tydzień, 4 dawki |
| L-Asparaginaza 10000IU/m ² 3x/tydzień, 6 dawek |
| Etopozyd 300mg/m ² 1 dawka w dobie 22 |
| Cytarabina 300mg/m ² 1 dawka w dobie 22 |
| Metotreksat 2000mg/m ² iv przez 24 co tydzień, 2 dawki w dniach 36 i 43 |
| Merkaptopuryna 75mg/m ² po codziennie przez 14 dni od dnia 36 |
| NL z 3 lekami 1 x w dniu 43 |

W pracy Mejkstrikovej i wsp.¹³ (2010) leczenie jak dla BCP-ALL, tj. ALL-BFM 1995 lub ALL-IC- BFM-2002, otrzymywali pacjenci z ekspresją co najmniej 2 antygenów spośród CD19 i/lub cCD22 i/lub cCD79a, a jak dla T-ALL chorzy z ekspresją CD7 i CD3 i przy braku ekspresji MPO lub z ekspresją MPO w mniej niż w

30% blastów białaczkowych. Dzieci <1 r.ż. leczone były zawsze według protokołów stosowanych w leczeniu białaczki niemowlęcej (POG 9407, INTERFANT-99 lub INTERFANT-06). Terapię jak dla AML (AML BFM 93, AML BFM 98 lub AML BFM 2004) otrzymywali pacjenci z ekspresją co najmniej 2 antygenów spośród CD13, CD33, CD65, CD117 oraz obecnością MPO, jeśli nie spełniały kryteriów do zastosowania leczenia jak dla BCP-ALL.

W pracy Rubnitza i wsp.⁸ (2009) stwierdzono jedynie, że pacjenci leczeni byli według kolejnych protokołów jak dla ALL i AML obowiązujących w latach 1985-2006. Nie określono zasad doboru protokołu, tj. dobór odbywał się indywidualnie.

Pacjenci w publikacji Parka i wsp.²² (2009) również otrzymywali leczenie według różnorodnych, obowiązujących w danym okresie protokołów jak dla ALL i AML, a dobór terapii opierał się głównie na podstawie morfologii blastów. Gerr i wsp.¹¹ (2010) również nie podali kryteriów doboru pacjentów leczonych jak AML protokołem AML-BFM 98 lub ALL protokołem ALL-BFM 95.

W obecnym badaniu prospektywnym zasady doboru terapii były ściśle określone. Rozpoczynając badanie, zakładano podział pacjentów z BAL na dwie podgrupy: My-BAL i Ly-BAL. Pacjenci z My-BAL leczeni byli według protokołu AML-BFM-Interim-2004, natomiast dzieci z Ly-BAL zgodnie z protokołem ALL-IC-BFM-2002. W trakcie badania okazało się, że wielu pacjentów spełnia kryteria kwalifikacyjne zarówno do pierwszej, jak i do drugiej podgrupy. W związku z tym wyodrębniono trzecią podgrupę, tj. My/Ly-BAL, w której dobór terapii nie był już tak oczywisty. Ostatecznie ustalono, że w tej podgrupie decydująca jest cytomorfologia blastów oceniana według kryteriów FAB (wyniki badań genetycznych nie są dostępne na przed rozpoczęciem leczenia). Pacjenci z My/Ly-BAL z obecnością blastów M₀-M₇ w rozmazie szpiku kostnego otrzymywali leki według programu AML-BFM-Interim-

2004, natomiast chorzy z blastami typu L₁ lub L₂ według programu ALL-IC-BFM-2002. W przypadku dzieci z białaczką dwuliniową dobór terapii zależał od tego, jaki charakter miał dominujący klon blastów białaczkowych.

5.1.5.2. Wyniki leczenia

W grupie analizowanej przez Al-Seraihy i wsp.²⁰, w której znalazło się 24 pacjentów do 14 roku życia z rozpoznaniem ostrej białaczki bifenotypowej, 22 otrzymało leczenie według protokołu St. Jude XIII-B HR, dwoje według obowiązującego programu dla AML (nie została podana przyczyna takiej decyzji). Remisję w 15 dobie terapii uzyskało 56,5% pacjentów. U pozostałych pacjentów, w tym 2 leczonych początkowo jak AML (w 15 dobie zmieniono protokół na St. Jude XIII-B HR), stwierdzono szpik M2 lub M3. Po 6 tygodniach terapii indukcyjnej remisję uzyskało 95,8% pacjentów. Jeden pacjent, który remisji nie osiągnął, otrzymał następnie intensywną chemioterapię jak dla wznów AML nie uzyskując remisji. 11 pacjentów zostało zakwalifikowanych do HSCT. Nie zanotowano żadnego zgonu z powodu powikłań leczenia. Przeżycie wolne od niekorzystnych zdarzeń (EFS) w całej grupie wyniosło 73,5%, a całkowite przeżycie (OS) 75,7%. Krzywe przeżycia nie różniły się istotnie u pacjentów leczonych z i bez allo-HSCT (EFS odpowiednio 70,1% i 76,2%, p=0,75; OS odpowiednio 70,1% i 81,1% p=0,39). Pacjenci, u których szpik w 15 dobie zawierał ponad 5% blastów, rokowali znacznie gorzej, tj. EFS wyniosło u nich tylko 48%, podczas gdy pacjentów ze szpikiem M1 w 15 dobie leczenia aż 90,9% (p=0.015). Spośród 24 pacjentów z BAL, wyodrębniono grupę 11 dzieci spełniających kryteria WHO dla MPAL. W grupie pacjentów z MPAL (n=11), nie zanotowano żadnego zdarzenia niepożądanego. W tej grupie HSCT wykonano u 6 pacjentów (4 ze

szpikiem M2/M3 w dniu 15, wśród nich jeden z obecnością *BCR/ABL1* oraz jeden z rearanzacją *MLL*), a pozostałych 5 osiągnęło remisję już w 15 dobie. Po podzieleniu grupy BAL na MPAL i ALL z koekspresją markerów mieloidalnych, OS dla MPAL wyniósł 100% i 54% dla My+ALL ($p=0,02$). Różnica ta jest jeszcze wyraźniejsza jeśli porównuje się pacjentów z MPAL i z My+ALL, u których przeprowadzono HSCT (OS 100% dla MPAL i 40% dla My+ALL, $p=0,045$) z pacjentami leczonymi tylko chemioterapią (OS 100% dla MPAL i 66,7% dla My+ALL), $p=0,18$).

W grupie MPAL tylko u jednego dziecka stwierdzono obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* i także u jednego rearanzację genu *MLL*. U obojga przeprowadzono HSCT i żyją w CR1. Pośród dzieci z BAL, niespełniających kryteria WHO dla MPAL, 3 dzieci zmarło z powodu wznowy lub progresji choroby, a dwoje z powodu powikłań po HSCT. Wszyscy ci pacjenci nie uzyskali remisji w 15 dobie leczenia.

W badaniu Mejstrikovej i wsp.¹³, spośród 32 pacjentów z BAL w grupie leczonej jak ALL 5-letni EFS wyniósł tylko 53% w porównaniu z 76% u dzieci z ALL leczonych w tym samym okresie ($p=0,0075$). Różnica ta jest jeszcze bardziej widoczna w odniesieniu do B/My-BAL i BCP-ALL, w których 5-letnie EFS wyniosło odpowiednio 45% i 77% ($p=0,0083$). W grupie T/My-BAL ($n=5$) tylko jedno dziecko zmarło z powodu wznowy choroby. W grupie ostrych białaczek z rearanzacją genu *MLL* lub obecnością genu fuzyjnego *ETV6-RUNX1*, u chorych z BAL wyniki leczenia były znacznie gorsze niż u pacjentów z ALL, natomiast w grupie z *BCR/ABL1*, bez względu na immunofenotyp wyniki były niekorzystne. 13,6% pacjentów spośród 32 pacjentów z BAL, w 15 dobie leczenia nie uzyskało remisji, PPR było podobne jak w grupie ALL. Leczenie jak dla AML otrzymało 4 pacjentów. Tylko 1 z nich żyje w CR1, a aż troje zmarło z powodu wznowy choroby. Allo-HSCT przeprowadzono jedynie u 2 pacjentów z *BCR/ABL1* leczonych jak ALL. Jeden żyje w CR1, drugi zmarł z powodu

wznowy choroby. We wnioskach autorzy rekomendują, aby leczenie w BAL rozpoczynać od indukcji remisji jak dla ALL, ewentualnie, przy braku reakcji zmienić na terapię jak dla AML lub zastosować terapię hybrydową taką jak np. protokół INTERFANT dla niemowląt. W przypadku obecności genu fuzyjnego *BCR/ABL1* (konieczne jest szybkie badanie w tym kierunku) powinno się rozważyć włączenie imatinibu. Mejstrikova i wsp.¹³ uważa, że allo-HSCT powinna być przeprowadzana u pacjentów, u których po indukcji remisji poziom choroby resztkowej wynosi >1% oraz u chorych z obecnością genu fuzyjnego *BCR/ABL1*.

W badaniu Rubnitz i wsp.⁸ z St. Jude Children's Research Hospital w Memphis (2009), które objęło 35 pacjentów z BAL rozpoznaną w okresie 22 lat, 23 dzieci otrzymało początkowo leczenie jak dla AML, a 12 jak dla ALL. W grupie leczonej jak AML, tylko 52% pacjentów osiągnęło remisję o czasie, u 2 stwierdzono częściową remisję, 8 zakwalifikowano jako „non-responders”, a jedno dziecko zmarło z powodu toksyczności terapii. W grupie leczonych jak ALL remisję całkowitą stwierdzono u 83% dzieci. Spośród 10 dzieci, które nie uzyskały remisji po indukcji prowadzonej jak w AML, 8 osiągnęło ją po zmianie na standardową indukcję remisji jak dla ALL. W terapii podtrzymującej ci ostatni pacjenci otrzymali leczenie hybrydowe i 7 z nich żyło w CR1, a jedno zmarło z powodu powikłań po HSCT. Pacjenci, którzy nie osiągnęli CR po leczeniu jak dla ALL, otrzymali następnie leczenie indukujące jak dla AML, po którym u jednego osiągnęto częściową remisję, a u drugiego całkowitą, niestety obydwój zginęli, w tym jeden z powodu toksyczności, a drugi z powodu wznowy. Obecnie w St. Jude Children's Research Hospital wszyscy pacjenci z BAL otrzymują jako pierwszą linię leczenia terapię jak dla AML, w razie braku korzystnej odpowiedzi następuje zmiana na leczenie jak dla ALL (indukcja + konsolidacja), a następnie przez 120 tygodni chorzy otrzymują hybrydową terapię podtrzymującą naprzemiennie lekami

jak dla ALL i AML. Postulowaną alternatywą terapią wydaje się leczenie indukcyjne hybrydowe, ale jak dotąd nie podjęto takiego leczenia. Ponadto autorzy w St. Jude Children's Research Hospital rekomendują przeprowadzenie allo-HSCT u dzieci, u których w badaniu cytofluorymetrycznym szpiku kostnym po zakończeniu indukcji remisji spostrzega się >1% blastów. Optymalna strategia leczenia w przypadku poziomu choroby resztkowej w przedziale 0,01%-1% nie jest pewna, natomiast u pacjentów, u których po indukcji remisji poziom choroby resztkowej wynosi <0,01%, chemioterapia wydaje się być wystarczająca do wyleczenia pacjenta.

W publikacji Gerra i wsp.¹¹ (2010) dotyczącej 92 pacjentów z BAL, u których rozpoznanie postawiono na przestrzeni 9 lat, 46 dzieci leczonych było jak ALL, 19 jak AML, a 27 otrzymało leczenie hybrydowe. U 33 (35,9%) pacjentów przeprowadzono allo-HSCT. W całej grupie 92 pacjentów z BAL, remisję o czasie uzyskało 91,8% pacjentów, a zatem w odsetku porównywalnym ze spostrzeganym u dzieci z ostrą białaczką szpikową (87,9%, $p=0,36$) i znamienne niższym niż u dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną (99,1%, $p=0,001$). 5-letnie OS i EFS wyniosło dla całej grupy 62%. EFS dla BAL było znacząco wyższe niż dla grupy dzieci z ostrą białaczką szpikową (49+/-2%, $p=0,027$), OS podobne (AML: 63+/-2%, $p=0,86$). Zarówno EFS i OS były wyższe dla grupy dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną (5-letnie EFS 80+/-1%, OS 88+/-1%, $p<0,001$).

Porównując wyniki leczenia w grupie dzieci z BAL (n=92), 5-letnie EFS w podgrupie pacjentów leczonych jak AML (n=19) wyniosło 41% i było znacząco niższe niż w podgrupie leczonej jak ALL (n=46), w której wyniosło 81% ($p=0,0009$).

Pięcioro pacjentów, którzy nie osiągnęli remisji po indukcji remisji dla ALL, osiągnęli ją po zmianie protokołu na stosowany w AML. Podobnie 4 dzieci, które nie odpowiedziały na indukcję remisji stosowaną w AML, osiągnęło CR po indukcji dla

ALL. Wśród 92 pacjentów analizowanych przez Gerra i wsp.¹¹ (2010), sześcioro (6,5%) spełniało kryteria białaczki dwuliniowej. W tej grupie wyniki leczenia były znacznie gorsze, tj. żyło tylko 2 pacjentów, u których przeprowadzono allo-HSCT, a 5-letnie EFS wyniosło zaledwie 33%. Do badania włączonych zostało również 8 pacjentów, u których podczas leczenia indukującego remisję stwierdzono tzw. „lineage switch”. Wyniki leczenia w tej podgrupie również były znacznie gorsze niż w BAL, tj. 5-letnie EFS wyniosło 38%. Allo-HSCT w CR1 wykonano u 2 pacjentów z obecnością *BCR/ABL1*, którzy żyją w CCR, natomiast pozostałych dwóch pacjentów z *BCR/ABL1* zginęło. W podsumowaniu Gerr i wsp.¹¹ (2010) zaleca, aby leczenie pacjentów BAL/MPAL rozpoczynać od terapii jak dla ALL, a w razie niekorzystnej odpowiedzi na zastosowane leczenie zamienić je na stosowane w AML. Natomiast w białaczce dwuliniowej po leczeniu indukującym i konsolidującym remisję należy przeprowadzić allo-HSCT. Pacjenci z *BCR/ABL1* powinni otrzymywać również imatinib i podobnie jak chorzy z rearanżacją genu *MLL* poddani allo-HSCT.

Park i wsp.²² (2010) przedstawili w swojej pracy 25 dzieci z BAL rozpoznanych w okresie 13 lat. 23 pacjentów otrzymało leczenia jak dla ALL, dwoje jak AML. Dwoje dzieci leczonych jak AML, nie osiągnęło remisji o czasie, obydwój (jeden tylko po chemioterapii, drugi po allo-HSCT) zginęli z powodu wznowy choroby. W grupie dzieci leczonych jak ALL, jedynie 13 (52%) osiągnęło remisję o czasie. U 4 dzieci remisję osiągnięto po zmianie protokołu na stosowany u chorych z AML, a u 6 po zmianie na inny protokół dla dzieci z ALL. Ostatecznie 23 (92%) pacjentów osiągnęło CR1. U 13 (56%) z 23 dzieci leczonych jak ALL wystąpiła wznowa choroby, 3 (13%) dzieci zginęło z powodu powikłań terapii. U 9 (39%) pacjentów przeprowadzono allo-HSCT, w tym u 7 w CR1, a u 2 bez remisji. OS i EFS w grupie leczonych z i bez zastosowania allo-HSCT były porównywalne (autorzy nie podali wartości). Allo-HSCT

łącznie z podawaniem imatinibu poprawiło rokowanie u pacjentów z genem fuzyjnym *BCR/ABL1*.

W badaniu własnym w grupie 25 dzieci z BAL, 7 (28%) dzieci leczono jak AML, z tego 4 (57%) żyje w CR1, 2 (28,6%) zginęło z powodu progresji, a jedno (14,3%) z powodu powikłań po terapii. W pogrupie 14 (56%) dzieci leczonych jak ALL, 11 (78,6%) żyje w CR1, u jednego (7,1%) dziecka stwierdzono wznowę choroby, a 2 (14,3%) zginęło z powodu powikłań terapii. U dwóch pacjentów początkowo podjęto leczenie jak dla ALL, a następnie wobec jego niezadawalających rezultatów zastąpiono je terapią stosowaną w AML uzyskując trwałą remisję białaczki. Dwoje niemowląt leczonych programem INTERFANT-06 zmarło, w tym jeden z powodu progresji choroby, a drugi z powodu powikłań leczenia. Allo-HSCT przeprowadzono u 3 dzieci, w tym u 2 chorych z *BCR/ABL1* leczonych początkowo jak ALL, następnie jak AML, którzy żyją w CR1 oraz u jednego dziecka leczonego jak ALL z PPR i szpikiem M3 w 15 dobie, który zginął z powodu powikłań HSCT.

Spośród 19 dzieci z MPAL, w podgrupie 3 pacjentów z *BCR/ABL1* dwoje pacjentów otrzymało leczenie według ALL-IC-BFM 2002, w 15 dobie w szpiku kostnym stwierdzono brak odpowiedzi na leczenie, włączono terapię według protokołu AML-BFM-Interim 2004. Pacjenci uzyskali remisję, przeprowadzono u nich zabieg allo-HSCT i żyją w pełnej remisji. Trzeci pacjent z tej podgrupy, otrzymał leczenie jak dla AML, jednak nie uzyskał remisji i zmarł z powodu progresji choroby.

W podgrupie 3 pacjentów z rearanżacją genu *MLL*, u wszystkich wystąpiły zdarzenia niepożądane, tj. u dwojga leczonych jak AML wystąpiła wznowa choroby, natomiast jedno niemowlę, które otrzymywało leki według protokołu INTERFANT-06, zginęło w remisji z powodu powikłań terapii.

Ośmioro dzieci z pozostałych podgrup otrzymywało leczenie według ALL-IC-BFM-2002. W pierwszej remisji żyje 7 (87,5%) spośród nich, a u jednego (12,5%) zdiagnozowano wznowę choroby. Program AML-Interim-BFM-2004 zastosowano u 4 dzieci. Spośród nich 3 (75%) żyje w CR1, a jedno (25%) zginęło z powodu progresji choroby. W tej podgrupie nie przeprowadzono allo-HSCT.

5.1.5.3. Dobór terapii u chorych z BAL lub MPAL

Podsumowując powyższe opracowania pod kątem doboru terapii w BAL lub MPAL, jedynie Reinhart i wsp.⁸ rekomenduje rozpoczynanie leczenia u dzieci z BAL lub MPAL protokołami jak dla AML. Pozostali autorzy wskazują na lepsze wyniki leczenia programami jak dla ALL^{11, 13, 20, 22}. W podgrupie MPAL z *BCR/ABL1*, jednocześnie z chemioterapią zaleca się włączenie leczenia imatinibem oraz rozważenie terapii hybrydowej i wczesną kwalifikację do allo-HSCT. Dzieci z MPAL z rearanżacją genu *MLL* również powinni być leczeni intensywną chemioterapią (dzieci poniżej 1 r.ż. ramieniem terapeutycznym dla grupy wysokiego ryzyka według programu INTERFANT-06, dzieci powyżej 1 r.ż. programem ALL-IC-BFM-2002 jak dzieci z grupy wysokiego ryzyka lub terapią hybrydową) uzupełnioną allo-HSCT w celu konsolidacji CR1. U pacjentów z białaczką dwuliniową, ze względu na złe rokowanie, należy rozważyć terapię hybrydową z następową allo-HSCT. Zmiana protokołu ze stosowanego w ALL na stosowany w AML powinna nastąpić w przypadku braku korzystnej reakcji na zastosowane leczenie (szpik M3 w 15 dobie, szpik M2/M3 w 33 dobie) oraz w razie tzw. „lineage switch” z ALL na AML. Należy rozważyć zmianę lub intensyfikację leczenia w przypadku szpiku M2 w 15 dobie leczenia (zmiana protokołu lub kwalifikacja do HSCT). Autorzy podkreślają również znaczenie oceny odpowiedzi

na leczenie na podstawie poziomu minimalnej choroby resztkowej (MRD). Ocena poziomu MRD powinna ona być wykonana w 15 dobie (oczekiwany poziom <1%) oraz po zakończeniu indukcji remisji (oczekiwany poziom <0,01%). Pacjenci z niskim poziomem MRD w wymienionych punktach czasowych terapii rokują bardzo dobrze, nie jest konieczna intensyfikacja leczenia. W kilku pracach stwierdzono wyższy odsetek zajęcia OUN w BAL^{8, 11}. W związku z tym, niektórzy autorzy zalecają w MPAL trójlekową profilaktykę OUN łącznie z napromienianiem mózgu. W badaniu przeprowadzonym obecnie nie stwierdzono większego odsetka dzieci z CNS2/3. W związku z możliwością negatywnych odległych następstw tak intensywnej profilaktyki OUN wydaje się, że należy rozważyć jej zastosowanie raczej jedynie w grupie dzieci ze wstępnym zajęciem OUN (w obecnie obowiązujących protokołach dla dzieci z ALL i AML stosuje się nakłucia lędźwiowe z podaniem jednego leku, przy czym w przypadku zajęcia OUN częstość nakłuć jest zwiększona).

5.1.6. NIEMOWLĘTA Z BAL LUB MPAL

W żadnej z prac dotyczących BAL lub MPAL nie wyodrębniono tej grupy pacjentów poniżej 1 roku życia, jedynie Matutes i wsp.²⁴ (1997) stwierdził, że niemowlęta rokują gorzej. Niemowlęta z ostrą białaczką bez względu na jej rodzaj są leczone odrębnym protokołem. Pomimo tego w badaniu własnym u wszystkich niemowląt BAL lub MPAL wystąpiły zdarzenia niepożądane, a zatem u tych chorych konieczne jest opracowanie nowych, bardziej skutecznych i bezpiecznych programów leczenia.

5.1.7. WSKAZANIA DO ALLOGENICZNEJ HSCT U PACJENTÓW Z BAL LUB MPAL

Podsumowując kwalifikację dzieci do allo-HSCT na podstawie poprzednio omówionych opracowań^{8, 11, 13, 20, 22} oraz spostrzeżeń własnych wydaje się, że zabieg powinien być przeprowadzony u wszystkich dzieci z MPAL z obecnością *BCR/ABL1*, MPAL z rearanzacją genu *MLL*, u wszystkich niemowląt, w przypadku niekorzystnej odpowiedzi na leczenie (szpik M2/M3 lub wysoki poziom MRD w 33 leczenia), u dzieci z białaczką dwuliniową i u dzieci, u których stwierdzono „lineage switch” w trakcie leczenia. W badaniu własnym, spośród 3 dzieci z MPAL z obecnością genu fuzyjnego *BCR/ABL1*, jeden pacjent zmarł bez uzyskania remisji z powodu progresji choroby, pozostali dwoje żyją w CR1 po HSCT. W podgrupie MPAL z rearanzacjami *MLL*, u żadnego z 3 dzieci nie przeprowadzono HSCT. U wszystkich 3 pacjentów stwierdzono zdarzenia niepożądane – u 2 wystąpiła wznowa choroby, jedno zginęło z powodu powikłań terapii.

5.1.8. PORÓWNANIE KLASYFIKACJI EGIL I WHO W DIAGNOSTYCE OSTREJ BIAŁACZKI Z NIEZIDENTYFIKOWANEJ LINII (ALAL)

Porównując klasyfikację EGIL i WHO, wydaje się że iż system klasyfikacji WHO precyzyjniej niż system EGIL identyfikuje grupę pacjentów z ostrą białaczką o mieszanym immunofenotypie blastów, bowiem w przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że stosując kryteria EGIL ostra białaczka o takim immunofenotypie stanowi 2,8% (n=25), natomiast tylko 2,1% (n=19) po zastosowaniu kryteriów WHO. Przy czym spośród 25 dzieci, u których rozpoznano BAL tylko u 15 blasty

demonstrowały cechy charakterystyczne dla MPAL. Dodatkowo MPAL rozpoznano u 4 dzieci, które według EGIL zakwalifikowano do ostrej białaczki z koekspresją. W grupie dzieci z BAL stwierdzono wysoki odsetek obecności genu fuzyjnego *BCR/ABL1* – 16%, u 8% rearanżację genu *MLL*. Pomimo intensywnego leczenia 12% dzieci zmarło bez uzyskania remisji, a wznowa wystąpiła u jednego (4%) dziecka.

U dzieci z MPAL, podobnie jak u dzieci z BAL, obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* spostrzegano u 16% chorych, natomiast odnotowano większą częstość (16% vs 8%) występowania rearanżacji genu *MLL*. Remisji nie uzyskało 10% dzieci z MPAL, a wznowę wystąpiła u 16% dzieci.

5.2. OSTRA BIAŁACZKA Z KOEKSPRESJĄ DETERMINANT Z LINII LIMFOIDALNEJ I MIELOIDALNEJ

5.2.1. WYSTĘPOWANIE OSTREJ BIAŁACZKI Z KOEKSPRESJĄ DETERMINANT Z LINII LIMFOIDALNEJ I MIELOIDALNEJ

Jednym z celów podjętych badań była ocena występowania ostrej białaczki limfoblastycznej z koekspresją antygenów mieloidalnych (My+ALL) oraz ostrej białaczki mieloblastycznej z koekspresją antygenów limfoidalnych (Ly+AML) wśród polskich dzieci z ostrą białaczką. Według innych autorów koekspresję antygenów drugiej linii na blastach spostrzega się aż u około jednej trzeciej dzieci z ostrą białaczką²⁹⁻³¹. W przeprowadzonym obecnie badaniu ten odsetek był niższy i wyniósł 15%, w tym My+BCP-ALL rozpoznano u 111 (12,5%) spośród ogółem 888 dzieci objętych badaniem, My+T-ALL u 12 (1,35%), natomiast Ly+AML u 11 (1,2%) pacjentów.

5.2.2. ZNACZENIE ROKOWNICZE KOEKSPRESJI DETERMINANT Z LINII LIMFOIDALNEJ I MIELOIDALNEJ

5.2.2.1. Koekspresja antygenów mieloidalnych w ostrych białaczkach limfoblastycznych

W większości prac, które ukazały się w latach 90-tych, stwierdzono, że koekspresja antygenów drugiej linii nie ma znaczenia prognostycznego^{15, 16, 35}. Natomiast Wiersma i wsp.⁴² (1991) spostrzegali u dzieci z My+ALL znacznie niższe 3-letnie EFS aniżeli u dzieci z ALL (47 % v. 84%).

Uckun i wsp.³⁵ (1997) stwierdził, iż koekspresja CD2 w białaczkach z linii komórek B nie powoduje pogorszenia reakcji na leczenie, ale częściej u tych dzieci stwierdzano obecność guza śródpiersia, który może zwiększać ryzyko niepowodzenia leczenia. Analizując dzieci z My+ALL ci sami autorzy stwierdzili zwiększony odsetek blastów CD34 pozytywnych, który jednak pozostał bez wpływu na przebieg leczenia i rokowanie.

Putti i wsp.³² (1998) przeanalizował 291 dzieci z My+ALL, które stanowiły 32% wszystkich nowych rozpoznań ALL w okresie 7 lat. Oceniano obecność 6 antygenów mieloidalnych, w tym CD13, CD33, CD65, CD14, CD15 i CD11b. U dzieci >1 roku życia, których stwierdzano koekspresję, EFS wyniosło 69%, a u dzieci bez koekspresji 65,3%. Po podzieleniu grupy na T- i BCP-ALL, nadal obecność antygenów mieloidalnych nie miała wpływu na rokowanie. Natomiast EFS u niemowląt z My+ALL wyniosło 0% i było znamienne niższe niż spostrzegane u dzieci bez koekspresji 47% (p=0.01).

Z kolei Kalina i wsp.⁴⁶ (2005) przebadali 365 dzieci z nowo rozpoznaną BCP-ALL oceniając częstość występowania antygenów mieloidalnych. Najczęstszym okazał się CD66c, który występował u 43% dzieci, a następnie CD 33 u 23%, CD15 u 20%, CD13 u 16% i CD65 u 3,8%. Stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy występowaniem CD66c i obecnością *BCR/ABL1* oraz hiperploidią, natomiast ujemną w odniesieniu do obecności *ETV6-RUNX1*. Oceniono również stabilność poszczególnych antygenów przy rozpoznaniu i we wznowie. Okazało się, że CD66c jest bardzo stabilnym antygenem, tj. u wszystkich dzieci ze wznową utrzymywała się nadal jego ekspresja.

Najczęstszą koekspresję antygeny CD66c potwierdzili w badaniu Owaidah i wsp.⁴⁷ (2008). Dodatkowo stwierdzili, że kombinacja CD66c i CD25 jeszcze specyficzniej koreluje z obecnością genu fuzyjnego *BCR/ABL1*, co może mieć znaczenie kliniczne w ocenie rokowania i podejmowaniu decyzji o doborze terapii.

Mejstrikova i wsp.⁴⁸ (2005) stwierdzili, że obecność CD33 koreluje z gorszą prognozą w dziecięcej ALL, ale tylko w białaczce pre-B. Natomiast w T-ALL nie stwierdzono tej zależności.

Jak dotąd ukazała się tylko jedna praca na temat znaczenia koekspresji w T-ALL. Mianowicie, Babusikova i wsp.⁴⁹ (2009) analizując pacjentów z T-ALL, wśród nich były zarówno dzieci jak i dorośli, stwierdzili, że koekspresja antygenów mieloidalnych takich jak CD13 i CD33 znacznie pogarszała rokowanie.

W badaniu własnym, w grupie My+BCP-ALL częstość występowania czynników złego rokowania według ALL-IC-2002, była porównywalna ze spostrzeganą u dzieci bez koekspresji. Analizując niepowodzenia leczenia, 3 dzieci zmarło z powodu powikłań terapii zanim uzyskano remisję (w 2, 20 i 30 dobie leczenia; wstrząs septyczny, krwawienie do OUN, neuroinfekcja). Wznowę choroby zdiagnozowano u 5

dzieci. Analizując czynniki rokownicze u tych dzieci, nie wykazano korelacji żadnego z nich z wynikami leczenia. Analiza uwzględniała również obecność markerów mieloidalnych, jednak żaden z nich nie korelował wystąpienie wznowy.

Koekspresję markerów mieloidalnych stwierdzono u 12 dzieci u dzieci z T-ALL. Wyniki w tej grupie okazały się najbardziej zaskakujące. Wiadomo, że ostra białaczka T-komórkowa rokuje gorzej niż BCP-ALL, ale koekspresja markerów mieloidalnych wydaje się jeszcze pogarszać prognozę. Jedynie 5 dzieci z tej grupy żyje w CR1, w tym 3 po chemioterapii, a 2 po chemioterapii i allo-HSCT. U dwojga dzieci nie uzyskano remisji i zmarli z powodu progresji białaczki w 14 i 38 dobie leczenia. U 3 pacjentów wystąpiła wznowa choroby, uzyskano CR2, jednak wszyscy pacjenci zmarli z powodu kolejnej wznowy.

Pomimo małej grupy, jednak wobec złych wyników leczenia, wydaje się, że u dzieci z My+T-ALL powinno się rozważyć wskazania do allo-HSCT w CR1, żeby zapobiec wznowom choroby, których leczenie okazuje się być nieskuteczne.

5.2.2.2. Koekspresja antygenów limfoidalnych w ostrych białaczkach mieloblastycznych

Pui i wsp.¹⁶ (1991) analizowali dzieci z ostrą białaczką z obecnością ≥ 2 antygenów drugiej linii. Nie znalazł korelacji pomiędzy obecnością danych antygenów i rokowaniem, ale zaobserwował, że u kilkorga dzieci z Ly+AML, które nie odpowiedziały na leczenie jak dla AML, osiągnięto remisję dopiero po włączeniu leczenia jak dla ALL.

Smith i wsp.⁴⁴ (1992) badali dzieci z AML, u których stwierdzono koekspresję antygenów limfoidalnych, a które stanowiły 30,7% dzieci z AML. W grupie z

koekspresją, najczęściej stwierdzano obecność CD19 (34,5%), następnie CD2 (9,4%), CD5 (2,7%), CD20 (0,8%) oraz CD34 (48,2%), jednak żaden z nich nie wpływał na rokowanie.

Kita i wsp.⁴⁵ (1993) analizując 180 pacjentów >15 roku życia z AML leczonych w okresie 4 lat w ośrodkach Japońskiej Grupy Leczenia białaczek i Chłoniaków wyodrębnił grupę z dodatnim antygenem CD7 (n=40), stwierdzili gorszą odpowiedź na leczenie ($p<0.01$) i gorsze rokowanie ($p<0.01$) w tej grupie pacjentów.

W badaniu własnym, w grupie 133 dzieci z ostrą białaczką mieloblastyczną, koekspresję antygenów limfoidalnych stwierdzono u 11 dzieci. Zdarzenia niepożądane (2 wznowy i jedną progresję) spostrzegano u pacjentów z koekspresją CD2, CD10 i CD19. Allo-HSCT przeprowadzono u 4 dzieci z koekspresją CD7. Wszystkie dzieci, u których wykonano allo-HSCT, żyją w CR1. CD7 jest tym limfoidalnym antygenem, którego koekspresję najczęściej spostrzega się w ostrej białaczce mieloblastycznej. Jego obecność nie pogarsza rokowania.

6. WNIOSKI

1. Ostra białaczka bifenotypowa (BAL) rozpoznawana według kryteriów EGIL stanowi 2.8%, a ostra białaczka o mieszanym fenotypie (MPAL) diagnozowana w oparciu o kryteria WHO 2.1% spośród wszystkich ostrych białaczek rozpoznawanych w Polsce u dzieci i młodzieży. Częstość występowania BAL i MPAL wśród polskich dzieci i młodzieży z ostrą białaczką jest porównywalna do spostrzeganej w tej grupie wiekowej w innych krajach.
2. Kryteria WHO precyzyjniej niż kryteria EGIL identyfikują ostrą białaczkę o mieszanym fenotypie i z tego powodu powinny być obecnie stosowane w immunodiagnostyce ostrych białaczek.
3. Spośród ostrych białaczek z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej u polskich dzieci i młodzieży najczęściej spostrzegana jest My+BCP-ALL (12,5%), a znacznie rzadziej My+T-ALL (1,35%) i Ly+AML (1,24%).
4. U dzieci z BAL i MPAL częściej niż w innych rodzajach ostrych białaczek spostrzega się obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* (16%) oraz rearanżacje genu *MLL* (8-16%).
5. W oparciu o kryteria rokownicze obecnie obowiązujące u dzieci z ALL i AML aż ok. 60% dzieci z BAL i z MPAL kwalifikowanych jest do grupy wysokiego ryzyka (HRG).
6. Zarówno u pacjentów z BAL, jak i u pacjentów z MPAL wyniki leczenia według programu ALL-IC-BFM-2002 były korzystniejsze aniżeli wyniki uzyskane u chorych leczonych zgodnie z programem AML-BFM-Interim-2004. Jednak ze względu na małą liczebność badanej grupy chorych dla potwierdzenia

tego wstępnego spostrzeżenia konieczna jest obserwacja większej grupy chorych z MPAL.

7. W grupie dzieci z ostrą białaczką z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej najlepsze wyniki leczenia uzyskuje się w podgrupie My+BCP-ALL oraz Ly+AML i są one porównywalne do wyników leczenia u dzieci z BCP-ALL i AML, natomiast u dzieci z My+T-ALL, podobnie jak u dzieci z T-ALL leczonych według aktualnie obowiązujących programów terapeutycznych, częste są niepowodzenia leczenia związane progresją lub wznową choroby.
8. Wyniki, a zwłaszcza efekt przeciwbiałaczkowy, allogenicznej HSCT przeprowadzonej w CR1 u dzieci z BAL/MPAL oraz u dzieci z ostrą białaczką z koekspresją zakwalifikowanych w oparciu o kryteria rokownicze obecnie obowiązujące u dzieci z ALL i AML do grupy wysokiego ryzyka (HRG), są korzystne. W celu ostatecznego ustalenia przydatności allogenicznej HSCT u dzieci z MPAL w CR1 konieczna jest obserwacja większej grupy dzieci z tym rozpoznaniem i z uwzględnieniem nowych, bardziej obiektywnych kryteriów rokowniczych, takich jak poziom choroby resztkowej w określonych punktach czasowych terapii.

7. STRESZCZENIE

Wprowadzenie: U dzieci najczęstszym nowotworem jest ostra białaczka, którą do lat 80-tych XX wieku dzielono ją na dwa podstawowe typy, tj. ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL) (85%) i ostrą białaczkę mieloblastyczną (AML) (10-15%) rozpoznawane na podstawie mikroskopowo-światłowej oceny morfologii komórek białaczkowych oraz specyficznych barwień cytochemicznych preparatów szpiku kostnego. Po wprowadzeniu do diagnostyki immunofenotypizacji komórek białaczkowych stwierdzono, iż w niektórych przypadkach wspomniane komórki wykazują ekspresję antygenów charakterystycznych zarówno dla linii limfoidalnej, jak i mieloidalnej. Od 1998 r. taką białaczkę zgodnie z nomenklaturą i kryteriami Europejskiej Grupy do spraw Immunologicznej Klasyfikacji Ostkich Białaczek (EGIL, 1998) nazywa się ostrą białaczką bifenotypową (*biphenotypic acute leukemia*, BAL), a w 2009 r. WHO zaproponowała nazwę ostra białaczka o mieszanym fenotypie (*mixed phenotype acute leukemia*, MPAL) i nowe kryteria diagnostyczne.

Odrębny problem stanowią dzieci z rozpoznaniem ALL lub AML i koekspresją antygenów linii, odpowiednio, mieloidalnej (My+ALL) lub limfoidalnej (Ly+AML), które nie spełniają kryteriów diagnostycznych EGIL lub WHO.

Do tej pory na świecie przeprowadzono niewiele badań, zwłaszcza prospektywnych, dotyczących BAL, MPAL i ostrej białaczki z koekspresją u dzieci, a w Polsce takich badań dotąd w ogóle nie było. Stąd wciąż wiele wątpliwości dotyczy występowania, rokowania, stratyfikacji leczenia i doboru optymalnej terapii tych ostkich białaczek u dzieci i młodzieży.

Cel pracy: Ocena występowania, czynników rokowniczych oraz wyników leczenia BAL i MPAL oraz My+ALL i Ly+AML u dzieci oraz porównanie kryteriów

diagnostycznych BAL według EGIL oraz MPAL według WHO i ich przydatności klinicznej.

Pacjenci i metody: W Polsce w latach 2007-2009 ostrą białaczkę rozpoznano u 888 dzieci, w tym – stosując kryteria EGIL i kryteria WHO - u 25 (2,7%) rozpoznano BAL, u 19 (2,1%) MPAL, u 111 (12,5%) My+BCP-ALL, u 11 (1,24%) My+T-ALL, a u 12 (1,35%) Ly+AML. U wszystkich dzieci oceniano cytomorfologię komórek krwi obwodowej i szpiku kostnego, płyn mózgowo-rdzeniowy, immunofenotyp, kariotyp, występowanie aberracji genetycznych o uznanym znaczeniu rokowniczym oraz występowanie innych czynników rokowniczych aktualnie stosowanych u dzieci z ostrymi białaczkami, odpowiedź na zastosowane leczenie oraz występowanie zdarzeń niepożądanych (progresja lub wznowa białaczki, zgon z powodu powikłań leczenia). Wśród 25 chorych z BAL program terapeutyczny ALL-IC-BFM-2002 zastosowano u 14 (56%) pacjentów, AML-BFM-Interim-2004 u 7 (28%), INTERFANT-06 u 2 (8%), a u kolejnych 2 (8%) dzieci początkowo ALL-IC-BFM-2002, a następnie AML-BFM-Interim-2004 (ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim-2004). W grupie 19 chorych z MPAL leczenie programem ALL-IC-BFM-2002 prowadzono u 9 (47,5%) pacjentów, AML-BFM-Interim-2004 u 7 (37%), ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim-2004 u 2 (10,5%), a INTERFANT-06 u jednego (5%) dziecka.

Wyniki: Spośród 25 pacjentów z BAL zmiany genetyczne stwierdzono u 15 (60%), w tym obecność *BCR/ABL1* u 4 (16%), rearanżacje *MLL* u 2 (8%), *RUNX1-RUNX1T1* (AML/ETO) u jednego (4%), *ETV6-RUNX1* (TEL/AML1) u 3 (12%), hiperploidię u 4 (16%) i hipoploidię 1 (4%). Do HRG zakwalifikowano 15 (60%) dzieci, do IRG – 7 (28%), a do SRG – 3 (12%). Remisję uzyskało 21 (84%) chorych. W CR1 żyje 17 (68%), z tego 11 (78,6%) z 14 leczonych jak ALL i 4 (57,1%) z 7 jak

AML oraz 2 (100%) leczonych jak ALL/AML. pEFS, pLFS i pOS wyniosło odpowiednio 0.589 ± 0.126 , 0.754 ± 0.129 i 0.685 ± 0.103 .

W grupie 19 dzieci z MPAL zmiany genetyczne dostrzegano u 11 (58%), w tym *BCR/ABL1* u 3 (16%), rearanżacje *MLL* u 3 (16%), mutację punktową D835 genu *FLT3* u jednego, hiperploidię 3 (16%), a hipoploidia 1 (5%). Do HRG zakwalifikowano 11 (58%) dzieci, do IRG – 6 (31,5%), a do SRG – 2 (10,5%). Remisję uzyskało 17 (89,5%) chorych. W CR1 żyje 13 (68%) dzieci, z tego 8 (88,9%) leczonych jak ALL, 3 (42,9%) leczonych jak AML oraz 2 (100%) leczonych początkowo jak ALL, a następnie jak AML.

W grupie pacjentów z koekspresją, w podgrupie My+BCP-ALL oraz Ly+AML stwierdzono podobne rokowanie jak w BCP-ALL i AML. pEFS, pLFS i pOS u dzieci z My+BCP-ALL wyniosło odpowiednio $0,78 \pm 0,09$, $0,80 \pm 0,09$ i $0,93 \pm 0,03$, natomiast u dzieci Ly+AML $0,68 \pm 0,15$, $0,68 \pm 0,15$ i $0,67 \pm 0,21$. Natomiast w grupie 12 dzieci z My+T-ALL remisję o czasie uzyskało tylko 10 (83,3%) pacjentów, w CR1 żyje jedynie 5 (41,6%) pacjentów, a pEFS, pLFS i pOS wyniosło odpowiednio $0,31 \pm 0,16$, $0,33 \pm 0,17$ i $0,56 \pm 0,15$.

Allogeniczną HSCT przeprowadzono w CR1 ogółem u 15 dzieci, w tym u 2 z BAL/MPAL, jednego z BAL, 5 z My+BCP-ALL, 4 z Ly+AML i 3 z My+T-ALL, zakwalifikowanych do grupy wysokiego ryzyka. Potransplantacyjna wznowa białaczki wystąpiła u jednego dziecka (7%), a dwoje (13%) dzieci zginęło z powodu powikłań HSCT. W CCR po HSCT żyje 12 (75%) dzieci.

Wnioski: 1. Ostra białaczka bifenotypowa (BAL) (EGIL) stanowi 2.8%, a ostra białaczka o mieszanym fenotypie (MPAL) (WHO) 2.1% spośród wszystkich ostrych białaczek rozpoznawanych w Polsce u dzieci i młodzieży. Częstość występowania BAL i MPAL wśród polskich dzieci i młodzieży z ostrą białaczką jest porównywalna do

spostreganej w tej grupie wiekowej w innych krajach. 2. Kryteria WHO precyzyjniej niż kryteria EGIL identyfikują ostrą białaczkę o mieszanym fenotypie i powinny być obecnie stosowane w immunodiagnostyce ostrych białaczek. 3. Spośród ostrych białaczek z koekspresją u polskich dzieci i młodzieży najczęściej spostrzegana jest My+BCP-ALL (12,5%), a znacznie rzadziej My+T-ALL (1,35%) i Ly+AML (1,24%). 4. U dzieci z BAL i MPAL częściej niż w innych rodzajach ostrych białaczek spostrzega się obecność genu fuzyjnego *BCR/ABL1* (16%) oraz rearanżacje genu *MLL* (8-16%). 5. W oparciu o kryteria rokownicze obecnie obowiązujące u dzieci z ALL i AML aż ok. 60% dzieci z BAL i z MPAL kwalifikowanych jest do grupy wysokiego ryzyka. 6. Zarówno u pacjentów z BAL, jak i u pacjentów z MPAL wyniki leczenia według programu ALL-IC-BFM-2002 były korzystniejsze aniżeli wyniki uzyskane u chorych leczonych zgodnie z programem AML-BFM-Interim-2004. 7. W grupie dzieci z ostrą białaczką z koekspresją najlepsze wyniki leczenia uzyskuje się w podgrupie My+BCP-ALL oraz Ly+AML i są one porównywalne do wyników leczenia u dzieci z BCP-ALL i AML, natomiast u dzieci z My+T-ALL, podobnie jak u dzieci z T-ALL leczonych według aktualnie obowiązujących programów terapeutycznych, częste są niepowodzenia leczenia związane progresją lub wznową choroby. 8. Wyniki, a zwłaszcza efekt przeciwbiałaczkowy, allogenicznej HSCT przeprowadzonej w CR1 u dzieci z BAL/MPAL oraz u dzieci z ostrą białaczką z koekspresją linii limfoidalnej i mieloidalnej zakwalifikowanych w oparciu o kryteria rokownicze obecnie obowiązujące u dzieci z ALL i AML do grupy wysokiego ryzyka, są korzystne.

SUMMARY

Background: Acute leukemia is the most frequent neoplasm in children. Till the eighties of XX century, acute leukemias were divided into acute lymphoblastic leukemia (ALL, 85%) and acute myeloblastic leukemia (AML, 10-15%) based on blasts morphology and cytochemical staining of bone marrow specimens. Establishing the immunophenotyping of blasts as a diagnostic procedure resulted in finding, that in some cases the leukemic cells reveal antigen expression characteristic for both, lymphoid and myeloid cell lines. In 1998, European Group for Immunological Classification of Leukemia proposed diagnostic criteria of such leukemia and named it as biphenotypic acute leukemia (BAL). In 2009 WHO defined other diagnostic criteria and proposed new name, mixed phenotype acute leukemia (*MPAL*).

Another problem is acute lymphoblastic leukemia with coexpression of myeloid antigens (My+ALL) and acute myeloblastic leukemia with coexpression of lymphoid antigens (Ly+AML), which cannot be classified as BAL nor MPAL. For now, there were only few studies, especially prospective ones, on BAL, MPAL or leukemia with coexpression in children, and there was no at all such study in Poland so far. That is why there are still only scanty data on epidemiology, prognosis, therapy stratification, role of hematopoietic stem cell transplantation and long term results in children with this type of acute leukemia.

Aim: To evaluate epidemiology, prognostic factors, and treatment results in children with BAL, MPAL, My+ALL and Ly+AML, and to compare of diagnostic criteria of BAL (EGIL) and MPAL (WHO) and its clinical usefulness.

Patients and methods: Among 888 children with acute leukemia diagnosed and treated in Poland between 2007-2009 in the Polish Pediatric Group for Leukemia and

Lymphoma Treatment (PPGLL) centers, BAL was diagnosed in 25 children (2,7%), MPAL in 19 (2,1%), My+BCP-ALL in 111 (12,5%), My+T-ALL in 11 (1,24%), and Ly+AML in 12 (1,35%). Blood and bone marrow morphology, cerebrospinal fluid, blasts immunophenotype, karyotype, genetic aberrations demonstrating prognostic value, other prognostic factors, response to therapy and side effects (progression, relapse, death due to therapy complications) were analyzed in each group.

Fourteen (56%) out of 25 children with BAL were treated according to the ALL-IC-BFM-2002 treatment protocol, 7 (28%) according to the AML-BFM-Interim-2004, 2 (8%) according INTERFANT-06, and last 2 (8%) children initially in accordance with the ALL-IC-BFM-2002, and then with the AML-BFM-Interim-2004 (ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim-2004).

Among 19 children diagnosed with MPAL, in 9 (47,5%) the ALL-IC-BFM-2002 protocol was applied, whereas AML-BFM-Interim-2004 in 7 (37%), ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim-2004 in 2 (10,5%), and INTERFANT-06 in one (5%) child.

Results: Among 25 children with BAL in 15 (60%) genetical aberrations were found, including (incl.) *BCR/ABL1* in 4 (16%), *MLL* rearrangements in 2 (8%), *RUNX1-RUNXIT1 (AML/ETO)* in 1 (4%), *ETV6/RUNX1 (TEL/AML1)* in 3 (12%), hyperploidy in 4(16%) and hypoploidy in 1 (4%). Fifteen (60%) children were classified to high risk group (HRG), 7 (28%) to intermediate risk group (IRG), and 3 (12%) to standard risk group (SRG). Complete remission were obtained in 21 (84%) patients. Seventeen (68%) patients are alive in CR1, incl. 11/14 (78,6%) treated with ALL-IC-BFM-2002, 4/7 (57,1%) treated with AML-BFM-Interim-2004, and 2/2 (100%) treated with ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim-2004. pEFS, pLFS i pOS were 0.589 ± 0.126 , 0.754 ± 0.129 i $0,685\pm 0,103$, respectively.

Among 19 children with MPAL, 11 (58%) demonstrated genetical aberrations, incl. *BCR/ABL1* in 3 (16%), *MLL* rearrangements in 3 (16%), *FLT3-D835* mutation in one, hyperploidy in 3 (16%), and hipoploidy in one (5%). Eleven (58%) patients were classified to HRG, 6 (31,5%) to IRG and 2 (10,5%) to SRG. Complete remission were obtained 17 (89,5%) patients. Thirteen (68%) patients are alive in CR1, incl. 8/9 (88,9%) treated with ALL-IC-BFM-2002, 3/7 (42,9%) treated with AML-BFM-Interim-2004, and 2 (100%) treated with ALL-IC-BFM-2002→AML-BFM-Interim-2004. pEFS, pLFS i pOS were $0,583\pm 0,155$, $0,619\pm 0,160$ and $0,786\pm 0,095$, respectively.

Among patients with lymphoid and myeloid coexpression, pEFS, pLFS, and pOS in My+BCP-ALL subgroup were $0,78\pm 0,09$, $0,80\pm 0,09$ i $0,93\pm 0,03$, whilst in Ly+AML were $0,68\pm 0,15$, $0,68\pm 0,15$ i $0,67\pm 0,21$, respectively. In contrast, only 10 (83,3%) out of 12 children with My+T-ALL patients obtained CR1, and only 5 (41,6%) of them are alive in CCR. pEFS, pLFS, and pOS were $0,31\pm 0,16$, $0,33\pm 0,17$ i $0,56 \pm 0,15$, respectively.

Allogenic HSCT was performed all-in in 15 high-risk patients in CR1, therein in 2 children with BAL/MPAL, one with BAL, 5 with My+BCP-ALL, 4 with Ly+AML, and 3 with My+T-ALL. The leukemia relapse appeared in one (7%) child after HSCT, and 2 (13%) children died of HSCT related complications. Twelve (75%) patients are alive in CCR after HSCT.

Conclusions: 1. Biphenotypic acute leukemia (BAL) (EGIL) accounts for 2,8%, whilst mixed phenotype acute leukemia (MPAL) (WHO) 2,1% among all acute leukemias diagnosed in Polish children and adolescents. Incidence of BAL and MPAL in Polish children and adolescents is similar to that one in other countries. 2. WHO classification more precisely than EGIL one identifies patients with MPAL and should be used for acute leukemia immunodiagnostics. 3. My+BCP-ALL (12,5%) is most

frequent acute leukemia with coexpression among Polish children and adolescents, My+T-ALL (1,35%) and Ly+AML (1,24%) are diagnosed more seldom. 4. *BCR/ABL1* (16%) fusion gene and *MLL*-rearrangements (8-16%) are more frequent in BAL and MPAL than in other childhood acute leukemias. 5. About 60% of patients with BAL and MPAL are qualified to HRG according to prognostic criteria concerning patients with ALL and AML. 6. Results of treatment in patients with BAL and MPAL were better for children treated with ALL-IC-BFM-2002 than in those treated with AML-BFM-Interim-2004. 7. Among children with acute leukemia with lymphoid and myeloid coexpression, patients with My+BCP-ALL and Ly+AML obtain the best results of treatment. They are comparable with results of BCP-ALL and AML treatment. Progression and relapses are frequent in children with My+T-ALL likewise in children with T-ALL treated with current therapeutic protocols. 8. Allogeneic HSCT improves the treatment results in children with BAL/MPAL, and in those with acute leukemia demonstratin coexpression of lymphoid and myeloid markers classified to HRG according to current prognostic criteria.

8. PIŚMIENICTWO

1. Fialkow PJ, Singer JW, Adamson JW i wsp. Acute nonlymphocytic leukemia: heterogeneity of stem cell origin. *Blood* 1981; 57: 1068-1073.
2. McGraw TP, Folds JD, Bollum FJ, Sass SA. Terminal deoxynucleotidyl transferase-positive acute myeloblastic leukemia. *Am J Hematol* 1981; 10: 251-258.
3. Greaves MF: "Target: cells", cellular phenotypes, and lineage fidelity in human leukemia. *J Cell Physiol.* 1982; 1: 113-125.
4. Perentesis J, Ramsay N, Brunning R i wsp. Biphenotypic leukemia: immunologic and morphologic evidence for a common lymphoid-myeloid progenitor in humans. *J Pediatr* 1983; 102: 63-67.
5. Ru YX, Wang HJ, Yang BX i wsp. The ultrastructure of hybrid acute leukemia: a study of 15 cases. *Ultrastruct Pathol.* 2005; 29: 341-347.
6. Mirro J, Zip TF, Pui CH i wsp. Acute mixed lineage leukemia: clinicopathologic correlations and prognostic significance. *Blood* 1985; 66: 1115-1123.
7. Nachman J. Apples and oranges: mixed lineage acute leukemia. *Blood* 2009; 113: 5036.
8. Rubnitz JE, Onciu M, Pounds S i wsp. Acute mixed lineage leukemia in children: the experience of St Jude Children's Research Hospital. *Blood* 2009; 113: 5083-5089.
9. Bene MC. Biphenotypic, bilineal, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias! *Haematologica* 2009; 94: 891-893.

10. Weir EG, Ali Ansari-Lari M, Batista DAS i wsp. Acute bilineal leukemia: a rare disease with poor outcome. *Leukemia* 2007; 21: 2264-2270.
11. Gerr H, Zimmermann M, Schrappe M i wsp. Acute leukaemias of ambiguous lineage in children: characterization, prognosis and therapy recommendations. *Br J Haematol.* 2010; 149: 84-92.
12. Bain BJ, Barnett D, Linch D i wsp. Revised guideline on immunophenotyping in acute leukemias and chronic lymphoproliferative disorders. *Clin Lab Haematol* 2002; 24: 1-13.
13. Mejstrikova E, Volejnikova J, Fronkova E i wsp. Prognosis of children with mixed phenotype acute leukemia treated in accordance with consistent immunophenotypic criteria. *Haematologica* 2010; 95: 928-935.
14. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA i wsp. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood* 2009; 114: 937-951.
15. Frater J, Yaseen N, Peterson L i wsp. Biphenotypic acute leukemia with coexpression of CD79a and markers of myeloid lineage. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 356-359.
16. Pui CH, Raimondi SC, Head DR i wsp. Characterization of childhood acute leukemia with multiple myeloid and lymphoid markers at diagnosis and at relapse. *Blood* 1991; 78: 1327-1337.
17. Buccheri V, Matutes E, Dyer MJ, Catovsky D. Lineage commitment in biphenotypic acute leukemia. *Leukemia* 1993; 7: 919-927.
18. Bene MC, Castoldi G, Knapp M i wsp. Proposals for the immunological classification of acute leukemias - European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia* 1995; 9: 1673-1674.

19. Killick S, Matutes E, Powles RL i wsp. Outcome of biphenotypic acute leukemia. *Haematologica* 1999; 84: 699-706.
20. Al-Seraihy AS, Owaidah TM, Ayas M i wsp. Clinical characteristics and outcome of children with biphenotypic acute leukemia. *Haematologica* 2009; 94: 1682-1690.
21. Owaidah TM, Al Beihany A, Iqbal MA i wsp. Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia* 2006; 20: 620-626.
22. Park JA, Ghim TT, Bae K i wsp. Stem cell transplant in the treatment of childhood biphenotypic acute leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 53: 444-452.
23. Carbonell F, Swansbury J, Min T i wsp. Cytogenetic findings in acute biphenotypic leukemia. *Leukemia* 1996; 10: 1283-1287.
24. Matutes E, Morilla R, Farahat N i wsp. Definition of acute biphenotypic leukemia. *Haematologica* 1997; 82: 64-66.
25. Ziemin-van der Poel S, McCabe NR, Gill HJ i wsp. Identification of a gene MLL, that spans the breakpoint in 11q23 translocations associated with human leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10735-10739.
26. Buccheri V, Matutes E, Dyer MJ i wsp. Lineage commitment in biphenotypic acute leukemia. *Leukemia* 1993; 7: 919-927.
27. Szczepański T, Harrison C, van Dongen JJM. Genetic aberrations in pediatric acute leukemias and implications for management of patients. *Lancet Oncol* 2010; 11: 880-889.
28. Konatkowska B, Wachowiak J, Derwich K i wsp. Retrospektywna ocena wyników leczenia dzieci z ostrą białaczką bifenotypową i ostrą białaczką z koekspresją determinant z linii limfoidalnej i mieloidalnej w latach 1995-2005 w materiale PPGLBC. *Acta Haematol Pol* 2005; 6: 161-162.

29. Batanian JR, Dunphy CH, Gale G, Havlioglu N. Is t(6;14) a non-random translocation in childhood acute mixed lineage leukemia? *Cancer Genet Cytogenet* 1996; 90: 29-32.
30. Wu S.Q, Kuo J, Chen XR i wsp. Translocation (6;14) in childhood acute mixed lineage leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2003; 141: 178-179.
31. Kuerbitz SJ, Civin CI, Krischer JP i wsp. Expression of myeloid-associated and lymphoid-associated cell-surface antigens in acute myeloid leukemia of childhood: a Pediatric Oncology Group study. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1419-1429.
32. Putti MC, Rondelli R, Cocito MG i wsp. 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: 795-801.
33. Khalidi HS, Chang KL, Medeiros LJ i wsp. Acute lymphoblastic leukemia. Survey of immunophenotype, French-American-British classification, frequency of myeloid antigen expression, and karyotypic abnormalities in 210 pediatric and adult cases. *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 467-476.
34. Nomdedeu JF, Mateu R, Altes A i wsp. Enhanced myeloid specificity of CD117 compared with CD13 and CD33. *Leuk Res* 1999; 23: 341-347.
35. Uckun F, Sather H, Gaynon P i wsp. Clinical features and treatment outcome of children with myeloid antigen positive acute lymphoblastic leukemia: a raport from the Children's Cancer Group. *Blood* 1997; 90: 28-35.
36. Swerdlow, S.H., Campo, E., Harris, N.L., Jaffe, E.S., Pileri, S.A., Stein, H., Thiele, J., Vardiman, J.W. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Fourth Edition. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 2008.

37. Tiribelli M, Damiani D, Pasolini P i wsp. Biological and clinical features of T-biphenotypic acute leukemia: report from a single centre. *Br J Haematol* 2004; 125: 814-815.
38. Owaidah TM, Al Beihany A, Iqbal MA i wsp. Cytogenetics, molecular and ultrastructural characteristics of biphenotypic acute leukemia identified by the EGIL scoring system. *Leukemia* 2006; 20: 620-626.
39. Hayashi Y, Pui CH, Behm FG i wsp. 14q32 translocations are associated with mixed-lineage expression in childhood acute leukemia. *Blood* 1990; 76: 150-156.
40. Strehl S, Nebral K, König M i wsp. *ETV6-NCOA2*: A novel fusion gene in acute leukemia associated with coexpression of T-lymphoid and myeloid markers and frequent *NOTCH1* mutations. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 977-983.
41. Xiao-Qian Xu, Jian-Min Wang, Shu-Qing Lu i wsp. Clinical and biological characteristics of adult biphenotypic acute leukemia in comparison with that of acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia: a case series of a Chinese population. *Haematologica* 2009; 94: 919-927.
42. Wiersma SR, Ortega J, Sobel E i wsp. Clinical importance of myeloid-antigen expression in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *N Engl J Med* 1991; 324: 800-808.
43. Pui CH, Raimondi SC, Head DR i wsp. Characterization of childhood acute leukemia with multiple myeloid and lymphoid markers at diagnosis and at relapse. *Blood* 1991; 78: 1327-1337.
44. Smith FO, Lampkin BC, Versteeg C i wsp. Expression of lymphoid-associated cell surface antigens by childhood acute myeloid leukemia cells lacks prognostic significance. *Blood* 1992; 79: 2415-2422.
45. Kita K, Miwa H, Nakaze K i wsp. Clinical importance of CD7 expression in acute myelocytic leukemia. *Blood* 1993; 81: 2399-2405.

46. Kalina T, Vaskova M, Mejstrikova E i wsp. Myeloid antigens in childhood lymphoblastic leukemia: clinical data point to regulation of CD66c distinct from other myeloid antigens. *BMC Cancer*. 2005; 5: 38.
47. Owaidah TM, Rawas FI, AL Khayatt MF, Elkum NB. Expression of CD66c and CD25 in acute lymphoblastic leukemia as a predictor of the presence of BCR/ABL rearrangement. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 2008; 1: 34-37.
48. Mejstrikova E, Kalina T, Trka J i wsp. Correlation of CD33 with poorer prognosis in childhood ALL implicates a potential of anti-CD33 frontline therapy. *Leukemia* 2005; 19: 1092-1094.
49. Babusikova O, Stevulova L, Fajtova M. Immunophenotyping parameters as prognostic factors in T-acute leukemia patients. *Neoplasma* 2009; 56: 508-513.

9. SPIS TABEL I RYCIN

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Kryteria klasyfikacji ostrej białaczki bifenotypowej według Europejskiej Grupy do spraw Klasyfikacji Immunologicznej Białaczek (<i>European Group for Immunological Classification of Leukemia, EGIL, 1998</i>).. | 29 |
| Tabela 2. Szczegółowy schemat leczenia wg ALL-IC-BFM-2002 | 35 |
| Tabela 3. ALL-IC-BFM-2002 – zmodyfikowane przez grupę BFM wskazania do HSCT u dzieci z ALL w CR1..... | 36 |
| Tabela 4. Wskazania do HSCT w ALL w CR1 według BFM (2009)..... | 37 |
| Tabela 5. Szczegółowy schemat leczenia wg AML-BFM-2004-Interim..... | 41 |
| Tabela 6. Szczegółowy schemat leczenia wg INTERFANT-06..... | 44 |
| Tabela 7. Charakterystyka pacjentów z Ly/My-BAL (n=12)..... | 51 |
| Tabela 8. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z Ly/My-BAL (n=12)..... | 53 |
| Tabela 9. Charakterystyka pacjentów z Ly-BAL (n=10)..... | 56 |
| Tabela 10. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z Ly-BAL (n=10)..... | 58 |
| Tabela 11. Charakterystyka pacjentów z My-BAL (n=2)..... | 60 |
| Tabela 12. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z My-BAL (n=2)..... | 61 |

| | |
|--|----|
| Tabela 13. Charakterystyka pacjenta z ostrą białaczką dwuliniową..... | 63 |
| Tabela 14. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjenta z ostrą białaczką dwuliniową..... | 63 |
| Tabela 15. Wznowy u pacjentów z BAL (n=1)..... | 67 |
| Tabela 16. Zgony z powodu progresji u dzieci z BAL (n=3)..... | 67 |
| Tabela 17. Charakterystyka dzieci z BAL poddanych allogenicznej HSCT w CR1 (n=3)..... | 68 |
| Tabela 18. Ekspresja antygenów z linii limfoidalnej i mieloidalnej u dzieci z BAL (n=25)..... | 69 |
| Tabela 19. Charakterystyka pacjentów z MPAL B-myeloid NOS (n=8)..... | 72 |
| Tabela 20. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL B-myeloid NOS (n=8)..... | 73 |
| Tabela 21. Charakterystyka pacjentów z MPAL T-myeloid NOS (n=4)..... | 75 |
| Tabela 22. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL T-myeloid NOS (n=4)..... | 76 |
| Tabela 23. Charakterystyka pacjentów z MPAL z <i>BCR/ABL1</i> (n=3)..... | 78 |
| Tabela 24. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL z <i>BCR/ABL1</i> (n=3)..... | 79 |

| | |
|--|-----|
| Tabela 25. Charakterystyka pacjentów z MPAL z <i>MLL</i> (n=3)..... | 81 |
| Tabela 26. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z MPAL z <i>MLL</i> (n=3)..... | 82 |
| Tabela 27. Wznowy u dzieci z MPAL (n=3)..... | 88 |
| Tabela 28. Zgony z powodu progresji u dzieci z MPAL (n=2)..... | 88 |
| Tabela 29. Charakterystyka dzieci z MPAL poddanych HSCT w CR1(n=2)..... | 89 |
| Tabela 30. Ekspresja antygenów z linii limfoidalnej i mieloidalnej u dzieci z MPAL (n=19)..... | 90 |
| Tabela 31. Charakterystyka pacjentów spełniających kryteria zarówno BAL wg. EGIL, jak i MPAL wg. WHO (n=15)..... | 92 |
| Tabela 32. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów spełniających kryteria zarówno BAL wg. EGIL oraz MPAL wg. WHO (n=15)..... | 94 |
| Tabela 33. Charakterystyka dzieci z My+BCP-ALL poddanych allogenicznej HSCT w CR1 (n=5)..... | 99 |
| Tabela 34. Charakterystyka pacjentów z My+BCP-ALL z niepowodzeniami leczenia (n=9)..... | 100 |
| Tabela 35. Zastosowane leczenie i zdarzenia niekorzystne u pacjentów z My+BCP-ALL z niepowodzeniami leczenia (n=9)..... | 101 |

| | |
|---|-----|
| Tabela 36. Ekspresja antygenów z linii mieloidalnej i linii limfocyta T u dzieci z My+BCP-ALL (n=111)..... | 104 |
| Tabela 37. Charakterystyka pacjentów z My+T-ALL (n=12)..... | 106 |
| Tabela 38. Rokowanie i wyniki leczenia pacjentów z My+T-ALL (n=12)..... | 107 |
| Tabela 39. Charakterystyka i wyniki leczenia dzieci z My+T-ALL poddanych allogenicznej HSCT w CR1(n=3)..... | 108 |
| Tabela 40. Charakterystyka pacjentów z Ly+AML (n=11)..... | 112 |
| Tabela 41. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia pacjentów z Ly+AML (n=11)..... | 113 |
| Tabela 42. Charakterystyka pacjentów z Ly+AML poddanych allogenicznej HSCT w CR1 (n=4)..... | 115 |
| Tabela 43. Ekspresja antygenów z linii limfocyta B i T u dzieci z Ly+AML (n=11)..... | 117 |
| Tabela 44. Charakterystyka niemowląt z BAL, MPAL lub ostrą białaczką z koekspresją (n=6)..... | 118 |
| Tabela 45. Zastosowane leczenie i wyniki leczenia niemowląt z BAL, MPAL lub ostrą białaczką z koekspresją (n=6)..... | 120 |
| Tabela 46. Protokół St.Jude XIII-B HR..... | 134 |
| Rycina 1. Schemat leczenia wg ALL-IC-BFM-2002..... | 34 |

| | |
|--|-----|
| Rycina 2. Schemat leczenia wg AML-BFM-2004-Interim..... | 39 |
| Rycina 3. Schemat leczenia ostrej białaczki promielocytowej (APL) - FAB M3 wg AML-BFM-2004-Interim..... | 40 |
| Rycina 4. Schemat leczenia wg INTERFANT-06..... | 43 |
| Rycina 5. pEFS u dzieci z BAL (n=25)..... | 66 |
| Rycina 6. pLFS u dzieci z BAL (n=25)..... | 66 |
| Rycina 7. pOS u dzieci z BAL (n=25)..... | 67 |
| Rycina 8. pEFs u dzieci z MPAL (n=19)..... | 86 |
| Rycina 9. pLFS u dzieci z MPAL (n=19)..... | 86 |
| Rycina 10. pOS u dzieci z MPAL (n=19)..... | 87 |
| Rycina 11. pEFS u dzieci z BAL/MPAL (n=15)..... | 97 |
| Rycina 12. pLFS u dzieci z BAL/MPAL (n=15)..... | 97 |
| Rycina 13. pOS u dzieci z BAL/MPAL (n=15)..... | 97 |
| Rycina 14. pEFS u dzieci z My+BCR-ALL (n=111)..... | 103 |
| Rycina 15. pLFS u dzieci z My+BCP-ALL (n=111)..... | 103 |
| Rycina 16. pOS u dzieci z My+BCP-ALL (n=111)..... | 103 |
| Rycina 17. pEFS u dzieci z My+T-ALL (n=12)..... | 110 |

| | |
|--|-----|
| Rycina 18. pLFS u dzieci z My+T-ALL (n=12)..... | 110 |
| Rycina 19. pOS u dzieci z My+T-ALL (n=12)..... | 111 |
| Rycina 20. pEFS u dzieci z Ly+AML (n=11)..... | 116 |
| Rycina 21. pLFS u dzieci z Ly+AML (n=11)..... | 116 |
| Rycina 22. pOS u dzieci z Ly+AML (n=11)..... | 117 |