



БЪЛГАРСКО МЕДИЦИНСКО
СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ
BULGARIAN MEDICAL
SOCIETY OF HEMATOLOGY

ХЕМАТОЛОГИЯ HEMATOLOGY



ТОМ LXII – БРОЙ 1-2 – 2024 г.



MDS

B-THALASSEMIA

3a saw111Te Bb3paCTHIII na4111eHTIII C aHeMIIIIs:I, CBbp3aHa C
MIIIe/IOA111Cn/laCTIII4eH CIIHAPOM 111/1116eTa-Ta11aceMIIIIs:I

Сb>KIII BII EPИITPOY.IITHTATA MATYPAU.IIIJ

C Reblozyl - nbpBOTO vI eJMHCTBeHO cpeJCTBO, CTVIMynB1paw,o
Cb3psmaHeTO Ha epVTpOV1JHVTe KneTKB, MO>KeTe ,1:1aHaManv1Te vI
,1:1qvI cnpeTe TpaHcny3v10HHaTa 3aBV1OMOCT Ha na4v1eHTv1Te.1

*f T03C neKaprceH npOAYKT n0/1/leJm Ha AOnbnHrenHO Ha6n011eHae. Tosa 11e n03sona 6bp3OTO ypaHOBcBaHe Ha HOBa CH-jOpMaJCS OTHOCHO
6e3onapocna. Or MeA•J•Hcmre cne11cancrc ce a3acka 1a Cb06J.1asar smKa no1103paHa HelKenaHa peakJ\CS.

PesjepeH\CC: 1. Reblozyl KpaTKa xapakTepacmKa Ha npOAYKTa.

Reblozyl e nokaa3aH npa Bb3paCTHC 3a neYeHCeTO Ha ppaHc-jy3aoHHO 3acpmMa aHeMCS nopa11s MHOn HCKOpCKOBC, HCKOpCKOBC C
cpe11HopackOBC Maeno11scnnacrcYHC CSHAPOMC (M\Q).

Reblozyl e nokaa3aH npa Bb3pacrHc 3a neYeHaepo Ha aHeMHas, CBbp3aHa c ppaHc-jy3aoHHO 3acpmMa a ppaHc-jy3aoHHO He3acpmMa 6epa-ranaceMas.

JleKaprceH npOAYKT no neKaprco npe11ncaaHae. Cb\bpKa nycnarepl\em.

3a nosece aH-jopMaJCS BCKTe anyanHara KpaTKa xapakTepacmKa Ha npOAYKTa Ha oc>J•anHas ca11r Ha EsponeicKara AreH\CS no JleKaprca:
https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/reblozyl-epar-product-information_bg.pdf ans ce CBbpKere Cb Cy"Kc 5"o-japMa E00/1

Co>jas 1505, 6yn. C"THCKOBO 48, Cep11cka J\eHTbp, ep. 10, ren: + 359 (2) 4942-480, medinfo.bulgaria@swixbiopharma.com

KXn Reblozyl



ХЕМАТОЛОГИЯ HEMATOLOGY

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО МЕДИЦИНСКО СДРУЖЕНИЕ ПО ХЕМАТОЛОГИЯ
JOURNAL OF THE BULGARIAN MEDICAL SOCIETY OF HEMATOLOGY

ТОМ/VOL. LXII - брой 1-2 - 2024 г.

РЕДАКЦИОННА КОЛЕГИЯ

Главен редактор

Проф д-р Стефан Горанов, дмн
тел.: 0888 889 627
stefangoranov@yahoo.com

Зам. главен редактор

Проф д-р Георги Балаценко, дм

Научен секретар

Проф д-р Веселина Горанова-Маринова, дм
тел.: 032 602 596, 032 602 298

Членове

Проф д-р Илина Мичева, дм

Проф д-р Георги Михайлов, дм

Проф д-р Жанет Грудева-Попова, дм

Проф д-р Маргарита Генова, дм

Проф д-р Лиана Герчева, дм

Проф д-р Бранимир Спасов, дм

Доцент д-р Евгений Хаджиев, дм

Доцент д-р Мая Йорданова, дм

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Prof. Stefan Goranov, MD, PhD, DMSc
tel:+359 888 889 627
stefangoranov@yahoo.com

Associated Editor-in-Chief

Prof. Georgi Balatzenko, MD, PhD

Scientific Secretary

Prof. Vesselina Goranova-Marinova, MD,
PhD, tel.: +359 32 602 596, 602 298

Members

Prof. Dr. Iliana Micheva, MD PhD

Prof. Dr. Georgi Mihaylov, MD PhD

Prof. Dr. Janet Grudeva-Popova, MD PhD

Prof. Dr. Margarita Genova, MD PhD

Prof. Dr. Liana Gercheva, MD PhD

Prof. Dr. Branimir Spasov, MD PhD

Ass. Prof. Dr. Evgenii Hadjiev, MD PhD

Ass. Prof. Dr. Maya Yordanova, MD PhD

СЪДЪРЖАНИЕ/CONTENT

ОБЗОРИ/REVIEWS

1. **ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ В НАПРЕДНАЛА ВЪЗРАСТ, КОИТО НЕ СА ПОДХОДЯЩИ ЗА ИНТЕНЗИВНА ХИМИОТЕРАПИЯ**, М. Дончев, Я. Давидкова, К. Ташков, Г. Михайлов
ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN ELDERLY PATIENTS UNFIT FOR INTENSIVE CHEMOTHERAPY, M. Donchev, Y. Davidkova, K. Tashkov, G. Mihaylov.....3
2. **ХЕМОФАГОЦИТНА ЛИМФОХИСТИОЦИТОЗА АСОЦИИРАНА С МАЛИГНИ ХЕМОПАТИИ – КЪСНО РАЗПОЗНАВАЕМ СИНДРОМ С НЕУТОЧНЕНО ЛЕЧЕНИЕ И БЪРЗ ФАТАЛЕН ИЗХОД**, Ст. Горанов, В. Горанова – Маринова, Г. Чинчев, **HEMOPHAGOCYTIC LYMPHONISTIOSIS ASSOCIATED WITH MALIGNANT HEMOPATHIES – A LATE RECOGNIZED SYNDROME WITH UNSPECIFIED TREATMENT AND RAPID FATAL OUTCOME**, St. Goranov, V. Goranova – Marinova, G. Chinchev,10
3. **COVID-19 – ПОТЕНЦИАЛНА ПРИЧИНА ЗА РАЗВИТИЕ НА ХЕМОФАГОЦИТНА ЛИМФОХИСТИОЦИТОЗА**, В. Горанова – Маринова, Г. Чинчев, Ст. Василев, А. Георгиев, Г. Горанов
COVID-19 – A POTENTIAL CAUSE OF DEVELOPMENT OF HEMOPHAGOCYTIC LYMPHONISTIOSIS, V.Goranova – Marinova, G. Chinchev, St. Vassilev, A. Georgiev, G. Goranov,19

ОРИГИНАЛНИ СТАТИИ/ORIGINAL ARTICLES

4. **РАННО ЛИМФОЦИТНО ВЪЗСТАНОВЯВАНЕ: РИСКОВИ ФАКТОРИ И УСЛОЖНЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ИЗХОДА ОТ АЛОГЕННА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОСТРА ЛЕВКЕМИЯ И МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕН СИНДРОМ**, К. Милчева, К. Венков, И. Тонев, Й. Лазарова, Е. Насева, Г. Михайлов
EARLY LYMPHOCYTE RECOVERY AS AN INDEPENDENT PROGNOSTIC FACTOR FOR OUTCOME FROM ALLOGENIC HEMOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA AND MYELOYDYSPLASTIC SYNDROME, K. Milcheva, K. Venkov, I. Tonev, Y. Lazarova, E. Naseva, G. Mihaylov,25
5. **РАЗПРОСТРАНЕНИЕ И РОЛЯ НА СВРЪХЕКСПРЕСИЯТА НА BAALC ГЕНА ПРИ ОСТРИ МИЕЛОИДНИ ЛЕВКЕМИИ – ЕДНОЦЕНТРОВО ПРОУЧВАНЕ**, Е. Алексов, Й. Лазарова, Е. Насева, Г. Василев, Г. Михайлов, М. Генова, Г. Балаценко
THE ROLE OF BAALC GENE OVEREXPRESSION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA – ONE CENTER STUDY, E. Aleksov, Y. Lazarova, E. Naseva, G. Vasilev, G. Mihaylov, M. Genova, G. Balatzenko,34
6. **ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ ПРИ НАПРЕДНАЛА ВЪЗРАСТ – ЕДНОЦЕНТРОВ ОПИТ**, М. Дончев, Я. Давидкова, Т. Янкова, Н. Симоноски, Г. Михайлов
ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN ELDERLY PATIENTS – SINGE CENTER EXPERIENCE, M. Donchev, Y. Davidkova, T. Yankova, N. Simonoski, G. Mihaylov,44

„ХЕМАТОЛОГИЯ“
бр. 1-2/2024, том LXII

“HEMATOLOGY”
issue 1-2/2024, Vol. LXII

ISSN 2367-7864
УДК 616.15

Списанието се обработва в:
* SCOPUS

ИЗДАТЕЛ:
Българското медицинско сдружение по
Хематология
1756 София, ул. Пловдивско поле
№6, НСБАЛХЗ
www.bulgarian-hematology.com

ОРГАНИЗАТОР ПО ОТПЕЧАТВАНЕ:
Импресив ЕООД, Пловдив
Тел за контакт: 0889 546 506

**СТИЛОВА РЕДАКЦИЯ, КОРЕКЦИЯ,
ГРАФИЧЕН ДИЗАЙН:**
Импресив ЕООД, Пловдив,
Тел за контакт: 0889 546 506
sotirov.joro@gmail.com

PUBLISHER:
Bulgarian Medical Society of Hematology
1756 Sofia, Bulgaria, 6 Plovdivsko pole str.
(National Specialised Hospital for Active
Treatment of Hematological Diseases)
www.bulgarian-hematology.com

**PUBLISHING AND PRINTING
ORGANIZER:**
Impressive Ltd, Plovdiv
Phone: +359 889 546 506

**STYLE CORRECTION,
GRAPHIC DESIGN:**
Impressive Ltd, Plovdiv
Phone: +359 889 546 506,
sotirov.joro@gmail.com

7. ЛЕЧЕНИЕ С ВТК ИНХИБИТОРИ - ФИКСИРАНА ИЛИ ПРОДЪЛЖИТЕЛНА ВЪВ
ВРЕМЕТО ТЕРАПИЯ, В. Гръкланов, Г. Райчева, Е. Спасов,
TREATMENT WITH VTK INHIBITORS - FIXED OR CONTINUOUS THERAPY, V. Graklanov,
G. Raycheva, E. Spasov49
8. АВО И RH КРЪВНОГРУПОВИ СИСТЕМИ ПРИ ОСТРА ЛЕВКЕМИЯ: ЗАЩО, КАКВО И
КАК - РЕТРОСПЕКТИВЕН ЕДНОЦЕНТРОВ АНАЛИЗ, Й. Лазарова, Е. Алексов, К. Милчева
ABO AND RH BLOOD GROUP SYSTEMS IN ACUTE LEUKEMIA: WHY, WHAT AND HOW-
RETROSPECTIVE SINGLE CENTER ANALYSIS, Y. Lazarova, E. Aleksov, K. Milcheva,53
9. EVII СВРЪХЕКСПРЕСИЯ В КОМБИНАЦИЯ С ПРЕНАРЕЖДАНЕ НА KMT2A (MLL)
ГЕНА ПРИ ПАЦИЕНТ С ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ - ЕДНО ВСЕ ОЩЕ ТРУДНО
ПРЕОДОЛИМО ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВО, К. Венков, К. Милчева, Е. Алексов, Г. Балаценко,
Г. Михайлов
EVII OVEREXPRESSION IN COMBINATION WITH KMT2A (MLL) GENE
REARRANGEMENTS IN A PATIENT WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA - STILL A TOUGH
CHALLENGE, K. Venkov, K. Milcheva, E. Aleksov, G. Balatzenko, G. Mihaylov,59
10. СВРЪХЕКСПРЕСИЯ НА ВААЛС ГЕНА СЛЕД ТЕРАПИЯ С АЗАЦИТИДИН, ПРИ
ПАЦИЕНТКА С РЕГИСТРИРАНИ ЧЕТИРИ ОТДЕЛНИ НЕОПЛАСТИЧНИ ПРОЦЕСА В
РАМКИТЕ НА 38 ГОДИШЕН ПЕРИОД НА НАБЛЮДЕНИЕ - МЕДИЦИНСКИ СЛУЧАЙ,
Е. Алексов, Й. Лазарова, М. Генова, Г. Михайлов, Г. Балаценк
BAALC GENE OVEREXPRESSION AFTER AZACITIDINE TREATMENT IN A FEMALE
PATIENT WITH REGISTERED FOUR DIFFERENT NEOPLASTIC PROCESSES IN 38-YEARS
FOLLOW-UP PERIOD - A CASE REPORT, E. Aleksov, Y. Lazarova, M. Genova, G. Mihaylov, G.
Balatzenko,64
11. УСПЕШНО СЪХРАНЕНИЕ НА ФЕРТИЛИТЕТА ПРИ ПАЦИЕНТКИ С ОСТРА
ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ, К. Милчева, М. Кайрякова, Г. Стаменов
SUCCESSFUL FERTILITY PRESERVATION IN PATIENTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC
LEUKEMIA, K. Milcheva, M. Kayryakova, G. Stamenov,69
12. КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ДЕТЕ С ТЕЖКА ФОРМА НА АВТОИМУННА ХЕМОЛИТИЧНА
АНЕМИЯ-ДИАГНОСТИЧНО И ТЕРАПЕВТИЧНО ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВО ЗА
ТРАНСФУЗИОННАТА ТЕРАПИЯ, Й. Лазарова, М. Йорданова, Н. Юркова-Цакова,
Е.Шурлиева
CLINICAL CASE OF A CHILD WITH SEVERE FORM OF AUTOIMMUNE HEMOLYTIC
ANEMIA-DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC CHALLENGE
FOR TRANSFUSION THERAPY, A. Lazarova, M. Yordanova, N. Yurukova - Tsakova, E. Shurlieva, ...78

ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ ПРИ ПАЦИЕНТИ В НАПРЕДНАЛА ВЪЗРАСТ, КОИТО НЕ СА ПОДХОДЯЩИ ЗА ИНТЕНЗИВНА ХИМИОТЕРАПИЯ

М. Дончев¹, Я. Давидкова¹, К. Ташков², Г. Михайлов¹

1-Специализирана Болница за Активно Лечение на Хематологични Заболявания – гр. София

2-Медицински университет, Фармацевтичен факултет, гр. София

ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN ELDERLY PATIENTS UNFIT FOR INTENSIVE CHEMOTHERAPY

M. Donchev¹, Y. Davidkova¹, K. Tashkov², G. Mihaylov¹

1-Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

2-Medical University of Sofia, Faculty of Pharmacy

Резюме. Острата миелоидна левкемия (ОМЛ) съставлява хетерогенна група от клонални заболявания, характеризира се с пролиферация на миелоидни бласти и съпътстваща костномозъчна недостатъчност. Характеризира се с кратка преживяемост и фатален изход, ако пациентите останат без лечение. Въпреки бързият прогрес в разбирането на патофизиологията на ОМЛ и откриването на нови терапевтични средства, лечението на „крехки“ пациенти в напреднала възраст остава предизвикателство. Комбинацията от Venetoclax/Azacitidine демонстрира обещаваща ефикасност и безопасност при новодиагностицирани пациенти в напреднала възраст.

Ключови думи: остра миелоидна левкемия, възрастни пациенти, терапия

Abstract. Acute myeloid leukemia (AML) represents a heterogeneous clonal disorder characterized by progenitor myeloid cell proliferation and concomitant bone marrow failure. It has dismal survival and fatal outcome if the patients are left untreated. Despite the rapid improvement in the understanding of the pathophysiology of AML and the discovery of novel therapeutic agents, the treatment of fragile elderly patients remains a challenge. However, the combination of Venetoclax/Azacitidine demonstrate promising efficacy and safety in newly diagnosed elderly patients.

Key words: acute myeloid leukemia, elderly patients, therapy

ВЪВЕДЕНИЕ

Острата миелоидна левкемия (ОМЛ) представлява неопластично заболяване, което се характеризира с матурационен арест и клонална пролиферация на незрели миелоидни прекурсорни клетки. Острата миелоидна левкемия обхваща хетерогенна група от подтипове с разнообразен биологичен и клиничен ход, с различна прогноза и отличаваща се преживяемост в зависимост от демографски и здравни параметри.

През последните две десетилетия се наблюдава подобрение в клиничния изход и удължаване на общата преживяемост при по-младите пациенти, които са диагностицирани с ОМЛ, благодарение на иновативните терапевтични подходи посредством приложението на таргетна терапия. За съжаление, тази тенденция не се установява при пациентите с ОМЛ и напреднала възраст, като причините за това са комплексни – от една страна са свързани със състоянието на пациен-

та, а от друга – с характеристиките на заболяването. Допълнително, 5-годишната преживяемост при младите пациенти с ОМЛ е около 40%, докато същата при възрастни над 65 години едва достига 5% [1,2]. Сходни са възрастовите различия и по отношение на постигането на пълен терапевтичен отговор – по-ниска честота на терапевтичен успех при по-възрастните 40-50% спрямо 50-60% при по-младите [3,4]. Въвеждането на таргетна терапия при възрастните пациенти и подобряването на възможностите за поддържащо лечение оказват благоприятно влияние върху клиничния изход и прогнозата при тези случаи с ОМЛ [5].

Въпреки иновациите в лечението на хематологичните неоплазии през последното десетилетие, стандарт за лечение на ОМЛ при млади пациенти остава химиотерапевтичният режим „7+3“, открит още през 1970г. [6]. Комбинацията от антиметаболит Cytarabine и антрациклин има за цел достигане на пълен морфологичен

отговор с възстановяване на нормалната хемопоеза и провеждане на следваща консолидация за затвърждаване на отговора. Но пациентите с напреднала възраст, обикновено над 65 години, се характеризират с по-лоша прогноза в сравнение с по-младите, поради повишения риск от поява на неблагоприятни генетични събития, които опосредстват терапевтична резистентност. Освен това често са с придружаващи заболявания, които не позволяват приложението на интензивна терапия. При тази кохорта пациенти интензивната химиотерапия се свързва с по-краткотрайна ремисия, увеличена нежелана токсичност, както и висока честота на ранна смъртност [7].

Терапевтичните алтернативи за тази група пациенти са ограничени до лечение с нисък интензитет, най-добре поддържащо лечение или клинични изпитвания с експериментално лечение. Терапиите с нисък интензитет включват хипометилиращи агенти (HMAs), последвани от ниска доза Cytarabine (LDAC), или терапия, базирана на Venetoclax. През 2018г Venetoclax е одобрен от FDA в комбинация с Azacitidine, Decitabine или LDAC за нелекувани възрастни пациенти с ОМЛ, с придружаващи заболявания, които не позволяват интензивна химиотерапия [8]. Данни от рандомизирани проучвания доказват, че ефикасността при приложение на терапевтичната комбинация от хипометилиращ агент (Azacitidine) и BCL-2 инхибитор Venetoclax е съпоставима с употребата на интензивна химиотерапия и се отличава с по-добър клиничен отговор от палиативната заместителна терапия [9].

ЕПИДЕМИОЛОГИЧНИ ДАННИ

Честотата на ОМЛ е едва под 3% от всички злокачествени заболявания, като в частност ОМЛ съставлява около 25% от всички левкемии и 80% от острите левкемии при възрастните пациенти [10]. В световен мащаб се установява нарастване на новодиагностицираните случаи с остра левкемия до 46% през последните 3 години [11]. Според популационно-базирано проучване в онкологичния регистър в САЩ SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) е регистрирана увеличена 5-годишна преживяемост до 31.9 % в западните страни (за периода 2014-2020 г.) при пациенти с ОМЛ. Епидемиологичните данни сочат, че 5-годишната преживяемост по декади при млади пациенти от 15-39 г. нараства от 24% за периода 1980 – 1989 г. до 63% за периода 2010 – 2017 г. [5]. Това се обуславя в голяма степен от молекулярно-биологичните и генетични открития за биологичния ход на ОМЛ, което от своя страна позволява персонализиране на терапевтичния подход. Възрастово-адаптираната честота на ОМЛ в САЩ е приблизително 4.3/100,000 годишно [12]. Честотата на заболяването нараства с напредване на възрастта. Според литературни данни средната възраст на пациентите е между шестата и седмата декада от живота - 68 години [4-5,11].

В България данните за новооткритите случаи с ОМЛ са оскъдни, тъй като са базирани върху различни възрастови кохорти, специфични генетични маркери, свързани с левкемията или са отделни кли-

нични случаи. Проучване, публикувано от български колектив съобщава за 50,6% новооткрити и вторични ОМЛ при възрастни пациенти >65г. от всички ОМЛ случаи за период на наблюдение от 3 години [13].

По-често се засяга мъжкия пол в съотношение 1.3:1 спрямо женския пол [14,15]. Засега етиологичната причина остава все още неясна. Редица автори доказват връзка между мъжкия пол и натрупването на прелевкемични мутации, свързани с развитието на ОМЛ като комплексен кариотип, ASXL1, SRSF2, U2AF1, RUNX1 и KIT мутации [16,17]. По отношение на расовото разпределение научните данни сочат, че честотата на ОМЛ е по-висока при европеидната раса (4.3 на 100 000 души) спрямо афро-американци (3.5) и монголоидна раса (3.4) [18]. Наскоро публикувано проучване обобщава данни, че сред хематологичните неоплазии с най-висока смъртност през 2019г е острата миелоидна левкемия [15].

През последните 30 години се наблюдава голям напредък в лабораторните техники за диагностициране на ОМЛ в т.ч. се включват иновативни подходи като имунофенотипизацията на бластните клетки, молекулярно-генетични изследвания и NGS (next-generation sequencing) за рискова стратификация. Благодарение на тези диагностични методи пациентите с ОМЛ се класифицират в различни прогностични и рискови групи и съответно се прилага индивидуализиран терапевтичен подход. Въпреки това възрастните пациенти с ОМЛ се оформят като групата с най-голямо терапевтично предизвикателство, тъй като не са подходящи за провеждане на интензивна химиотерапия. Причината за това се крие във факта, че с напредване на възрастта се натрупват допълнителни генетични аберации и се появяват съпътстващи заболявания. Промяната във функциите на редица епигенетични и транскрипционни фактори, кинази и регулатори на клетъчни цикъл имат ключова роля в мутационния статус на ОМЛ при по-възрастни пациенти, което налага и различен терапевтичен подход спрямо по-младите.

КЛАСИФИКАЦИЯ

Острата миелоидна левкемия включва хетерогенна група от подтипове, които се отличават по морфологични, имунофенотипни и генетични особености. За първи път през 1976г. Bennet и сътрудници, я класифицират основно според морфологичните белези [19]. По този начин е създадена първата FAB (French-American-British) класификация на ОМЛ, която е базирана на цитологичните характеристики на незрелите миелоидни прекурсори и цитохимични оцветявания. Впоследствие са установени множество цитогенетични маркери, които имат значение за разграничаването на отделни подгрупи ОМЛ и това налага въвеждането на класификация на хематологичните и лимфоидни малигнени заболявания на Световната Здравна Организация (СЗО) [20,21]. По този начин новата класификация на СЗО интегрира морфологични, имунофенотипни, молекулярни, биологични и клинични фактори, за да разграничи отделните подгрупи на ОМЛ. През 2022 класификацията на СЗО е

за пореден път ревизирана, основавайки се новите открития в патофизиологичните механизми на развитие на ОМЛ [22]. Добавени са нови молекулярни и генетични маркери, които оказват своето прогностично значение при стратифициране на прогностичните рискови подгрупи и това налага включването им в ежедневната практика. Допълнително през същата година е формирана нова ICC (International Consensus Classification) класификация, чиято цел е да улесни диагностичния процес, да определи прогностични субгрупи и съответно да се подобрят терапевтичните резултати посредством възможността за провеждане на прецизирано индивидуализирано лечение [23]. Двете класификации по СЗО и ICC имат своите различия, но общата им цел е да включват нови молекулярни аномалии и по този начин да се приложи съответната таргетна терапия.

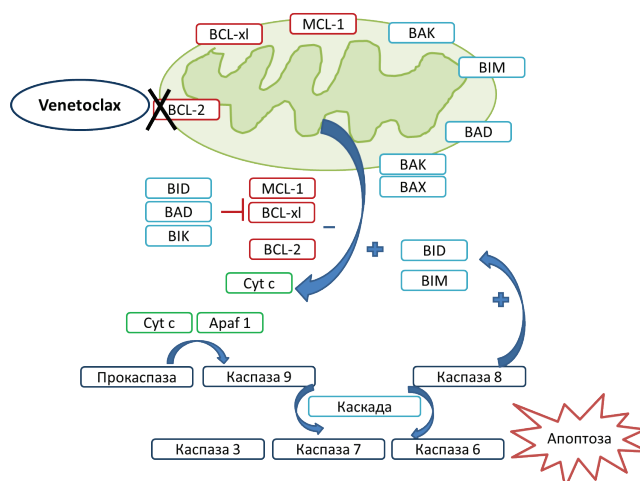
Откриването на нови молекулярни маркери при ОМЛ и резултатите от клинични изпитвания налагат ревизирането на препоръките за рисковата стратификация през 2022 г. Установено е, че цитогенетичните аномалии се срещат в около 50-60% от случаите с ОМЛ и се асоциират с клиничния изход и прогнозата [6]. Преди около 20 години пациентите в напреднала възраст (над 65 години) бяха лекувани с най-добро поддържащо лечение със средна продължителност на живота около 3 месеца или дори по-малко [2, 24-25].

ЛЕВКЕМОГЕНЕЗА

Така преди около две декади, Gilliland и Griffin въвеждат „модела на двойния удар“, който се основава на това, че мутации от два независими класа допринасят синергично за развитието на ОМЛ [26]. В тази връзка клас I мутациите (FLT3, c-KIT, NRAS) активират сигнални трансдукционни пътища и водят до пролиферационно предимство на хемopoетичните прогениторни клетки. Докато клас II мутациите, в това число рекурентни хромозомни аберации, продуциращи фузионни транскрипти) засягат транскрипционни фактори и предизвикват нарушена диференциация и последваща апоптоза. Точното разграничаване на двата класа мутации е трудно [27]. В допълнение през последните години благодарение на геномното секвениране се откриха нови епигенетични гени, свързани с ОМЛ като MLL1 (mixed-lineage leukemia 1), ASXL транскрипционен регулатор 1, EZH2 (enhancer of zeste homolog 2), гени, асоциирани с метилирането - DNMT3A (ДНК метилтрансфераза 3 алфа), TET2, IDH1/2 (изоцитрат дехидрогеназа 1/2), които допринасят за молекулярната хетерогенност на заболяването. Понеже моделът на Gilliland и Griffin се оказва недостатъчен за обяснение на левкемогенезата, възниква нова хипотеза, която се основава на 3 мутации, свързани с ОМЛ [28]. Според тази функционална класификация първите „мутации тип А“ от фузионни гени са необходими за инициране или поддържане на левкемичния фенотип, „мутации тип В“ (ABL, PDGFR, KIT, FLT3 и др.) подпомагат неопластичната пролиферацията и оцеляване и „мутации тип С“ (епигенетични модификатори), които осигуряват предимство в рас-

тежа, но все още не са достатъчни за индуциране на левкемия [29]. Счита се, че клоналната еволюция е процес на загуба на специфични мутации или поява на нови генетични аномалии. Левкемичните стволови клетки са високо резистентни към химиотерапия, тъй като се намират основно във фаза на покой (G0 фаза) от клетъчния цикъл и експресират протеини като p-gp (p-гликопротеин) и BCL-2 (B-cell leukemia/lymphoma 2) [7].

Протеините от семейството на BCL-2 се характеризират с ключова роля във вътрешния митохондриален апоптичен път [30]. Те са съставени от 3 подгрупи – антиапоптични, проапоптични и регулаторни (BH3) протеини. Неправилната BCL-2 свръхекспресия се отличава с терапевтична резистентност на левкемичните клетки и се асоциира с неблагоприятна прогноза. Активирането на вътрешния път на програмирана клетъчна смърт се активира от динамичен баланс между проапоптичните ефектори (BAK, BAX) и антиапоптичните протеини (BCL-2, BCL-XL, MCL-1). Свързването на регулаторния BH3 протеин към проапоптичните протеини BAX/BAK води до пропускливост на митохондриалната външна мембрана посредством формиране на пори и освобождаване на цитохром С, последвано от активиране на каспазата и настъпване на протеолиза и апоптоза (Фигура 1.).



Фигура 1. Схема на механизма на действие на Venetoclax (адаптация по Guerra et al., 2019)

Целта на иновативните малки молекули “BH3-миметици” е да се свърже с антиапоптичните протеини в BH3 домейна и да се освободят проапоптични белтъци, които да индуцират програмирана клетъчна смърт. Молекулата на Venetoclax представлява специфичен BCL-2 инхибитор без проява на афинитет към BCL-XL или MCL-1. В предклинични изпитвания е установена синергична проява на клетъчната смърт от HMA и BCL-2 инхибитори. Azacitidine понижава нивата на MCL-1, което може да доведе до резистентност към BCL-2 инхибитори. Чрез индукция на NOXA, Azacitidine може да “подготви” левкемичните клетки за Venetoclax - индуцирана апоптоза. Допълнително, Azacitidine и BCL-2 инхибиторите се характеризират със синергично действие на активиране на BAX и

развитие на митохондриална апоптоза.

ПРОГНОСТИЧНИ ФАКТОРИ

Прогностичните фактори, асоциирани с преживяемостта на пациенти с ОМЛ се разделят в 2 основни подгрупи – от една страна свързани с пациента (възраст, съпътстващ коморбидитет, функционален статус), а от друга свързани със заболяването (клинични характеристики и биологични белези като цитогенетични мутации). Геномното профилиране, както и секвенирането на дезоксирибонуклеинова киселина (ДНК) и рибонуклеинова киселина (РНК) спомагат за доразвиването на познанията относно онкогенните мутации. Факторите, свързани със заболяването, като левкемичните генетични промени и изходния брой на белите кръвни клетки, са предиктивни за изявата на терапевтична резистентност, влошен клиничен отговор и неблагоприятен клиничен изход.

ОЦЕНКА НА КАЧЕСТВОТО НА ЖИВОТ

Пациентите, които са неподходящи за интензивна химиотерапия се оценяват по определени физически способности - функционални статуси по ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) и Karnofsky, краткия тест за физически способности [SPBB]), съпътстващи заболявания (напр. индекса за коморбидни състояния на Charlson [CCI]) и когнитивно функциониране) (Таблица 1.) [31]. Към момента липсва единно мнение относно обективната оценка на пациентите за неинтензивна химиотерапия, но съществуват препоръки, базирани на реални данни и експертни мнения. Определени модели за оценка на състоянието преди стартиране на лечението са разработени, въпреки че все още не са валидирани (Таблица 2.) [32]. Прогностичните фактори, свързани със заболяването или пациента, са от ключово значение за решението на лекарите относно избора на подходящата терапия.

Критерий	Дефиниция
1.	Над 75 години
2.	Застойна сърдечна недостатъчност или документирана кардиомиопатия с фракция на изтласкване $\leq 50\%$
3.	Документирано пулмонално заболяване с капацитет на белите дробове за дифузия на въглероден монооксид $\leq 65\%$ и форсиран експираторен обем за 1 секунда $\leq 65\%$ или диспнея при покой, налагаща кислород, или каквото и да е плеврално новообразуване, или неконтролирано белодробно новообразуване
4.	Диализа и възраст над 60 години или неконтролиран бъбречен карцином

5.	Цироза на черния дроб (Child-Pugh B или C) или документирано чернодробно заболяване с ясно завишени нива на трансаминази (3 пъти над нормата) и възраст над 60 години, или каквото и да е карцином на билиарното дърво/ неконтролиран чернодробен карцином/ остър вирусен хепатит
6.	Активна инфекция, резистентна към терапия
7.	Текущо психическо заболяване, налагащо психиатрична хоспитализация или интензивно извънболнично лечение, или когнитивен статус, създаващ зависимост към грижещия се за пациента (потвърдено от специалист)
8.	Функционален статус по ECOG ≥ 3 (несвързан с левкемия)
9.	Друго съпътстващо заболяване, което лекуващия лекар смята за несъвместимо с конвенционална интензивна терапия

Таблица 1. Критерии за определяне на неподходящите за интензивна химиотерапия пациенти с остра миелоидна левкемия (необходимо е наличието на поне един от тях) (Адаптация по Ferrara et al., 2013)

	Измерена характеристика
Пациенти в недобро физическо състояние	• ECOG ≥ 3 • Нарушени ежедневни дейности • Значително съпътстващо заболяване (измерено чрез индекса за коморбидни състояния на Charlson или индекса за съпътстващи заболявания при хематопоеична трансплантация на стволови клетки)
Уязвими пациенти	• ECOG < 3 без значително съпътстващо заболяване) • Нарушено физическо функциониране, измерено чрез обективен тест (скор при кратък тест на физическите способности < 9) • Нарушени когнитивни способности (скор по теста за мини-психическо състояние < 77)

Пациенти в добро физическо състояние	Липса на споменатите рискови фактори
--------------------------------------	--

Таблица 2. Рискова стратификация при неподходящите за интензивна терапия пациенти с остра миелоидна левкемия (Модификация по Klepin et al., 2014)

Според литературни източници освен широкоразпространената функционална оценка по ECOG се прилага и гериатрична оценка (GA). По нея се оценяват текущите терапии, проведени на пациента, функционалният статус, съпътстващи заболявания, когнитивни способности, хранителен статус, психическо състояние и социална подкрепа [33,34]. Според препоръките на NCCN (National Comprehensive Cancer Network) едновременно приложение на тестовете GA и ECOG обхваща по-комплексно цялостния функционален статус на пациента. Според Loh и сътрудници GA прогнозира резултати като химиотерапевтична токсичност, преустановяване на лечението, увеличен брой хоспитализации. Качеството на живот (QoL) и психосоциалното здраве са от особена важност за пациентите с ОМЛ, както и за грижещите се за тях. Умората и физическото функциониране често са понижени при ОМЛ. Лошо качество на живот, свързано със здравето (HRQoL) се среща често след осъзнаването на първоначалната диагноза, както и по време на индукционната терапия. Умората представлява важен проблем, независимо от фазата на лечение или статуса на заболяването [35]. Колкото по-изразена е умората преди започването на терапията, толкова по-ниска е очакваната преживяемост на пациентите, независимо от възрастта [36].

От друга страна причина за влошеното психосоциално здраве е наложителността за бързо лечение, както и от последващата нужда на пациента да бъде информиран относно на всички терапевтични възможности [37]. HRQoL при ОМЛ се оценява със специфични за неоплазия/левкемия инструменти, както и общи HRQoL тестове [35,38-39]. Такива изследвания включват въпросници за качеството на живот на Европейската организация за изследване и лечение на рака (EORTC QLQ-C30), краткият въпросник за оценка на здравословното състояние с 12 елемента (SF-12), функционалната оценка на антималигнената терапия (FACT), както и други тестове. Допълнителни проучвания са разработени върху информационната система за измерване на резултатите, докладвани от пациентите (PROMIS) и визуалната аналогова скала на EuroQol (EQ-VAS) [40]. Пациентите с ОМЛ се характеризират с влошено качество на живот спрямо общата популация по всички скали на EORTC QLQ-C30 и EQ-VAS [40].

В допълнение, физическото функциониране, ролевото функциониране, когнитивното функциониране и социалното функциониране са с поне 10 точки по-ниски при пациентите с ОМЛ. HRQoL при ОМЛ като цяло е по-ниско спрямо това на пациенти с други видове неопластично заболяване [41]. HRQoL се отличава с най-ниска стойност по време на диагностицирането

на пациента с ОМЛ и през терапевтичния процес [35]. По-кратката обща преживяемост се асоциира с понижено HRQoL по време на първоначалната диагноза [38]. Пациентите на поне 60-годишна възраст имат клинична депресия и страдат от тревожност след поставената диагноза. Тези състояния се подобряват в хода на терапията [42]. Тежестта на симптомите по отношение на умората, тревожността и неспособността на пациента да работи или да участва в ежедневни дейности се влошава с наближаването на фатален край [43]. Според проучване на Alibhai и сътрудници при постигането на пълна ремисия след индукционна терапия, HRQoL се подобрява [44].

Литературният преглед показва твърде оскъден брой публикувани доклади, които да съобщават за HRQoL при пациенти с ОМЛ, неподходящи за индукционна терапия. Смята се, че HRQoL спада при повишен брой съпътстващи заболявания, прогресия на заболяването и рецидив. В едно проучване се твърди, че HRQoL е влошено при пациенти с ОМЛ, неподходящи за стандартна индукционна терапия [38]. Друг изследователски екип съобщава за сходно ниво на QoL при сравняване на новодиагностицирани възрастни пациенти с ОМЛ, лекувани с неинтензивна химиотерапия (т.е. получаващи хипометилиращи медикаменти) спрямо друга група на интензивна химиотерапия [42]. Отчетено е QoL на изходно ниво и 24 седмици след поставяне на диагнозата. Очаква се, че успешното лечение на AML може да доведе до повишено QoL, ако бъдат избегнати нежелани събития и/или рецидив [45].

БЪДЕЩИ ТЕРАПЕВТИЧНИ ВЪЗМОЖНОСТИ

През последните години се въведоха или все още са част от клинични изпитвания нови таргетни молекули за лечение на възрастни пациенти. В това число са включени FLT3-инхибитори (fms-like tyrosine kinase 3) (Sorafenib, Midostaurin, Gilteritinib), IDH инхибитори (Enasidenib, Ivosidenib), APR246 (TP53 модулатор), моноклонално анти CD47 анти тяло (Magrolimab), което усилва макрофаг-медираната фагоцитоза, CPX 351 (липозомална формула на фиксирани дози Cytarabine и Daunorubicine), селективен инхибитор на hedgehog сигнален път (Glasdegib) [46, 47]. С цел намаляване на левкемичния товар в различни клинични изпитвания се разработват комбинации от синергично действащи медикаменти, вкл. биспецифични антители, имунни checkpoint инхибитори и ваксини.

Данните от клинични проучвания демонстрират благоприятни клинични отговори и изход от ОМЛ, както и редуция на нежеланите странични реакции при лечение с таргетна терапия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биологичната хетерогенност и клиничната характеристика на ОМЛ налага търсенето на индивидуализиран подход при лечението на пациенти в напреднала възраст, съпътстващи заболявания и влошено качество на живот. Позитивните резултати от все по-

вече и разнообразни клинични изпитвания ще позволят в най-скоро време преоценка на стандартите за лечение на възрастни хора с ОМЛ, неподходящи за интензивна терапия.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Мартин Дончев
 Специализирана Болница за Активно Лечение на
 Хематологични Заболявания – гр. София
 Бул. “Климент Охридски” 1
 Тел.: 0877 676134
 e-mail: martin.donchev@abv.bg

Corresponding address:

Dr. Martin Donchev
 Specialized Hospital for Active Treatment
 of Hematology Diseases - Sofia
 Kliment Ohridski Blvd 1A
 Tel.: +359 877 676134
 e-mail: martin.donchev@abv.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

- Alibhai S.M., Leach M., Minden M.D., Brandwein J. Outcomes and quality of care in acute myeloid leukemia over 40 years. *Cancer*. 2009;115(13):2903–2911.
- Menzin J., Lang K., Earle C.C., Kerney D., Mallick R. The outcomes and costs of acute myeloid leukemia among the elderly. *Arch. Intern Med*. 2002;162(14):1597–1603.
- Almeida AM, Ramos F. Acute myeloid leukemia in the older adults. *Leuk Res Rep*. 2016 Jun 16;6:1-7. doi: 10.1016/j.lrr.2016.06.001. PMID: 27408788; PMCID: PMC4927655.
- Shimony S, Stahl M, Stone RM. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2023 Mar;98(3):502-526. doi: 10.1002/ajh.26822. Epub 2023 Jan 13. PMID: 36594187.
- Sasaki K, Ravandi F, Kadia TM, DiNardo CD, Short NJ, Borthakur G, Jabbour E, Kantarjian HM. De novo acute myeloid leukemia: A population-based study of outcome in the United States based on the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) database, 1980 to 2017. *Cancer*. 2021 Jun 15;127(12):2049-2061. doi: 10.1002/cncr.33458. Epub 2021 Apr 5. PMID: 33818756.
- Kantarjian H, Kadia T, DiNardo C, et al. Acute myeloid leukemia: current progress and future directions. *Blood Cancer J*. 2021;11(2):41. Published 2021 Feb 22. doi:10.1038/s41408-021-00425-3
- Carter JL, Hege K, Yang J, et al. Targeting multiple signaling pathways: the new approach to acute myeloid leukemia therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2020;5(1):288. Published 2020 Dec 18. doi:10.1038/s41392-020-00361-x
- Wei Y, Cao Y, Sun R, Cheng L, Xiong X, Jin X, He X, Lu W, Zhao M. Targeting Bcl-2 Proteins in Acute Myeloid Leukemia. *Front Oncol*. 2020 Nov 5;10:584974. doi:10.3389/fonc.2020.584974. PMID: 33251145; PMCID: PMC7674767.
- Krug U, Büchner T, Berdel WE, Müller-Tidow C. The treatment of elderly patients with acute myeloid leukemia. *Dtsch Arztebl Int*. 2011;108(51-52):863-870. doi:10.3238/arztebl.2011.0863
- Deschler B, Lübbert M. Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. *Acute Leukemias*. 2008:47–56. doi: 10.1007/978-3-540-72304-2_3. PMCID: PMC7123906.
- Jani CT, Ahmed A, Singh H, Mouchati C, Al Omari O, Bhatt PS, Sharma R, Farooq M, Liu W, Shalhoub J, Marshall D, Saliccioli JD, Warner JL, Lam P. Burden of AML, 1990-2019: Estimates From the Global Burden of Disease Study. *JCO Glob Oncol*. 2023 Sep;9:e2300229. doi: 10.1200/GO.23.00229. PMID: 37992271; PMCID: PMC10681472.
- Shallis RM, Wang R, Davidoff A, Ma X, Zeidan AM. Epidemiology of acute myeloid leukemia: Recent progress and enduring challenges. *Blood Rev*. 2019 Jul;36:70-87. doi: 10.1016/j.blre.2019.04.005. Epub 2019 Apr 29. PMID: 31101526.
- Горанова-Маринова В., Спасов Е., Сотирова К., Георгиев П., Сапунарова К., Гръкланов В., Димитрова М., Бабачева В., Петров М., Иванова Х., Грудева-Попова Ж. Клинична характеристика и терапевтични резултати при пациенти с остра миелоидна левкемия – данни от един университетски център за период от три години. *Хематология* 2023, LX (1-2);60-67
- Stabellini N, Tomlinson B, Cullen J, Shanahan J, Waite K, Montero AJ, Barnholtz-Sloan JS, Hamerschlag N. Sex differences in adults with acute myeloid leukemia and the impact of sex on overall survival. *Cancer Med*. 2023 Mar;12(6):6711-6721. doi: 10.1002/cam4.5461. Epub 2022 Nov 23. PMID: 36419242; PMCID: PMC10067038.
- Zhang N, Wu J, Wang Q, Liang Y, Li X, Chen G, Ma L, Liu X, Zhou F. Global burden

of hematologic malignancies and evolution patterns over the past 30 years. *Blood Cancer J*. 2023 May 17;13(1):82. doi: 10.1038/s41408-023-00853-3. PMID: 37193689; PMCID: PMC10188596.

- Ozga M, Nicolet D, Mrózek K, Yilmaz AS, Kohlschmidt J, Larkin KT, Blachly JS, Oakes CC, Buss J, Walker CJ, Orwick S, Jurinovic V, Rothenberg-Thurley M, Dufour A, Schneider S, Sauerland MC, Görlisch D, Krug U, Berdel WE, Woermann BJ, Hiddemann W, Braess J, Subklewe M, Spiekermann K, Carroll AJ, Blum WG, Powell BL, Kolitz JE, Moore JO, Mayer RJ, Larson RA, Uy GL, Stock W, Metzeler KH, Grimes HL, Byrd JC, Salomonis N, Herold T, Mims AS, Eisfeld AK. Sex-associated differences in frequencies and prognostic impact of recurrent genetic alterations in adult acute myeloid leukemia (Alliance, AMLCG). *Leukemia*. 2024 Jan;38(1):45-57. doi: 10.1038/s41375-023-02068-8. Epub 2023 Nov 28. PMID: 38017103; PMCID: PMC10776397.
- De-Morgan A, Meggendorfer M, Haferlach C, Shlush L. Male predominance in AML is associated with specific preleukemic mutations. *Leukemia*. 2021;35:867–70
- Kirtane K, Lee SJ. Racial and ethnic disparities in hematologic malignancies. *Blood*. 2017 Oct 12;130(15):1699-1705. doi: 10.1182/blood-2017-04-778225. Epub 2017 Jul 19. PMID: 28724539; PMCID: PMC5639484.
- Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol*. 1976;33(4):451–458.
- Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissue. Lyon, France: IACR; 2001.
- Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937–951.
- Khoury JD, Solary E, Abila O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF, Bejar R, Berti E, Busque L, Chan JKC, Chen W, Chen X, Chng WJ, Choi JK, Colmenero I, Coupland SE, Cross NCP, De Jong D, Elghetany MT, Takahashi E, Emile JF, Ferry J, Fogelstrand L, Fontenay M, Germing U, Gujral S, Haferlach T, Harrison C, Hodge JC, Hu S, Jansen JH, Kanagal-Shamanna R, Kantarjian HM, Kratz CP, Li XQ, Lim MS, Loebe K, Loghavi S, Marcogliese A, Meshinchi S, Michaels P, Naresh KN, Natkunam Y, Nejati R, Ott G, Padron E, Patel KP, Patkar N, Picarsic J, Platzbecker U, Roberts I, Schuh A, Sewell W, Siebert R, Tembhare P, Tyner J, Verstovsek S, Wang W, Wood B, Xiao W, Yeung C, Hochhaus A. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul;36(7):1703-1719. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1. Epub 2022 Jun 22. PMID: 35732831; PMCID: PMC9252913.
- Arber DA, Orazi A, Hasserjian RP, Borowitz MJ, Calvo KR, Kvasnicka HM, Wang SA, Bagg A, Barbui T, Branford S, Bueso-Ramos CE, Cortes JE, Dal Cin P, DiNardo CD, Dombret H, Duncavage EJ, Ebert BL, Estey EH, Faccchetti F, Foucar K, Gangat N, Giannelli U, Godley LA, Gökbüget N, Gotlib J, Hellström-Lindberg E, Hobbs GS, Hoffman R, Jabbour EJ, Kiladjan JJ, Larson RA, Le Beau MM, Loh ML, Löwenberg B, Macintyre E, Malcovati L, Mullighan CG, Niemeyer C, Odenike OM, Ogawa S, Orfao A, Papaemmanuil E, Passamonti F, Porkka K, Pui CH, Radich JP, Reiter A, Rozman M, Rudelius M, Savona MR, Schiffer CA, Schmitt-Graeff A, Shimamura A, Sierra J, Stock WA, Stone RM, Tallman MS, Thiele J, Tien HF, Tzankov A, Vannucchi AM, Vyas P, Wei AH, Weinberg OK, Wierzbowska A, Cazzola M, Döhner H, Tefferi A. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood*. 2022 Sep 15;140(11):1200-1228. doi: 10.1182/blood.20220115850. PMID: 35767897; PMCID: PMC9479031.
- Juliusson G, Antunovic P, Derolf A, et al. Age and acute myeloid leukemia: real world data on decision to treat and outcomes from the Swedish Acute Leukemia Registry. *Blood*. 2009;113(18):4179-4187. doi:10.1182/blood-2008-07-172007
- Schiffer CA. „I am older, not elderly,” said the patient with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol*. 2010;28(4):521-523. doi: 10.1200/JCO.2009.25.8616
- Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood*. 1 Sep 2002;100(5):1532-1542. DOI: 10.1182/blood-2002-02-0492 PMID: 12176867
- Naoe T, Kiyoi H. Gene mutations of acute myeloid leukemia in the genome era. *International Journal of Hematology*. Feb 2013;97(2):165-174. DOI: 10.1007/s12185-013-1257-4 Epub 2013 Jan 29. PMID: 23359299
- Fisher JN, Kallada N, Stavropoulou V, Schwaller J. The impact of the cellular origin in acute myeloid leukemia: Learning from mouse models. *HemaSphere*. 2019;3(1):e152
- Davidkova Y, Jagurinoski M, Balatzenko G, Guenova M. Roads of Drug Resistance in Acute Myeloid Leukemia - Is It Dead End? [Internet]. *Leukemia - From Biology to Clinic*. IntechOpen; 2023. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.109304
- Guerra VA, DiNardo C, Konopleva M. Venetoclax-based therapies for acute myeloid leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2019;32(2):145-153. doi:10.1016/j.beha.2019.05.008
- Ferrara F, Barosi G, Venditti A, et al. Consensus-based definition of unfit to intensive and non-intensive chemotherapy in acute myeloid leukemia: a project of SIE, SIES and GITMO group on a new tool for therapy decision making. *Leukemia*. 2013;27(5):997-999. doi:10.1038/leu.2012.303
- Klepin HD. Geriatric perspective: how to assess fitness for chemotherapy in acute myeloid leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2014;2014(1):8-13. doi:10.1182/asheducation-2014.1.8
- Extermann M, Hurria A. Comprehensive geriatric assessment for older patients with cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(14):1824-1831. doi: 10.1200/JCO.2007.10.6559.
- Loh KP, Klepin HD. Geriatric Assessment in Older Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Cancers (Basel)*. 2018;10(7):225. Published 2018 Jul 6. doi:10.3390/cancers10070225

35. Korol EE, Wang S, Johnston K, Ravandi-Kashani F, Levis M, van Nooten F. Health-Related Quality of Life of Patients with Acute Myeloid Leukemia: A Systematic Literature Review. *Oncol Ther*. 2017;5(1):1-16. doi:10.1007/s40487-016-0039-6
36. Lacourt TE, Kavelaars A, Ohanian M, et al. Patient-reported fatigue prior to treatment is prognostic of survival in patients with acute myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2018;9(58):31244-31252. doi:10.18632/oncotarget.25787
37. LeBlanc TW, Fish LJ, Bloom CT, et al. Patient experiences of acute myeloid leukemia: A qualitative study about diagnosis, illness understanding, and treatment decision-making. *Psychooncology*. 2017;26(12):2063-2068. doi:10.1002/pon.4309
38. Bosshard R, O'Reilly K, Ralston S, Chadda S, Cork D. Systematic reviews of economic burden and health-related quality of life in patients with acute myeloid leukemia. *Cancer Treat Rev*. 2018;69:224-232. doi:10.1016/j.ctrv.2018.07.005
39. Buckley SA, Kirtane K, Walter RB, Lee SJ, Lyman GH. Patient-reported outcomes in acute myeloid leukemia: Where are we now? *Blood Rev*. 2018;32(1):81-87. doi:10.1016/j.blre.2017.08.010
40. Cook KF, Jensen SE, Schalet BD, et al. PROMIS measures of pain, fatigue, negative affect, physical function, and social function demonstrated clinical validity across a range of chronic conditions. *J Clin Epidemiol*. 2016;73:89-102. doi:10.1016/j.jclinepi.2015.08.038
41. Scott NW, Fayers PM, Aaronson NK, et al. EORTC QLQ-C30 Reference Values. *EORTC Qual Life Study Gr*. 2008;(July).
42. El-Jawahri A, Abel GA, Traeger L, et al. Quality of life and mood of older patients with acute myeloid leukemia (AML) receiving intensive and non-intensive chemotherapy. *Leukemia*. 2019;33(10):2393-2402. doi:10.1038/s41375-019-0449-1
43. Lowe JR, Yu Y, Wolf S, Samsa G, LeBlanc TW. A Cohort Study of Patient-Reported Outcomes and Healthcare Utilization in Acute Myeloid Leukemia Patients Receiving Active Cancer Therapy in the Last Six Months of Life. *J Palliat Med*. 2018;21(5):592-597. doi:10.1089/jpm.2017.0463
44. Alibhai SMH, Leach M, Gupta V, et al. Quality of life beyond 6 months after diagnosis in older adults with acute myeloid leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2009;69(2):168-174. doi:10.1016/j.critrevonc.2008.07.015
45. Forsythe A, Kwon CS, Bell T, Smith TA, Arondekar B. Health-related quality of life in acute myeloid leukemia patients not eligible for intensive chemotherapy: results of a systematic literature review. *Clin Outcomes Res*. 2019;Volume 11:87-98. doi:10.2147/CEOR.S187409
46. Kantarjian H, Kadia T, DiNardo C, et al. Acute myeloid leukemia: current progress and future directions. *Blood Cancer J*. 2021;11(2):41. Published 2021 Feb 22. doi:10.1038/s41408-021-00425-3
47. Labbozzetta M, Poma P, Notarbartolo M. Natural Inhibitors of P-glycoprotein in Acute Myeloid Leukemia. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 18;24(4):4140. doi: 10.3390/ijms24044140. PMID: 36835550; PMCID: PMC9962603.

ХЕМОФАГОЦИТНА ЛИМФОХИСТИОЦИТОЗА АСОЦИИРАНА С МАЛИГНЕНИ ХЕМОПАТИИ – КЪСНО РАЗПОЗНАВАЕМ СИНДРОМ С НЕУТОЧНЕНО ЛЕЧЕНИЕ И БЪРЗ ФАТАЛЕН ИЗХОД

Ст. Горанов¹, В. Горанова – Маринова², Г. Чинчев³

1 – Централ Онко хоспитал - Пловдив;

2 – Клиника по хематология, МУ, УМБАЛ „Св Георги“ –Пловдив;

3 – Централ Онко хоспитал - Хематологично отделение;

HEMOPHAGOCYTIC LYMPHOHISTIOCYTOSIS ASSOCIATED WITH MALIGNANT HEMOPATHIES – A LATE RECOGNIZED SYNDROME WITH UNSPECIFIED TREATMENT AND RAPID FATAL OUTCOME

St. Goranov¹, V. Goranova – Marinova², G. Chincev³

1 – Central Onco Hospital - Plovdiv;

2 – Clinic of Clinical Hematology, UMBAL «St. George», MU – Plovdiv;

3 – Central Onco Hospital - Plovdiv, Hematology Department;

Резюме. Наследствените първични (pHLH) и вторични хемофагоцитни лимфохистиоцитози (sHLH) са изключително редки, но живозастрашаващи синдроми. В патогенетичен аспект е налице имунна хиперреакция, поради неконтролирано активиране и ектопична миграция на цитотоксични CD8 + Т клетки, натурални клетки убийци (NK) и макрофаги с абнормна секреция на цитокини. Установява се загуба на ефекторните функции на NK за елиминиране на вирусно инфектираните и активирани дендритни, моноцитни и Т клетки, т.е. за невъзможността за ограничаване на системния възпалителен отговор. Малигнено свързаната лимфохистиоцитоза (М- HLH) се среща при 1% от кръвните неоплазии, като честотата на подлежащите на В- и Т/ NK -клетъчни лимфоми са съответно 31,5% и 35,2%. Преживяемостта е отчайващо ниска – около 2 месеца, като по-малко от 20% преживяват 1 г. М- HLH може да се диагностицира в дебюта, във всички етапи от лечението (индукция, консолидация, поддържаща терапия, след СКТ) или при рецидив на малигнените миело – и лимфопролиферативни неоплазии. При М- HLH се включват специфични за неоплазията патогенетични механизми като персистираща антигенна стимулация от туморните клетки и нарушена имунна хомеостаза поради химиотерапия, имунотерапия, СКТ или насложена инфекция. Комбинацията от клетъчен лизис и секреция на цитокини от неоплазийните клетки и Т инфилтриращите лимфоцити и макрофаги може да бъде достатъчна, за да предизвика глобална имунна дисрегулация. В патогенезата на М- HLH са добавят и активиране на сигналния трансдуктор NF-κB, както и на системата JAK-STAT със засилени сигнали за секреция на цито/хемокини. М- HLH е малко позната и е изключително предизвикателство в диагностичен и терапевтичен аспект. Настоящият обзор разглежда съвременните патогенетични механизми при М- HLH, методите за диагностика и препоръките за лечение

Ключови думи: хемофагоцитни лимфохистиоцитози, малигнено асоциирани лимфохистиоцитози, цитокинна буря

Abstract. Hereditary primary (pHLH) and secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis (sHLH) are extremely rare but life-threatening syndromes. In a pathogenetic aspect, there is an immune hyperreaction due to uncontrolled activation and ectopic migration of cytotoxic CD8 + T cells, natural killer (NK) cells and macrophages with abnormal cytokine secretion. Loss of NK effector functions to eliminate virally infected and activated dendritic cells, monocytes and T cells, i.e. the inability to limit the systemic inflammatory response. Malignant-associated lymphohistiocytosis (M-HLH) occurs in 1% of blood malignancies, with the incidence of underlying B- and T/NK-cell lymphomas being 31.5% and 35.2%, respectively. Survival is dismally low - about 2 months, with less than 20% surviving 1 year. M-HLH can be diagnosed at the onset, at all stages of treatment (induction, consolidation, maintenance therapy, after SCT) or at relapse of malignant myelo- and lymphoproliferative neoplasms. M-HLH involves neoplasia-specific pathogenetic mechanisms such as persistent antigenic stimulation by tumor cells and impaired immune homeostasis due to chemotherapy, immunotherapy, SCT, or superimposed infection. The combination of cell lysis and cytokine secretion by neoplastic cells and T infiltrating lymphocytes and macrophages may be sufficient to induce global immune dysregulation. In the pathogenesis of M-HLH, activation of the signal transducer NF-κB as well as the JAK-STAT system with enhanced signals for cyto/chemokine secretion have been implicated. M-HLH is little known and extremely challenging in diagnostic and therapeutic aspects. This review examines the current pathogenetic mechanisms in M-HLH, diagnostic methods, and treatment recommendations.

Key words: hemophagocytic lymphohistiocytosis, malignant associated lymphohistiocytosis, cytokine storm

ВЪВЕДЕНИЕ

Хистиоцитозите са редки заболявания, характеризиращи се с натрупване на макрофаги, дендритни или моноцитни клетки в различни тъкани на деца и възрастни. Описани са повече от 100 различни подтипа с широк спектър от клинични прояви и хистологични находки. Хемофагоцитната лимфохистиоцитоза (HLH) е рядко животозастрашаващо състояние на имунна хиперреакция, резултат от неконтролирано активиране и ектопична миграция на цитотоксични CD8 + Т клетки, натурални клетки убийци (NK) и макрофаги с абнормна секреция на цитокини. Цитокинна буря предизвиква увреждане на различни органи и системи с тежко нарушение в тяхната функция и най-често с фатален изход

Първото описание на HLH е от Scott и Robb-Smith през 1939 г. които представят четирима възрастни пациенти с фебрилитет, лимфаденомегалия, сплено- и хепатомегалия, жълтеница, пурпура, анемия и левкопения. Патоанатомичното изследване показва множество хистиоцити, погълнали еритроцитите (еритрофагоцитоза). Авторите предполагат, че находката представлява атипична форма на болестта на Ходжкин и я наричат „хистиоцитна медуларна ретикулоза“¹ HLH се представя в две основни форми първична/фамилна (рHLH) и вторична (sHLH. рHLH обединява няколко състояния, свързани с дефекти в гени (*PRF1*, *MUNC13D*, *STX11*, *STXBP2*) кодиращи сигнални протеини, участващи в инактивиране на имунната система. рHLH се унаследява автозомно рецесивно и боледуват предимно деца. Вторичната sHLH засяга възрастни пациенти и е свързана с широк спектър от инфекциозни, автоимунни, злокачествени и метаболитни заболявания, придобити имунни дефицити (като СПИН, ятрогенна имунна супресия, трансплантация на органи или стволови клетки), както и някои медикаменти. Доскоро не бяха известни патогенетично значими мутационни дефекти при възрастните с sHLH, но в последните години се доказват такива в 14 -22% от пациентите. Понастоящем се приема, че придобитата sHLH при възрастни също може да бъде резултат от генетични аномалии, предизвикващи инактивиране на имунната система, но видовете, формите на генетичните аномалии и фенотипните модели на експресия се различават от тези при деца.^{2,3,4,5} Тези открития правят разграничението между първичната и вторичната HLH все по-трудно.

Епидемиологичният профил на HLH не е добре дефиниран, но в някои проучвания (Италия, Швеция и САЩ) се посочва, че годишна честота на HLH е приблизително 1/800 000 души и 1-10/ 1 000 000 деца. рHLH има известни географски вариации и преобладава в райони с близкородствени бракове, поради автозомно-рецесивно унаследяване. Така напр. честотата на рHLH е 0,12/100 000 в Швеция, 0,342/100 000 в Япония и 7,5/100 000 при турски деца. При възрастни честотата на sHLH е неизвестна, но е най-висока при злокачествени заболявания, където достига 0,36/100 000^{6,7,8,9} Поради

високите нива на феритин (>500-1000 ng/dL), показател с диагностично и прогностично значение, HLH и нейният подвариант - синдромът на активирани макрофаги (MAS), катастрофалният антифосфолипиден синдром (CAPS), септичният шок, болестта на Still в зряла възраст (AOSD) и мултивъзпалителният синдром, свързан с COVID-19 (MIS- C/A), са обединени в групата на т.нар хиперферитинемични синдроми¹⁰ Първите диагностични критерии (1991), а по-късно (1997) и първия терапевтичен протокол при деца са предложени от екипа на Histiocyte Society^{11,12}. Към първоначалните 5 показатели (треска, спленомегалия, бицитопения, хипертриглицеридемия (≥ 3.0 mmol/L) и/или хипофибриногенемия (≤ 1.5 g/L) и хемофагоцитоза, през 2004 г са прибавени още 3 (ниска или липсваща NK клетъчна активност, хиперферитинемия и повишен разтворим CD25 (разтворим IL-2 рецептор [sIL-2r) (табл.1)

• Треска $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ за ≥ 7 дни
• Спленомегалия ≥ 3 пръста на ширина под левия субкостален ръб
• Цитопении, засягащи ≥ 2 от 3 линии в периферната кръв
Хемоглобин < 9 g/L
Тромбоцити $< 100 \times 10^9$ /L
Абсолютен брой на неутрофилите $< 1,0 \times 10^9$ /L
• Хипертриглицеридемия и/или хипофибриногенемия
Триглицериди на гладно ≥ 265 mg/dL,
Фибриноген $\leq 1,5$ g/L
• Хемофагоцитоза в костния мозък, далака или лимфните възли
• Ниска или липсваща NK клетъчна активност**
• Феритин ≥ 500 $\mu\text{g/L}$
• Разтворим CD25 (sIL-2 рецептор) ≥ 2400 U/mL

Табл 1 Диагностични критерии за хемофагоцитна лимфохистиоцитоза 2004г

На базата на диагностичните критерии, които се приемат и за възрастни пациенти, е създадена и скор –система (табл.2) През 2014г разработеният и валидиран HScore с 9 променливи разграничава първичната от вторичната HLH, като при 169 точки диагностичната чувствителност е 93%, специфичността- 86% с класификационна възможност в 90% от случаите.^{13,14} Независимо от приетите диагностични критерии и точкова система, и множеството публикации в специализираната литература sHLH при възрастни продължава да е отчайващ пример за късна диагноза, не само поради рядкостта на синдрома, но и поради неосведоменост.

Показател/ критерии	+ / - / Диапазон	Брой точки**
Известна подлежаща имunosупресия	-	0
	+	18
Температура (C°)	<38,4 ⁰	0
	38,4–39,4 ⁰	33
	>39,4 ⁰	49
Органомегалия	-	0
	Хепато -/ или спленомегалия	23
	Хепато - и спленомегалия	38
Цитопения : Нв < 90 g/L, PLT <100. 10 ⁹ /L; WBC<1.10 ⁹ /L	1 линия	0
	2 линии	24
	3 линии	34
Феритин (ng/mL)	<2000	0
	2000- 6000	35
	>6000	50
Триглицериди ммол / L	<1,5	0
	1,5–4	44
	>4	64
Фибриноген g/L	>2,5	0
	≤2,5	30
ASAT (IU/L)	<30	0
	≥30	19
Хемофагоцитоза (костен мозък)	-	0
	+	35
Ниска или липсваща NK клетъчна активност		N/A
Разтворим CD25 (sIL-2 рецептор) U/ mL	≥2400	N/A

Табл. 2 Клинико-лабораторни находки, включени в Н-скор насоки HLH-2004

* Изисква се или наличието на молекулярна диагноза, или на пет от осем критерия.

През 2014г разработеният и валидизиран HScore с 9 променливи разграничава първичната от вторичната HLH, като при 169 точки диагностичната чувствителност е 93%, специфичността - 86% с класификационна възможност в 90% от случаите.^{13,14} Независимо от приетите диагностични критерии и точкова система, и множеството публикации в специализираната литература sHLH при възрастни продължава да е отчайващ пример за късна диагноза, не само поради рядкостта на синдрома, но и поради неосведоменост. Най-често sHLH се диагностицира погрешно като

сепсис, поради неясния фебрилитет, подобните клинични и лабораторни находки. Това води до закъсняло имunosупресивно лечение или химиотерапия, респективно до бърза еволюция с полиорганна недостатъчност и летален край с изключително ниска преживяемост. Причините и пусковият механизъм при sHLH са 3 основни групи: имунни/ автоимунни заболявания, инфекции и злокачествени заболявания (табл 3) По литературни данни най-честа причина за изявата на sHLH при възрастни са малигнените хемопатии и солидни тумори, който се установяват при около 50% от пациентите. Останалите случаи се дължат на имунни, автоимунни и ревматологични заболявания (MAS), както и на най-разнообразни вирусни, бактериални, паразитни и микотични инфекции.

Специфични причини	
	Инфекции
Вируси	Човешки Herpesviridae (напр. EBV, HSV, CMV, VZV), HIV, вирусен хепатит, грип, парвовирус B19, денга
Бактерии	Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus, Rickettsia, Mycoplasma
Паразити	Лайшмания, плазмодии, токсоплазма
Микози	Хистоплазма, Candida, Cryptococcus, Aspergillus
	Злокачествени заболявания
Хематологични	T/NK-клетъчни лимфоми, агресивни В-клетъчни лимфоми, миело- или лимфопролиферативни левкемии, болест на Касълман
Солидни тумори	Метастатични карциноми, саркоми
	Автоимунни заболявания
	Системен лупус еритематозус, болест на Still в зряла възраст, ревматоиден артрит, васкулит, възпалително заболяване на червата
	Свързани с лечението
Трансплантация	Алогенна трансплантация на хемопоетични клетки, трансплантация на солидни органи
Химио/ Имуноterapia	CAR T клетъчна терапия, биспецифични Т клетъчни антитела, ваксинации, чекпойнт инхибитори.
Други	Бременност, травма, идиопатична, неизвестна, многофакторна

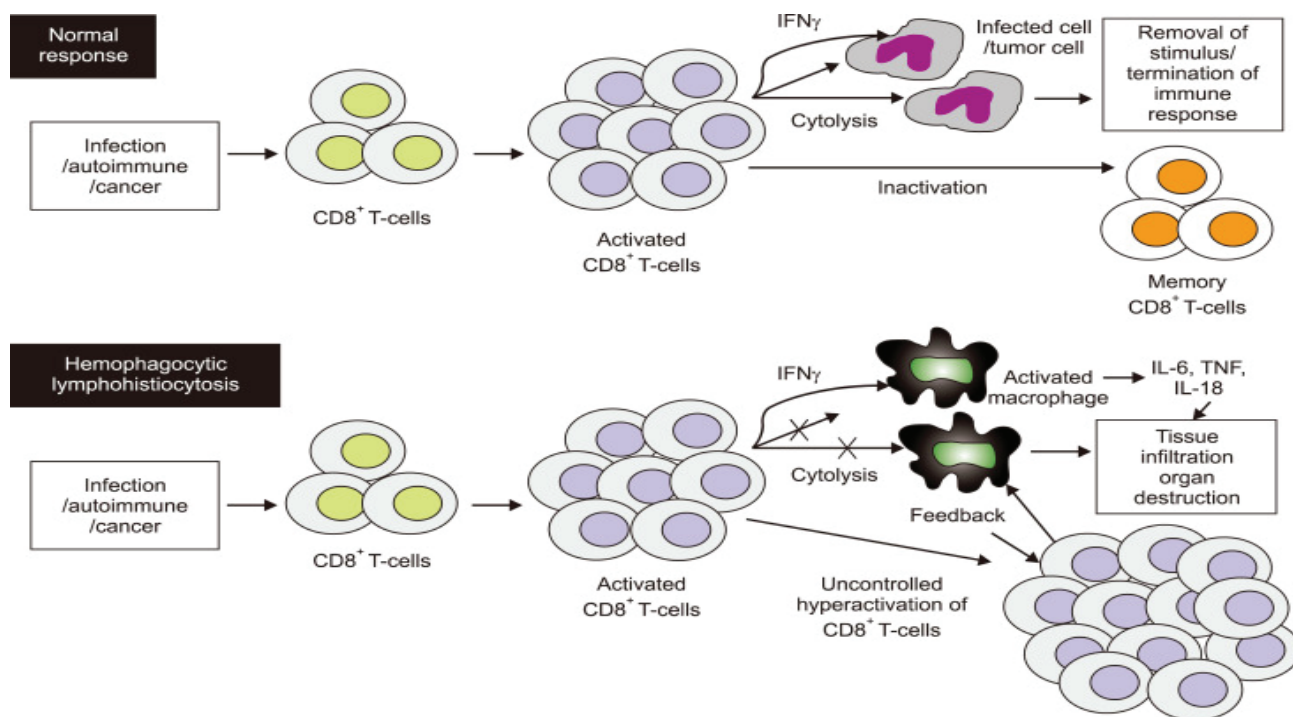
Табл.3 Етиологичен спектър при вторичната HLH

Описани са и случаи след различни видове терапия, вкл АСКТ и CAR/T клетъчна терапия¹⁵⁻¹⁸. От практическа гледна точка важно да се отбележи, че вторичната HLH при възрастни често е многофакторна с повече от една етиология, допринасяща за имунната дисрегулация.

ОБЩ ПАТОГЕНЕТИЧЕН МЕХАНИЗЪМ ПРИ ПЪРВИЧНАТА И ВТОРИЧНА HLH. ЦИТОКИННА БУРЯ

Основни участници в патогенезата на HLH са макрофагеалната, лимфоцитната, и NK клетъчните популации. Както е известно макрофагите имат три основни функции - имунна защита, възпаление и имунна регулация¹⁹. Макрофагите са особено чувствителни към хуморални сигнали и натрупването им в тъканите (хистиоцити) се стимулира от $IFN-\gamma$ (секретиран от Т-хелперите 1) и от $TNF-\alpha$. От своя страна макрофагите секретират редица проинфламаторни цитокини - $IL-1$, $IL-8$, $IL-12$, $TNF-\alpha$, плазмин, трансферин и могат да фагоцитират апоптоични клетки¹⁹. Основните функции на NK клетките са понижаване на системния възпалителен отговор с елиминация на вирусно инфектирани клетки, активирани моноцити, дендритни и Т

клетки^{20,21}. Дисфункцията на NK клетките и най-вече понижената цитолитичната активност намалява елиминационната им способност, както и имуномодулиращия им ефект върху експресията на CD8 Т-клетките и секрецията на $IFN-\gamma$ ^{21,22}. Намалената цитолитичната активност на NK клетките, доказана чрез дегранулация (цитолитичните гранули перфорин и гранзими) и секрецията на $IFN-\gamma$ е ключов момент при всички форми на HLH^{23,24}. По данни на Zhang J и кол средната активност на NK клетките при HLH е значително по-ниска, отколкото при здрави контроли- $20,23 \pm 4,12\%$, $10,76 \pm 2,54\%$ при първичната и $15,01 \pm 3,62\%$ при вторичната HLH²⁵. Ако възпалителният процес не е адекватно контролиран или преустановен, ако имунната система не може да бъде дезактивирана поради генетични нарушения в сигналните пътища или поради персистирането на антигенните стимули и преди всичко поради дефектните функции на NK клетките и цитотоксичните Т-лимфоцити, възниква неовладяема и самоподдържаща имунна /възпалителна реакция. Това е свързано с нахлуване на имунните клетки (макрофаги) в тъканите и неконтролируема секреция на цитокини: $IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$, $IL-1$, $IL-2$, $IL-6$, $IL-10$, $IL-12$, $IL-16$, $IL-18$ и макрофагеален-колони-стимулиращ фактор (фиг 1)^{2,3,4,5}.



Фиг 1 Разлики между нормалния имунен отговор и при пациенти с HLH

Така наречената „цитокинна буря“ е крайния патогенетичен ефект при първичната и вторична HLH, независима е от етиопатогенетичните тригери, формира основните клинични синдроми на HLH

и „обяснява“ лабораторните отклонения, клиничните синдроми и полиорганната недостатъчност (табл 4,5)

Цитокини	Клиничен ефект
TNF	треска, кахексия, неврологични симптоми, потискане на хемопоезата, повишени трансаминази, хипоалбуминемия, хипофибриногенемия, хипертриглицеридемия, DIC, потискане на активността NK-клетките
IL-1	треска, потискане на хемопоезата, коагулопатия (активиране на плазминогена), хиперферитинемия, острофазови протеини, активиране на Т-клетките
IFN-γ	треска, хемофагоцитоза, потискане на хемопоезата, DIC, хипоалбуминемия, увреждане на черния дроб, хипертриглицеридемия, активиране на макрофагите, стимулиране на CD4 Т-хелпер 1 (Th1)
IL-18	чернодробна патология, потискане на активността на NK клетките
IL-10	потискане на Т-клетъчното активиране, инхибиране на цитокини от CD4 Т-хелпер1, регулиране на хемофагоцитозата, модулиране на имуномедираща реакции
IL-6	треска, анемия, острофазови протеини, бъбречно увреждане, Т-клетъчно активиране и инфилтрация, потискане на NK клетъчната активност

Табл. 4 Цитокини - клинична значеие

Хиперферитинемия²⁶. Серумният феритин се повишава директно и пропорционално на количеството желязо в макрофагите, маркер е за имунния отговор на макрофагите, степента на възпалителните процеси и се свързва с висока смъртност (от 6). Феритинът е острофазов протеин, чиято секреция се стимулира от IL-1 и има имуномодулаторни функции : стимулира секрецията на IL-10, подтиска лимфопоезата индуцира Т-клетъчна анергия и намалява производството на антитела.

Треска²⁷. Предизвиква се от повишени IL-1 и IL-2, TNF, секретирани пролифериращите NK клетки, Т- лимфоцити и макрофаги. Въпреки, че не е специфичен симптом, треската при HLH най-често е дебютираща, постоянна и продължителна, като в комбинация с другите клинично-лабораторни отклонения е диагностичен критерий.

Чернодробни дисфункции²⁷. Регистрат се нарушения в синтетичната функция на черния дроб (хипоалбуминемия, ниско ПВ, хипофибриногенемия) в пигментната обмяна (хипербилирубинемия) и повишение на ензими. Нарушенията не са специфични, но в комбинация с другите критерии допълват полиорганната недостатъчност.

Хипертриглицеридемията²⁸ На пръв поглед тя е необичайната лабораторна находка при HLH. Тя е резултат от повишената секрецията на TNF-α, който подтиска липопротеиновата липаза, с което се понижава хидролизата на триглицеридите. Високото ниво на триглицеридите е установява значително по-често при първичната и вторична HLH в сравнение със септичните състояния.

Коагулопатия. Хипофибриногенемия²⁷. Нарушенията в хемостазата са характерни за HLH. Най-често се установява нарушена синтетична функция с ниско РТ и удължено аРТТ Фибриногенът е нисък поради повишената секреция на активатори на плазминогена от активираните макрофаги, повишение на плазмина с хиперфибринолиза и повишени D-димери (диагностични критерии) Доказва се и DIC.

Цитопениите^{27,29} се причиняват от цитокин-медирано (TNF-α и IFN-γ) потискане на хемопоезата със съучастие на хемофагоцитозата. Обикновено се стартира с две линии, като за кратък период време настъпва панцитопения, изискваща субституираща терапия с кръвни продукти.

Понижена СУЕ и високо съотношение феритин/СУЕ. Подобна находка на фона на висок феритин и D-димери е доста съмнителна за HLH и е свързана с ниския фибриноген. Понижената СУЕ е включена в диагностичен критерии на международното проучване Delphi.

Табл 5 Патогенеза на основните клинични синдроми при HLH

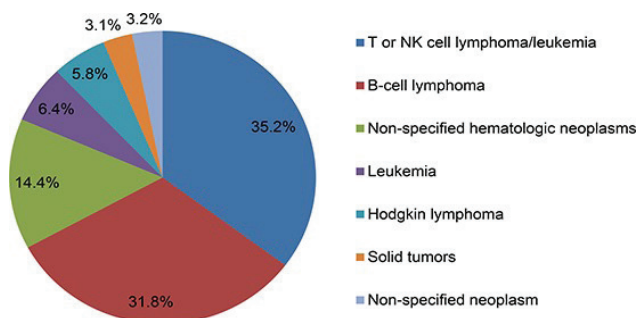
За подобряване на диагностичните критерии и разграничаване на етиологичните форми sHLH са предложени няколко нови показатели- разтворимите CD25 (sCD25= sIL-2r) и CD163 (sCD163), както и съотношението им с феритина^{30,31,32,33}. sIL-2r се секретира от активирани Т-хелпери, В- и NK клетки и гранулоцити и е биомаркер за активиране на имунната система при диагностично ниво ≥ 2515 U/mL (чувствителност-100%; специфичност-72,5%) CD163 е трансмембранен протеин при хемофагоцитните макрофаги, който свързва хемоглобин-хептоглобиновия комплекс, предпазва клетките от оксидативен стрес, но е и показател за активиране на Т- лимфоцитите и макрофагите.

Индексът, включващ разтворим CD25 >3900 U/mL и феритин >1000 ng/mL, по-точно идентифицира HLH (чувствителност, 84%; специфичност, 81%) и има значима прогностична стойност.

ВТОРИЧНА HLH, СВЪРЗАНА С МАЛИГНЕНИ КРЪВНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ (М- HLH)

ЧЕСТОТА

М- HLH е най-честата проява на sHLH при възрастни и се счита за изключително предизвикателство в диагностичен и терапевтичен аспект. М- HLH е с честота 1% при малигнените хемопатии³¹.



Фиг 2 Вторична HLH, свързана с малигнени кръвни заболявания

При М-HLH, подлежащите В- и Т/ NK -клетъчни лимфоми са съответно 31,5% и 35,2% (фиг2). Единични случаи са описани при почти всички остри или хронични миело- / имфопротрофративни хематологични неоплазии. Установена са известни географски вариации: DLBCL HLH е преобладаваща в западните страни и Япония, докато докато Т-клетъчните неоплазии с HLH са по-чести в Китай и Корея М- HLH се срещат във всяка възраст, но зачестява с напредване на възрастта^{31,33,34}. В японско представително проучване със 799 пациенти с М-HLH посочва, че подлежащ лимфом се открива при 68% от пациентите над 60 г, 38% на възраст 30–59 г, 10% на възраст 15–29 г^{35,36} Сред лимфома-асоциирания хемофагоцитен синдром (LAHS), най-честият (35%) е NK/Т назален тип³⁷. Интересното е, че EBV- доказан етиопатогенетичен фактор при Т/НК лимфом/левкемии, е често съпътстваща инфекция, при 24% от пациентите с всички форми на HLH и при 88% от пациентите М-HLH.^{31,32,36,37}

ПАТОГЕНЕЗА НА М ХЛХ^{31,34,37,38,39}

М-HLH може да се изяви по всяко време в еволюцията на кръвната неоплазия: в дебюта, по време на всички етапи от лечението (индукция, консолидация, поддържаща терапия, след СКТ) или при рецидив. Важно е да се разграничи дали М-HLH възниква като първоначална проява на злокачест-

вено заболяване или по време на- или след химиотерапия. Подобно на rHLH, имунната активация и имуномедираната патология играят важна роля в еволюцията на М- HLH, вкл с високи серумни нива на описаните по-горе провъзпалителни цитокини, секретирани от самите неоплазийни клетки: IFN-γ, TNF-α, IL-6, IL-10. Възможните патогенетични механизми включват персистираща антигенна стимулация от туморните клетки и нарушена имунна хомеостаза поради химиотерапия, имунотерапия, СКТ или насложена инфекция. Имуноterapiaта насочена към активация на Т-клетките (биспецифичните антитела, CAR-Т клетъчната терапия, дендритните ваксини, чекпойнт инхибиторите, имуномодулаторите (леналидомид, талидомид) може да предизвика имунологични нарушения, характерни за HLH. Цитостатиките предизвикват клетъчен лизис и некроза с освобождаване на IL-5, IL-13, IL-10, IL-6, TNF-α, IFN-γ и IL-1β.^{40,41} От друга страна известният мутагенен ефект на химиотерапията е в състояние да потенцира изявата на субклинична мутация, водеща до развитие на М-HLH.^{32,41,42} Всъщност крайният ефект е еднакъв – нарушени функции на цитотоксичните Т лимфоцити и NK клетките с неадекватен ефект срещу прицелните клетки. В етиопатогенезата на М-HLH се обсъждат и други допълни механизми, характерни за самия малигнен процес. След химиотерапията тумор-инфилтриращите лимфоцити (TILs) могат да трансформират до Th1 цитокинов профил със секреция на IL-1, TNF-α и IFN-γ.⁴³ Комбинацията от клетъчен лизис и секреция на цитокини от Т инфилтриращите лимфоцити и макрофаги може да бъде достатъчна, за да предизвика глобална имунна дисрегулация. В миши модели е доказано, че Toll-подобните рецептори (TLR) са възможен тригер за М-HLH. Чрез конформационна промяна след свързване с прицелен лиганд те активират MyD88, което включва сигнална каскада, водеща до фосфорилиране на IRAK1, инактивиране на IκB и ядрена транслокация на NF-κB.^{44,45,46} Неоплазийните клетки при миелодиспластични синдроми с 5q делеция и мултиплен миелом секретират в излишък IL-6 чрез активиране на NF-κB.⁴⁸ Крайният компонент на описаната сигнализиращата каскада е NF-κB, който улеснява развитието на М-HLH чрез активирането на CD8 Т-клетките и стимулира производството на цитокини⁴⁹. Друг възможен механизъм при малигнените хемопатии е използването на системата JAK-STAT за индициране на цитокин- сигнали за секреция на IFN-α/β), IFN-γ, IL-2, IL-6 и IL-10.^{50,51} При злокачествените кръвни заболявания се повишава и дифузното активиране на DC, което води също до стимулиране на Т-клетките⁴⁴.

ЛЕЧЕНИЕ^{31,52,53,54}

Основната цел на лечението при М-HLH е потискане на свръхактивирания имунна система и лечение на самата малигнена хемопатия. За съжаление първоначалната терапевтична стратегия „срещу М-HLH или срещу неоплазията“ е не-

уточнена поради недостатъчната осведоменост за рядък синдром с обикновено закъсняваща диагноза и тежка или необратима полиорганна недостатъчност. Най-често това са пациенти предварително манипулирани, миелосупресирани и имунокомпроментирани, което повишава риска от включването на цитотоксична терапия. Лечението на подлежащата неоплазия, ако е навреме разпозната, изглежда логично поведение. Клиничната практика представя, обаче не малко примери, когато една агресивна M-HLN с фатална и бърза еволюция за около 2-4 седмици, изисква спасяваща терапия за овладяване на цитокинната буря. M-HLN индуцира цитокин-зависими цитопении, челнодробни дисфункции с холестатичен иктер, белодробни инфилтрати с респираторен дистрес, енцефалопатии, бъбречна недостатъчност и коагулопатии, които не позволяват прилагането на анти-неопластична (имуно)химиотерапия. Ето защо на фона на липсата на проспективни, рандомизирани или контролирани клинични изпитвания, терапевтичните опции се базират на експертно мнение. В специализираната литература и от консенсусните препоръки на работни групи се оформя мнение, че стартът на терапията трябва да започне с овладяването на неконтролираното имунно медирано възпаление, а след това с продължителното лечение на подлежащата неоплазия. Основните лекарства, съгласно протоколите HLH-2004, за потискане на цитокиновата буря са ГКС, циклоспорин А (CsA) и етопозид (VP16) и са апробирани в повечето случаи при деца. При възрастни пациенти, обаче се налага специфичен подход. Имайки предвид, че най-честите причини за M-HLN са В- и Т/ NK -клетъчни лимфоми/левкемии, се предлагат VP16 съдържащи режими напр DEP (липозомален доксорубин, етопозид, метилпреднизолон) или Алемтузумаб в комбинация с етопозид и дексаметазон. В миши модели VP16 селективно понижава активираните Т клетки, респективно производството на възпалителни цитокини. Посочени са добри резултати от приложението на VP16 при свързани с EBV лимфоми, т.е VP16 е ключов медикамент за лечение на M-HLN. Това е и идеалния случай за припокриване на началното лечение на M-HLN и малигнената хемопатия. Друг терапевтичен подход при деца е насочен към потискане на макрофаги и CD8 Т-лимфоцити с анти timocитни глобулини в комбинация със стероиди, циклоспорин А и интратекална химиотерапия с опция за превключване към СКТ (ниво на доказателства IIA). Подобна имуносупресия е твърде спорна за приложение при възрастни.

НОВИ ТЕРАПИИ ПРИ M-HLN^{55,56,57,58}

При деца и възрастни е прилаган **алемтузумаб** в комбинация с VP16 и дексаметазон, като ефективна спасителна терапия при рефрактерна M-HLN и с по-добра възможност за превключване към СКТ. Във фаза на клинични проучвания се testa немилосупресивния **IFN-гамма инхибитор NI-0501** - хуманизирано анти-IFN-гамма моноклонално

антитяло (mAb), което се свързва с и неутрализира IFN-гамма.⁶⁷ Терапията се понася добре, без токсичност и е надежда за пробив в терапията на вторичен и M-HLN. Както вече бе посочено при M-HLN се активира сигналната система JAK-STAT за секреция на цитокини. В проучвания приложения руколитиниб в комбинация със стандартни химиотерапевтични режими вероятно ще подобри отговора от началното лечение на M-HLN, особено при рефрактерни или неподходящи за СКТ. СКТ, вкл алогенна от несвързан донор и с намален капацитет на кондициониране е спасяващ лечебен метод с дългосрочен ефект при част от пациентите с лимфом асоциирана M-HLN.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

M-HLN е сред най-критичните синдроми в медицината и клиничната хематология с преживяемост на голяма част от пациентите около 2 месеца, като по-малко 20% преживяват 1 г. Негативни прогностични фактори за преживяемостта са тромбоцитопения, напреднала възраст, хиперферитинемия, хипофибригенемия, EBV-ДНК > 1000 копия, тежка хипоалбуминемия, неутропения, ниски нива на CD3, CD8 и високи на NK клетките, ЦНС засягане, повишеното усвояване на 18F-2-флуоро-2-дезоксид-D-глюкоза (FDG) от костния мозък при PET/CT. M-HLN е все по-разпознаваемо животноза-страшаващо заболяване, но за съжаление с неуточнени диагностични критерии и терапевтични подходи. M-HLN е интердисциплинарен проблем, който освен повишена информираност, налага провеждането на многоцентрови проспективни клинични проучвания.

Адрес за кореспонденция:

проф д-р Веселина Горанова, дм;

Клиника по хематология, УМБАЛ „Св Георги“, МУ – Пловдив.

GSM: 088 888 5741

E-mail: vesselina_goranova@yahoo.com

Contact data:

Prof. Veselina Goranova-Marinova, MD, PhD,
Clinic of Clinical Hematology, UMBAL „St. George“
Medical University – Plovdiv 15A Vasil Aprilov Blvd
Tel: 088 888 5741

E-mail: vesselina_goranova@yahoo.com;

Veselina.Goranova@mu-plovdiv.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

1. RB Scott, AHT Robb-Smith HISTIOCYTIC MEDULLARY RETICULOSIS The Lancet Vol 234, Issue 6047, 22 July 1939, Pages 194-198
2. Yu Ri Kim, Dae-Young Kim Current status of the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults Blood Res 2021 Apr 30;56(S1):S17-S25. doi: 10.5045/br.2021.2020323.
3. Griffin G, Shenoi S, Hughes GC. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an up-

- date on pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2020;34:101515. doi: 10.1016/j.berh.2020.101515
4. Ayşe Gonca Kaçar, Tiraje Tülin Celkan Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Balkan Med J. 2022 Sep; 39(5): 309–317. Published online 2022 Sep 9. doi: 10.4274
5. Yi Miao, Jing Zhang, Qingqing Chen, Lingxiao Xing, Tonglu Qiu, Huayuan Zhu, Li Wang, Lei Fan, Wei Xu, Jianyong Li Spectrum and trigger identification of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: A single-center analysis of 555 cases *Front Immunol.* 2022; 13: 970183. Published online 2022 Aug 12. doi: 10.3389/fimmu.2022.970183
6. Henter JL, Elinder G, Söder O, Ost A. Incidence in Sweden and clinical features of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Acta Paediatr Scand.* 1991;80:428–435.
7. Ishii E, Ohga S, Tanimura M, et al. Clinical and epidemiologic studies of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. Japan LCH Study Group. *Med Pediatr Oncol.* 1998;30:276–283.
8. Gürgey A, Göğüş S, Özyürek E, et al. Primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in Turkish children. *Pediatr Hematol Oncol.* 2003;20:367–371.
9. Machaczka M, Vaktnäs J, Klimkowska M, Häggglund H. Malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: a retrospective population-based analysis from a single center. *Leuk Lymphoma.* 2011;52:613–
10. Vassilopoulos A, McCormick W, Lakhani A. Update in Hyperferritinemic Syndromes: Recognition and Management - A Scoping Review. *Brown Hospital Medicine.* 2022;1(3). doi: 10.56305/001c37667
11. Henter JL, Elinder G, Ost A. Diagnostic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. The FHL Study Group of the Histiocyte Society. *Semin. Oncol.* 1991;18:29–33.
12. Henter JL, Arico M, Egeler R.M., Elinder G., Favara B.E., Filipovich A.H., Gadner H., Imashuku S., Janka-Schaub G., Komp D., et al. HLH-94: A treatment protocol for hemophagocytic lymphohistiocytosis. HLH study group of the histiocyte society. *Med. Pediatr. Oncol.* 1997;28:342–347. doi: 10.1002/(SICI)1096-9111X(199705)28:5<342::AID-MPO3>3.0.CO;2-H.
13. Fardet L, Galicier L, Lambotte O, Marzac C., Aumont C., Chahwan D., Coppo P, Hejblum G. Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis. Rheumatol.* 2014;66:2613–2620. doi: 10.1002/art.38690.
14. Henter JL, Horne A, Arico M, Egeler R.M., Filipovich A.H., Imashuku S., Ladisch S., McClain K, Webb D, Winiarski J, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr. Blood Cancer.* 2007;48:124–131. doi: 10.1002/pbc.21039.
15. Paolino J, Berliner N, Degar B. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis as an Etiology of Bone Marrow Failure. *Front. Oncol.* 2022;12 doi: 10.3389/fonc.2022.1016318.
16. Ramos-Casals M, Brito-Zerón P, López-Guillermo A, Khamashta M.A., Bosch X. Adult Haemophagocytic Syndrome. *Lancet.* 2014;383:1503–1516. doi: 10.1016/S0140-6736(13)61048-X.
17. Ishii E, Ohga S, Imashuku S, Yasukawa M, Tsuda H, Miura I, Yamamoto K, Horiuchi H, Takada K, Ohshima K, et al. Nationwide Survey of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Japan. *Int. J. Hematol.* 2007;86:58–65. doi: 10.1532/IJH97.07012.
18. Abdelkefi A, ben Jamil W, Torjman L, Ladeb S, Ksouri H, Lakhal A, ben Hassen A, ben Abdeladhim A, Othman T. ben Hemophagocytic Syndrome after Hematopoietic Stem Cell: A Prospective Observational Study. *Int. J. Hematol.* 2009;89:368–373. doi: 10.1007/s12185-009-0261-1. –
19. Mosser D.M., Edwards J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology.* 8. 958–969. 2008.
20. Marcenaro E, Ferranti B, Moretta A. NK-DC interaction: On the usefulness of auto-aggression. *Autoimmun.Rev.* 2005;4:520–525. doi: 10.1016/j.autrev.2005.04.015.
21. Vitale M., Cantoni C., Chiesa M.D., Ferlazzo G., Carlomagno S., Pende D., Falco M., Pessino A., Muccio L., de Maria A., et al. An historical overview: The discovery of how NK cells can kill enemies, recruit defense troops, and more. *Front. Immunol.* 2019;10:1415. doi: 10.3389/fimmu.2019.01415.
22. Grom A.A. Natural killer cell dysfunction: A common pathway in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis, macrophage activation syndrome, and hemophagocytic lymphohistiocytosis? *Arthritis. Rheum.* 2004;50:689–698. doi: 10.1002/art.20198.
23. Perez N, Virelizier J.L., Arenzana-Seisdedos F., Fischer A., Griscelli C. Impaired natural killer activity in lymphohistiocytosis syndrome. *J. Pediatr.* 1984;104:569–573. doi: 10.1016/S0022-3476(84)80549-1.
24. Sullivan K.E., Delaat C.A., Douglas S.D., Filipovich A.H. Defective natural killer cell function in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis and in first degree relatives. *Pediatr. Res.* 1998;44:465–468. doi: 10.1203/00006450-199810000-00001.
25. Zhang J, Wang Y, Wu L, Wang J, Tang R, Li S, Chen J, Gao Z, Pei R, Wang Z. Application of an improved flow cytometry-based NK cell activity assay in adult hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int. J. Hematol.* 2017;105:828–834. doi: 10.1007/s12185-017-2195-3.
26. Knovich M.A., Storey J.A., Coffman L.G., Torti S.V., Torti F.M. Ferritin for the clinician. *Blood. Rev.* 2009;23:95–104. doi: 10.1016/j.blre.2008.08.001.
27. Anca Bojan , Andrada Parvu , Iulia-Andrea Zsoldos , Tunde Torok , Anca Daniela Farcas Macrophage activation syndrome: A diagnostic challenge (Review) *Exp Ther Med.* 2021 Aug;22(2):904. doi: 10.3892/etm.2021.10336.
28. Franssen R, Visser M.E., Kuivenhoven J.A., Kastelein J.J.P., Dallinga-Thie G.M., Stroes E.S.G. Role of lipoprotein lipase in triglyceride metabolism: Potential therapeutic target. *Future Lipidol.* 2008;3:385–397. doi: 10.2217/17460875.3.4.385.
29. Alexei A Grom , Elizabeth D Mellins Macrophage activation syndrome: advances towards understanding pathogenesis *Curr Opin Rheumatol.* 2010 Sep;22(5):561-6. doi: 10.1097/01.bor.0000381996.69261.71.
30. Zoreff-Lorenz A, Murakami J, Hofstetter L, Iyer S, Alotaibi A.S., Mohamed S.F., Miller P.G., Guber E, Weinstein S, Yacobovich J, et al. An Improved Index for Diagnosis and Mortality Prediction in Malignancy-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Blood.* 2022;139:1098–1110. doi: 10.1182/blood.2021012764
31. Jerry C. Lee, Aaron C. Logan Diagnosis and Management of Adult Malignancy-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis *Cancers (Basel)* 2023 Mar; 15(6): 1839. Published online 2023 Mar 18. doi: 10.3390/cancers15061839
32. Eric J. Vick, Kruti Patel, Philippe Prouet, Mike G. Martin Proliferation through activation: hemophagocytic lymphohistiocytosis in hematologic malignancy *Blood Adv.* 2017 May 9; 1(12): 779–791. Published online 2017 May 9. doi: 10.1182/bloodadvances.2017005561
33. Alexandra Löfstedt, Martin Jädersten, Marie Meeths, Jan-Inge Henter Malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in Sweden: incidence, clinical characteristics, and survival *Blood.* 2024 Jan 18; 143(3): 233–242. Published online 2023 Aug 20. doi: 10.1182/blood.2023020715
34. Johanna Knauff, Thomas Schenk, Thomas Ernst, Ulf Schnetzke, Andreas Hochhaus, Paul La Rosée, Sebastian Birndt Lymphoma-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis (LA-HLH): a scoping review unveils clinical and diagnostic patterns of a lymphoma subgroup with poor prognosis *Leukemia.* 2024; 38(2): 235–249. Published online 2024 Jan 18. doi: 10.1038/s41375-024-02135-8
35. Kai Lehmborg, Kim E. Nichols, Jan-Inge Henter, Michael Girschikofsky, Tatiana Greenwood, Michael Jordan, Ashish Kumar, Milen Minkov, Paul La Rosée, Sheila Weitzman Consensus recommendations for the diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with malignancies *Haematologica.* 2015 Aug; 100(8): 997–1004. doi: 10.3324/haematol.2015.123562
36. Hongluan Wang, Lixia Xiong, Weiping Tang, Ying Zhou, Fei Li A systematic review of malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis that needs more attentions *Oncotarget.* 2017 Aug 29; 8(35): 59977–59985. Published online 2017 Jul 14. doi: 10.18632/oncotarget.19230
37. Patrycja Paluszkiwicz, Adrian Martuszewski, Maciej Majcherek, Marta Kucharska, Aleksandra Bogucka-Fedorczuk, Tomasz Wróbel, Anna Czyż Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Secondary to Peripheral T Cell Lymphoma with Rapid Onset and Fatal Progression in a Young Patient: A Case Report and Review of the Literature *Am J Case Rep.* 2021; 22: e932765-1–e932765-9. Published online 2021 Sep 30. doi: 10.12659/AJCR.932765
38. Daver N, McClain K, Allen C.E., Parikh S.A., Otrrock Z, Rojas-Hernandez C, Blechacz B, Wang S, Minkov M, Jordan M.B., et al. A Consensus Review on Malignancy-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Adults. *Cancer.* 2017;123:3229–3240. doi: 10.1002/cncr.30826. – DOI - PMC - PubMed
39. Lehmborg K, Sprekels B, Nichols K, Woessmann W, Muller I, Suttorp M, Bernig T, Beutler K, Bode S.F.N., Kentouche K, et al. Malignancy-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis in children and adolescents. *Br. J. Haematol.* 2015;170:539–549. doi: 10.1111/bjh.13462.
40. Germano G., Allavena P, Mantovani A. Cytokines as a key component of cancer-related inflammation. *Cytokine.* 2008;43:374–379. doi: 10.1016/j.cyto.2008.07.014.
41. Sepehrizadeh Z, Mohammadi M, Emami A, Yazdi M.T., Bozchlou S.H., Khorramizadeh M.R., Shapourabadi M.B., Jaber E, Rajaei N, Setayesh N. Assessment of cytokine expression profile in acute myeloid leukemia patients before and after chemotherapy. *Turk J. Haematol.* 2014;31:149–154. doi: 10.4274/tjh.2012.0164
42. Yamamoto T, Kimura T, Ueta E, Tatemoto Y, Osaki T. Characteristic cytokine generation patterns in cancer cells and infiltrating lymphocytes in oral squamous cell carcinomas and the influence of chemoradiation combined with immunotherapy on these patterns. *Oncology.* 2003;64:407–415. doi: 10.1159/000070300.
43. Sepehrizadeh Z, Mohammadi M, Emami A, et al. Assessment of cytokine expression profile in acute myeloid leukemia patients before and after chemotherapy. *Turk J Haematol.* 2014;31(2):149-154.
44. Terrell CE, Jordan MB. Perforin deficiency impairs a critical immunoregulatory loop involving murine CD8(+) T cells and dendritic cells. *Blood.* 2013;121(26):5184-5191.
45. Krebs P, Crozat K, Popkin D, Oldstone MB, Beutler B. Disruption of MyD88 signaling suppresses hemophagocytic lymphohistiocytosis in mice. *Blood.* 2011;117(24):6582-6588.
46. Behrens EM, Canna SW, Slade K, et al. Repeated TLR9 stimulation results in macrophage activation syndrome-like disease in mice. *J Clin Invest.* 2011;121(6):2264-2277.
47. Monlish DA, Bhatt ST, Schuettelpetz LG. The role of Toll-like receptors in hematopoietic malignancies. *Front Immunol.* 2016;7(390):390
48. Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, et al. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. *Nat Med.* 2010;16(1):49-58
49. Bronk CC, Yoder S, Hopewell EL, et al. NF-κB is crucial in proximal T-cell signaling for calcium influx and NFAT activation. *Eur J Immunol.* 2014;44(12):3741-3746
50. O'Shea JJ, Holland SM, Staudt LM. JAKs and STATs in immunity, immunodeficiency, and cancer. *N Engl J Med.* 2013;368(2):161-170. 58. Schindler C, Levy DE, Decker T. JAK-STAT signaling: from interferons to cytokines. *J Biol Chem.* 2007;282(28):20059-20063.
51. O'Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell.* 2002;109(Suppl):S121-S131.

52. Mehta P, Cron R.Q., Hartwell J., Manson J.J., Tattersall R.S. Silencing the Cytokine Storm: The Use of Intravenous Anakinra in Haemophagocytic Lymphohistiocytosis or Macrophage Activation Syndrome. *Lancet Rheumatol.* 2020;2:e358–e367. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30096-5.
53. Posas-Mendoza T.F., McLeod C., Davis W., Zakem J., Quinet R. Etiologies and Management of Haemophagocytic Lymphohistiocytosis: Is It Time for an Updated Protocol and Targeted Treatments? *Rheumatology.* 2021;60:2927–2933. doi: 10.1093/rheumatology/keaa741.
54. Naval Daver, Kenneth McClain, Carl Allen, Sameer Parikh, Zaher Otrrock, Cristhiam Rojas-Hernandez, Boris Blechacz, Sa Wang, Milen Minkov, Michael Jordan, Paul La Rosée, Hagop Kantarjian A Consensus Review on Malignancy-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Adults *Cancer.* 2017 Sep 1; 123(17): 3229–3240. Published online 2017 Jun 16. doi: 10.1002/cncr.30826
55. Park H.-S., Lee J.-H., Lee J.-H., Choi E.-J., Ko S.-H., Seol M., Lee Y.-S., Kang Y.-A., Jeon M., Lee K.-H. Fludarabine/Melphalan 100Mg/M2 Conditioning Therapy Followed by Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Adult Patients with Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2019;25:1116–1121. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.11.032
56. Marsh R.A., Allen C.E., McClain K.L., Weinstein J.L., Kanter J., Skiles J., Lee N.D., Khan S.P., Lawrence J., Mo Jun Q., et al. Salvage Therapy of Refractory Hemophagocytic lymphohistiocytosis with Alemtuzumab. *Pediatr. Blood Cancer.* 2013;60:101–109. doi: 10.1002/pbc.24188.
57. Johnson W.T., Epstein-Peterson Z.D., Ganesan N., Chang T., Galasso N., Stuver R., Khan N., Salles G., Moskowitz A.J., Vardhana S., et al. Emapalumab for Malignancy-Associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: The Memorial Sloan Kettering Cancer Center Experience. *Blood.* 2022;140:3704–3706. doi: 10.1182/blood-2022-168063.
58. Keenan C., Nichols K.E., Albeituni S. Use of the JAK Inhibitor Ruxolitinib in the Treatment of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Front. Immunol.* 2021;12:614704. doi: 10.3389/fimmu.2021.614704.

COVID-19 – ПОТЕНЦИАЛНА ПРИЧИНА ЗА РАЗВИТИЕ НА ХЕМОФАГОЦИТНА ЛИМФОХИСТИОЦИТОЗА

В. Горанова – Маринова¹, Г. Чинчев², Ст. Василев³, А. Георгиев⁴, Г. Горанов⁵

- 1 – МУ, УМБАЛ „Св Георги“ – Пловдив, Клиника по хематология;
2 – Централ Онкохоспитал – Пловдив, Отделение по хематология;
3 – Централ Онкохоспитал – Отделение за интензивни грижи и реанимация;
4 – Болница Медлайн – Пловдив, Гастроентерологично отделение;
5 – МУ, УМБАЛ „Св Георги“ – Пловдив, Отделение по инвазивна кардиология

COVID-19 – A POTENTIAL CAUSE OF DEVELOPMENT OF HEMOPHAGOCYTIC LYMPHOHISTIOCYTOSIS

V. Goranova – Marinova¹, G. Chincev², St. Vassilev³, A. Georgiev⁴, G. Goranov⁵

- 1 - Clinic of Clinical Hematology, UMBAL «St. George», MU-Plovdiv;
2 - Department of Hematology, Central Onco Hospital – Plovdiv;
3 - Department of intensive care and resuscitation, Central Onco Hospital;
4 - Department of Gastroenterology; Medline Hospital – Plovdiv;
5 - Department of Interventional Cardiology, UMBAL «St. George»-Plovdiv, MU-Plovdiv

Резюме. По време на пандемията с COVID-19 (SARS-CoV-2) при значителен брой пациенти бе регистриран хипервъзпалителен синдром със свръхсекреция на проинфламаторни цитокини/хемокини, полиорганна недостатъчност и бърз фатален край. В клиничен, имунологичен и биохимичен аспект тежката SARS-CoV-2 инфекцията показва голямо сходство с редкия хиперферетинемичен синдром – вторичната хемофагоцитна лимфохистиоцитоза (sHLH). Подобни данни от множество клинични наблюдения и проучвания подсказват за общи патогенетични механизми. По настоящем развитието на sHLH с инфекциозен триггер SARS-CoV-2 е напълно реален и доказан клиничен факт. sHLH е описана най-често по време на активен COVID-19, в редки случаи при пациенти прекарвали COVID-19 с отрицателни серологични тестове, както и след ваксини срещу COVID-19. В настоящия обзор се разглеждат литературните данни за патогенетичните паралели между инфекцията с SARS-CoV-2 и sHLH, които водят до загуба на ефекторните функции на НК за елиминиране на вирусно инфектираните и активираните дендритни, моноцитни и Т клетки, т.е. за невъзможност за ограничаване на системния възпалителен отговор. Отбелязват се и някои клинично-лабораторни различия: при COVID-19 по-рядко се наблюдава хепатоспленомегалия, хипофибриногенемия, цитопении, нивата на феритин, IL-18, IFN- γ , както и на активиращите НК клетките IL-12, IL-15 и IL-21 са по-ниски в сравнение с HLH. За диагнозата на sHLH при COVID-19 се използват диагностичните критерии на Histiocyte Society и H-Score 2014, които се покриват от малък брой пациенти с тежък COVID-19. Двете състояния не са синоними, съчетанието им със висок H-скор е животозастрашаващо, а ранното разпознаване и старт на имunosупресивната терапия е от изключително значение за преживяемостта.

Ключови думи: covid-19, цитокинова буря, хемофагоцитна лимфохистиоцитоза, хиперферетинемичен синдром.

Abstract. During the COVID-19 pandemic (caused by SARS-CoV-2), a hyperinflammatory syndrome with intensive secretion of pro-inflammatory cytokines/chemokines, polyorgan insufficiency and rapid fatal outcome was reported in a significant number of patients. In a clinical, immunological and biochemical aspect, severe SARS-CoV-2 infection shows great similarity with the rare hyperferretinemic syndrome – secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis (sHLH). Similar data from numerous clinical studies suggest common pathogenetic mechanisms. Currently, the development of sHLH with an infectious trigger SARS-CoV-2 is a completely real and proven clinical fact. sHLH has been described most often during active COVID-19, in rare cases in patients who have been infected with COVID-19 with negative serological tests, and after vaccines against COVID-19. We review the literature on the pathogenetic parallels between SARS-CoV-2 infection and sHLH, which result in the loss of NK effector functions to eliminate virally infected and activated dendritic cells, monocytes and T cells, i.e. inability to limit the systemic inflammatory response. Some clinical – and laboratory differences are also noted: hepatosplenomegaly, hypofibrinogenemia, cytopenias, levels of ferritin, IL-18, IFN- γ , as well as NK cell activating IL-12, IL-15 and IL-21 were lower compared to HLH. The diagnosis of sHLH in COVID-19 uses the Histiocyte Society diagnostic criteria and H-Score 2014, which is covered by a small number of patients with severe COVID-19. The two conditions are not synonymous, their combination with a high H-score is life-threatening, and early recognition and initiation of immunosuppressive therapy is extremely important for survival.

Key words: covid-19, cytokine storm, hemophagocytic lymphohistiocytosis, hyperferretinemic syndrome.

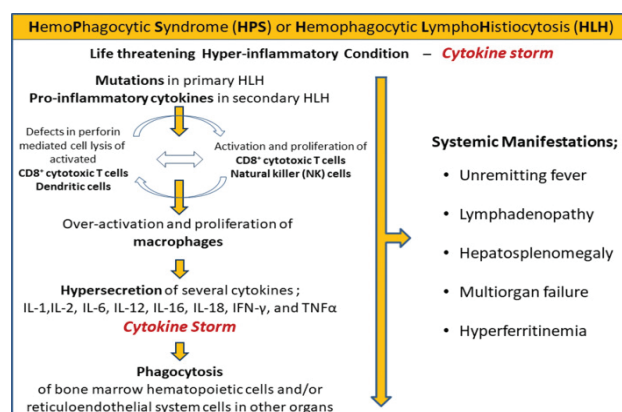
ВЪВЕДЕНИЕ

Пандемията от COVID-19 доведе до значителна заболеваемост и смъртност в целия свят и остава без налични ефективни лечения и в момента. По данни на СЗО в световен мащаб са заразени 695 781 740 индивиди и са починали 6 919 573. За съжаление България отново е в челната класация по брой починали -38 468 от 1 313 282 заразени. В многобройни публикации и проучвания при пациенти с тежък COVID-19 с животозастрашаваща полиорганна недостатъчност се установява характерен цитокинов синдром със сходен клиничен и биохимичен профил, наблюдаван при хемофагоцитна лимфохистиоцитоза (HLH). HLH е рядко животозастрашаващо състояние на имунна хиперреакция, резултат от неконтролирано активиране и ектопична миграция на цитотоксични CD8 + Т клетки, натурални клетки убийци (NK) и макрофаги с абнормна секреция на цитокини. Първичната (pHLH) се унаследява автозомно рецесивно и е резултат от дефекти в гени (*PRF1*, *MUNC13D*, *STX11*, *STXBP2*) кодиращи сигнални протеини, участващи в инактивиране на имунната система. Вторичната (sHLH) засяга възрастни пациенти и е свързана с широк спектър от инфекциозни, автоимунни, злокачествени и метаболитни заболявания, придобити имунни дефицити (като СПИН, ятрогенна имунна супресия, трансплантация на органи или стволови клетки), както и някои медикаменти^{1,2,3}. При всички форми HLH цитокинната буря е еднотипен патогенетичен механизъм, който предизвиква увреждане на различни органи и системи с тежко нарушение в тяхната функция и най-често с фатален изход^{2,4}. Поради високите нива на феритин (>500-1000 ng/dL), показател с диагностично и прогностично значение, HLH и нейният подвариант - синдромът на активирани макрофаги (MAS), катастрофалният антифосфолипиден синдром (CAPS), септичният шок, болестта на Still в зряла възраст (AOSD), а понастоящем и мултивъзпалителният синдром, свързан с COVID-19 (MIS), са обединени в групата на т.нар хиперферитинемични синдроми⁵. В настоящия обзор се разглеждат и анализират данните в литературата за еднакви патогенетични механизми при HLH и тежките по протичане форми на инфекцията с коронавирус-2 (SARS-CoV-2)

ПАТОГЕНЕТИЧНИ ПАРАЛЕЛИ МЕЖДУ HLH И МУЛТИСИСТЕМНИЯ ВЪЗПАЛИТЕЛЕН СИНДРОМ ПРИ ИНФЕКЦИЯ С SARS-COV-2

Основният патогенетичен механизъм при HLH е свърхсекрецията на цитокини, резултат от невъзможност за дезактивиране на имунната система, поради дефектна функция на NK клетките и цитотоксичните Т-лимфоцити. Нарушена е основна функция на на NK клетките – тяхната цитолитич-

на активност, чрез която се елиминират вирусно инфектирани клетки, активирани моноцити, дендритни и Т клетки^{4,6,7,8}. При неовладяв възпалителен процес с персистиране на антигенните стимули възниква самоподдържаща се имунна /възпалителна реакция, свързана с нахлуване на имунни клетки (макрофаги) в тъканите и неконтролируема секреция на цитокини: IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, IL-16 IL-18 (фиг 1).^{3,9,10}. Така наречената „цитокинна буря“ е крайния патогенетичен ефект при първичната и вторична HLH, независима е от етиопатогенетичните тригери, формира основните клинични синдроми на HLH с характерни биохимични отклонения и полиорганна недостатъчност.



Фиг 1 Патогенеза на хемофагоцитната лимфохистиоцитоза

В етиологичен аспект след малигнените и автоимунни заболявания инфекциите са чест пусков механизъм за развитието на sHLH. Описани са значителен брой пациенти с sHLH след вирусни, бактериални, паразитни и микотични инфекции с доминиращо етиологично значение на EBV (табл1).^{1,2,3,11}

Специфични причини	
	Инфекции
Вируси	Човешки Herpesviridae (напр. EBV, HSV, CMV, VZV), HIV, вирусен хепатит, грип, парвовирус B19, денга, COVID-19
Бактерии	Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus, Rickettsia, Mycoplasma
Паразити	Лайшмания, плазмодии, токсоплазма
Микози	Хистоплазма, Candida, Cryptococcus, Aspergillus
Злокачествени заболявания	
Хематологични	Т/НК-клетъчни лимфоми, агресивни В-клетъчни лимфоми, миело- или лимфопрлиферативни левкемии, болест на Касълман

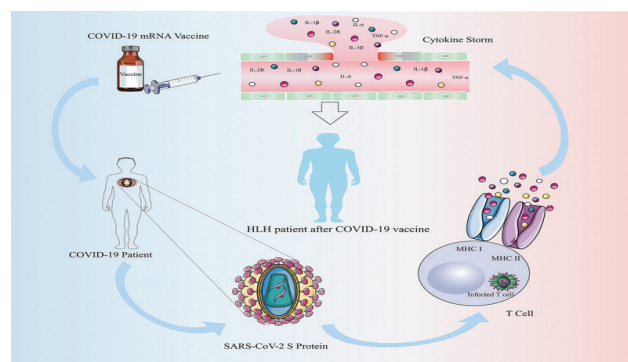
Солидни тумори	Метастатични карциноми, саркоми
Автоимунни заболявания	
	Системен лупус еритематозус, болест на Still в зряла възраст, ревматоиден артрит, васкулит, възпалително заболяване на червата
Свързани с лечението	
Трансплантация	Алогенна трансплантация на хемопоетични клетки, трансплантация на солидни органи
Химио/Имуноterapia	CAR T клетъчна терапия, биспецифични Т клетъчни антитела, ваксини, чекпойнт инхибитори.
Други	Бременност, травма, идиопатична, неизвестна, многофакторна

Табл.1 Етиологичен спектър при вторичната HLH

Към тази група определено могат да бъдат включени и тежките форми на COVID-19. При всеки пети болен с SARS-CoV-2 персистиращ възпалителен сигнал предизвиква мощна цитокинна буря, водещ до хиперфебрилитет и тежкостепенни органични нарушения: бял дроб с респираторен дистрес, периферносъдов шок, чернодробна, и бъбречна недостатъчност, ЦНС, стомашно-чревни симптоми, коагулопатия, микротромбоемболизъм, ДВС и чест фатален край.^{12,13,14,15,16} SARS-CoV-2 се свързва с висок афинитет към рецептора на ангиотензин-конвертиращия ензим 2 (ACE2) с последващо навлизане на неговата едноверижна рибонуклеинова киселина (sRNA) в клетките гостоприемници. Настъпва двуфазен имунен /citoкинов процес. Първата фаза се характеризира със секреция на цитокини от инфектираните с вируса епителни и антиген представящите клетки (APC): макрофаги, моноцити, дендритни клентки на дихателните пътища. Обикновено след седмица настъпва повторно привличане на адаптивните имунни клетки и до втора вълна на хиперсекреция на цитокини. И в двете фази при пациентите с COVID-19 се установяват значително повишени нива на същите възпалителни цитокини/хемокини както при HLH: IL-1a/β, IP-10, MCP-1, TNFα, IL-1, IL-6, IL-18, IL -8, IL-10, MCP-1 и MIP-1A.^{12,17,18,19} Този данни показват не само припокриване на цитокиновия профил, но и тежко нарушение на имунната регулация, но с предимно генерализирано ендотелно увреждане. Характерната за COVID-19 ендотелна патология се свързва с повишената секреция на IL-1, IL-6 и TNF-α. IL-1 намалява производството на VE-кадхерин, възпрепятствайки функцията на ендотелната бариера, което води до съдово изтичане. Повишените концентрации на TNF-α индуцират деполимеризация на F-актин (важен компонент на цитоскелета) нарушавайки също ендотелната бариера и стимулирайки образуването на междуклетъчни празнини.^{20,21,22,23}

Както вече бе посочено ключовият патогенетичен дефект при HLH е загубата на ефекторните функции на NK за елиминиране на вирусно инфектираните и активираните дендритни, моноцитни и Т клетки, т.е. невъзможността за ограничаване на системния възпалителен отговор. Няколко са вероятните механизми за понижаване на цитолитичната активност на NK клетките при инфекция със SARS-CoV2: хипоксичната микросреда, повишените нива на нива на IL-6 и IL-10, които намалят цитотоксичността на NK клетките и експресията на необходимите за цитолизата PERF, гранзим В и NKG2D^{24,25,26} Доказано е, че SARS-CoV-2 директно блокира функциите на NK клетките, като се свързва с експресирания от тях рецептор на ACE2. И не на последно място при педиатричните пациенти се предполага, че има автоимунна реакция, причинена от молекулярна мимикрия между собствения антиген и SARS-CoV-2^{24,27}

В обобщение - неадекватния антивирусен отговор в ранния стадий на инфекцията с SARS-CoV-2, дължащ се на намален цитолитичен потенциал, може да доведе до забавен вирусен клирънс с продължителна имунна стимулация и увеличени концентрации на провъзпалителни цитокини, които да отключат sHLH. Сама по себе си sHLH е много рядка патология, но по време на пандемията от COVID-19 бе наблюдавано, че броят на пациентите с COVID-19, отговарящи на критериите за HLH, е почти 10 пъти по-висок от общия брой пациенти с HLH, свързани с всички респираторни вируси преди появата на епидемията от COVID-19.^{28,29} Съществуват и единични съобщения за изявата на sHLH при пациенти прекарвали COVID-19 с отрицателни серологични и за обратна транскрипция-полимеразна верижна реакция тестове³⁰. Проблемът се задълбочава и след публикации в литературата за sHLH след ваксинация^{31,32,33}. Въпреки нищожната честота, това е обезпокоителен факт, като се има предвид, че до началото на 2023г в световен мащаб са приложени 13,2 милиарда дози ваксини от 28 разрешени и достъпни за употреба вида.



Фиг 2 Възможни механизми за развитие на sHLH след ваксинации

Han-Qi Zhang и кол намират в базите данни на PubMed и Web of Science до 2023г 17 статии с общо 25 описания на sHLH след ваксинации. Повечето случаи на sHLH са настъпили след вакси-

нация срещу BNT162b2 mRNA срещу COVID-19 (14/25) и до известна степен след ваксинация срещу ChAdOx1 nCov-19 (5/25)³³. Трима от описаните случаи са починали, въпреки лечението, поради разкъсване на хранопровода, неутропенична треска, бактериемичен сепсис, периферно-съдов рефрактерен шок и енцефалопатия. При тези редки странични усложнения най-вероятно специфични компоненти на самата ваксина, като адюванти или вирусни вектори, могат да причинят анормален имунен отговор, особено при генетични дефекти в гените, регулатори на имунния отговор. Патогенетичните механизми за изявата на sHLH след ваксинацията срещу COVID-19 все още не са уточнени. Според Oroka-Winiarska V и кол се предполага, че подобно имунно активиране, може да предизвика характерната за HLH цитокинова буря на базата на взаимното стимулиране между макрофагите, активираните CD8+ Т и APC клетки. Смята се също, че секрецията IL-1-бета от макрофагите в отговор на пиковия протеин, произведен от иПНК ваксини, е отговорна за старта на хипервъзпалителен синдром след SARS-CoV-2 /иПНК ваксинация³⁴. Разбира се, при описаните случаи с sHLH след преболедуване или след ваксиниране, винаги трябва да се има предвид времевата връзка между тях, което не винаги предполага причинно-следствена връзка. (sHLH може да възникне самостоятелно или да бъде предизвикано от други причини, несвързани с имунизацията).

ДИАГНОЗА

Независимо от многобройните критики, за диагностиката на sHLH след COVID-19 се използват, както диагностичните критерии на Histiocyte Society, така и H-Score 2014, които представляват един комплекс от клинични и лабораторни находки: значително повишен феритин, хепато/спленомегалия, цитопении, хипо-фибриногенемия, повишени триглицериди, хемофагоцитоза, ниска или липсваща NK клетъчна активност, повишен разтворим IL-2 рецептор (sIL-2r)³⁵. Категорично тежките COVID-19 и HLH притежават сходни клинични и патофизиологични характеристики. Отбелязват се и някои клинично-лабораторни различия: при COVID-19 по-рядко се наблюдава хепатоспленомегалия, хипофибриногенемия, цитопении, нивата на феритин, IL-18, IFN- γ , както и на активиращите NK клетките IL-12, IL-15 и IL-21 са по-ниски в сравнение с HLH.^{35, 36, 37, 38, 39} По-тежка прогресия на COVID-19 и по-висока смъртност са наблюдавани, обаче при пациенти с по-висок H-скор и съмнение за HLH.^{35, 40, 41} Според Meng et al. тромбоцитопенията ($<101 \times 10^9/L$), повишеният феритин ($>1922,58$ ng/ml) и нивото на триглицеридите ($>2,28$ mmol/L) са независими рискови фактори за sHLH при па-

циенти с COVID-19⁴¹. Бързата прогресия на заболяването, наблюдавана при пациенти с COVID-19, може да бъде свързана с sHLH, развиващ се в отговор на вирусната инфекция³⁴. В проучванията на Hakim et al.³⁶ Loscocco et al.³⁷ и Wood et al.³⁸ се сравняват двете заболявания чрез диагностичната система H-Scores. Повечето пациенти с тежко протичащ COVID-19 не достигат диагностичния праг за HLH. Подобни са резултатите на Lorenz et al., който оценява проспективно H-Scores критериите при 19 тежки пациенти с тежък COVID-19, приети в интензивно отделение. От необходимите 169 точки, те установяват среден H-Score от 122, при липса на потвърдено наличие на хемофагоцитоза върху аспират от костен мозък.⁴² Само един пациент достига праг >169 точки при отсъствие на хемофагоцитоза в костен мозък и шест пациенти са с праг >169 при положителна находка от аспират.⁴² Известно е, обаче че хемофагоцитозата е късна находка, която може да се докаже и в други тъкани и органи. Prilutskiy et al. от аутопсионни данни при 4 пациенти с тежък COVID-19 намират хемофагоцитоза в белодробните хиларни/медиастинални лимфни възли, но при нито един в костния мозък.⁴³ Същият колектив изследва ретроспективно 152 пациенти с положителна полимеразна верижна реакция за COVID-19 и установяват среден по стойност H-Score.⁴⁴ В по-широк панел диагностични критерии при пациенти със sHLH след COVID-19 се предлагат, sIL-2r, разтворимият CD163, количеството на CD56^{DIM} (намалени) и CD56^{BRIGHT} (повишени), CD107a^{pos} (намалени), D-димери, хемостазен статус, ЛДХ, чернодробни ензими и някои комбинации по-между им (СУЕ/феритин, феритин / разтворимият CD163).

ЛЕЧЕНИЕ

Високата смъртност при COVID-19 предизвика бързо включване на различни имunosупресивни средства, ГКС, протеазни инхибитори, интерферони, моноклонални антитела, интравенозни имуноглобулини (IVIg), ваксини. Подобно поведение показва определена непоследователност в лечението, а терапевтичното поведение -разнопосочно и неубедително, дори вредно. На този фон е повече от ясно, че ранното диагностициране на sHLH след COVID-19 и започването на мощно имunosупресивно лечение е от изключително значение. Насочената имunosупресия срещу IL-6 с тоцилизумаб, срещу IL-1 с анакинра и срещу-IFN- γ с емапалумаб при COVID-19 се оказа противоречива - от намаляващи риска от механична вентилация до липса на подобрение.^{45, 46, 47, 48, 49} Неубедителни са резултатите и при sHLH. Въпреки, че не са проучени IVIg се смята, че имат имуномодулиращ ефект чрез инхибиране на комплемента

и неутрализиране на цитокините. Фосфодиестеразните инхибитори (PDEi) са друга все още непроучена възможност при sHLH, които потискат проинфламаторните медиатори и забавят белодробната фиброза. При инфекция с COVID-19 е тестван финголимод (неселективен агонист на сфингозин 1-фосфатния рецептор), който инхибира IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, MCP-1, TNF- α и GM-CSF [167]. Подобно на PDEi, финголимод не е оценен при HLH⁵⁰. Етопозид и циклоспорин са стандарт за лечение на sHLH, които трябва да бъдат включени след внимателна преценка на цитокинната буря – от инфекцията или поради развитието на sHLH, свързана с COVID-19. При засягане на ЦНС може да се използва интратекален метотрексат и дексаметазон. Друг потенциален терапевтичен продукт – руксолитиниб, селективен инхибитор на Janus-свързаните кинази (JAKs) и сигналния транскриптор STAT се тества при диагностициране на HLH след COVID-19 или ваксинация. Блокажът на JAK-STAT пътя се предполага, че ще понижи секрецията на проинфламаторните цитокини IFN- α/β , IFN- γ , IL-2, IL-6 и IL-10. В проучването (COV-BARRIER) се доказва, че барицитиниб значимо намалява смъртността при критично болни пациенти с COVID-19 в сравнение с групата на плацебо^{51,52}. Понастоящем единственият инхибитор на JAK, одобрен от FDA за спешна употреба, е барицитиниб. Друг потенциално ефективен агент при COVID-19/ HLH е BTK инхибитор акалабрутиниб, който в проучването на Roschewski *et al.* е показал намаление на инфламаторните цитокини до нормални нива при повечето от 19 хоспитализирани пациенти с тежък COVID-19⁵³.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

COVID-19 е потенциално животозастрашаващо заболяване с полиорганна недостатъчност, резултат от цитокинова свърхсекреция, подобна на биохимичния профил наблюдаван при HLH. При тежкия COVID-19 и клиничните характеристики също са сходни с вирусно асоциирана sHLH. Развитието на HLH на фона COVID-19 е реална възможност. Двете състояния, обаче не са синоними, независимо, че са описани немалък брой пациенти с COVID-19/ HLH, които отговарят на класическите диагностични критерии HLH-2004 и/или имат достатъчен HScore, вкл хемофагоцитоза. Тези литературни данни по скоро потвърждават общия патогенетичен модел в свърхескерцията на проинфламаторни цитокини или т.нар цитокинна буря. Диагностицирането на sHLH по време на- или след COVID-19, както и още по-редките случаи след ваксинация е мултидисциплинарен проблем и от особено значение за ранния спасяващ старт на мощна и насочена имunosупресивна

терапия.

Бележка за авторите: Авторският колектив е бил непосредствено ангажиран или консултирал пациенти с тежък COVID-19 по време на пандемията от 2019 -2023г

Адрес за кореспонденция:

проф д-р Веселина Горанова, дм;

Клиника по хематология към УМБАЛ „Св Георги“ - Пловдив

GSM: 088 888 5741

Contact data:

Prof. Veselina Goranova-Marinova, MD, PhD,
Clinic of Clinical Hematology, UMBAL „St. George“
Medical University – Plovdiv 15A Vasil Aprilov Blvd
Tel: 088 888 5741

E-mail: vesselina_goranova@yahoo.com;

Veselina.Goranova@mu-plovdiv.bg

БИБЛИОГРАФИЯ:

1. Yu Ri Kim, Dae-Young Kim Current status of the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults *Blood Res* 2021 Apr 30;56(S1):S17-S25. doi: 10.5045/br.2021.2020323.
2. Griffin G, Shenoi S, Hughes GC. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2020;34:101515. doi: 10.1016/j.berh.2020.101515
3. Ayşe Gonca Kaçar, Tiraje Tülin Celkan Hemophagocytic Lymphohistiocytosis *Balkan Med J.* 2022 Sep; 39(5): 309–317. Published online 2022 Sep 9. doi: 10.4274
4. Grom AA. Natural killer cell dysfunction: A common pathway in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis, macrophage activation syndrome, and hemophagocytic lymphohistiocytosis? *Arthritis. Rheum.* 2004;50:689–698. doi: 10.1002/art.20198
5. Vassilopoulos A, McCormick W, Lakhani A. Update in Hyperferritinemic Syndromes: Recognition and Management - A Scoping Review. *Brown Hospital Medicine.* 2022;1 (3). doi:10.56305/001c.37667
6. Mosser, D.M., Edwards, J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology*, 8. 958-969. 2008.
7. Marcenaro E, Ferranti B, Moretta A. NK-DC interaction: On the usefulness of auto-aggression. *Autoimmun.Rev.* 2005;4:520–525. doi: 10.1016/j.autrev.2005.04.015.
8. Vitale M., Cantoni C., Chiesa M.D., Ferlazzo G., Carlomagno S., Pende D., Falco M., Pessino A., Muccio L., de Maria A., et al. An historical overview: The discovery of how NK cells can kill enemies, recruit defense troops, and more. *Front. Immunol.* 2019;10:1415. doi: 10.3389/fimmu.2019.01415.
9. Yu Ri Kim, Dae-Young Kim Current status of the diagnosis and treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults *Blood Res* 2021 Apr 30;56(S1):S17-S25. doi: 10.5045/br.2021.2020323.
10. Griffin G, Shenoi S, Hughes GC. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2020;34:101515. doi: 10.1016/j.berh.2020.101515
11. Yi Miao, Jing Zhang, Qingqing Chen, Lingxiao Xing, Tonglu Qiu, Huayuan Zhu, Li Wang, Lei Fan, Wei Xu, Jianyong Li Spectrum and trigger identification of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: A single-center analysis of 555 cases *Front Immunol.* 2022; 13: 970183. Published online 2022 Aug 12. doi: 10.3389/fimmu.2022.970183
12. Raymond Chu, Charmaine van Eeden, Sneha Suresh Do COVID-19 Infections Result in a Different Form of Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis? *International Journal of Molecular Sciences.* 2021; 22(6):2967. <https://doi.org/10.3390/ijms22062967>
13. Shoenfeld Y. Corona (COVID-19) time musings: Our involvement in COVID-19 pathogenesis, diagnosis, treatment and vaccine planning. *Autoimmun. Rev.* 2020;102538. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102538.
14. Ruscitti P, Berardicurti O, Di Benedetto P, Cipriani P, Iagnocco A., Shoenfeld Y, Giacomelli R. Severe COVID-19, Another Piece in the Puzzle of the Hyperferritinemic Syndrome. An Immunomodulatory Perspective to Alleviate the Storm. *Front. Immunol.* 2020;11:1130. doi: 10.3389/fimmu.2020.01130.
15. Mehta P, McAuley D.F., Brown M., Sanchez E., Tattersall R.S., Manson J.J. COVID-19: Consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020;395:1033–1034. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.
16. Henderson L.A., Canna S.W., Schulert G.S., Volpi S., Lee P.Y., Kernan K.F., Caricchio R,

- Mahmud S., Hazen M.M., Halyabar O., et al. On the Alert for Cytokine Storm: Immunopathology in COVID-19. *Arthritis Rheumatol.* 2020;72:1059–1063. doi: 10.1002/art.41285.
17. Diao B, Wang C, Tan Y, Chen X, Liu Y, Ning L, Chen L, Li M, Liu Y, Wang G. Reduction and functional exhaustion of T Cells in patients with Coronavirus disease 2019 (COVID-19) medRxiv. 2020 doi: 10.3389/fimmu.2020.00827.
 18. Huang C., Wang W., Li X., Ren L., Zhao J., Yu Y., Zhang L., Guohui F., Xu J., Gu X. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395:497–506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
 19. Qin C., Zhou L., Hu Z., Zhang S., Yang S., Tao Y., Xie C., Ma K., Shang K., Wang W., et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clin. Infect. Dis.* 2020 doi: 10.2139/ssrn.3541136
 20. Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M., Haverich A., Welte T., Laenger F., Vanstapel A., Welein C., Stark H., Tzankov A., et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in COVID-19. *N. Engl. J. Med.* 2020;383:120–128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432151.
 21. Libby P., Luscher T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. *Eur. Heart J.* 2020;41:3038–3044. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa623.
 22. Bindoli S., Felicetti M., Sfriso P. The amount of cytokine-release defines different shades of Sars-Cov2 infection. *Exp. Biol. Med.* 2020;245:970–976. doi: 10.1177/1535370220928964.
 23. Goldblum S.E., Ding X., Campbell-Washington J. TNF-alpha induces endothelial cell F-actin depolymerization, new actin synthesis, and barrier dysfunction. *Am. J. Physiol.* 1993;264:C894–C905. doi: 10.1152/ajpcell.1993.264.4.C894.
 24. Osman M.S., van Eeden C., Cohen Tervaert J.W. Fatal COVID-19 infections: Is NK cell dysfunction a link with autoimmune HLH? *Autoimmun. Rev.* 2020;19:102561. doi: 10.1016/j.autrev.2020.102561
 25. Schulert GS, Zhang M., Fall N., Husami A., Kissell D., Hanosh A. Whole-Exome Sequencing Reveals Mutations in Genes Linked to Hemophagocytic Lymphohistiocytosis and Macrophage Activation Syndrome in Fatal Cases of H1N1 Influenza. *J Infect Dis.* 2016 z; 213 (7): 1180–1188
 26. Pedersen SF, Ho Y. SARS-CoV-2: a storm is raging *J Clin Invest.* 2020 z; 130 (5): 2202–2205.
 27. Rivellese F., Prediletto E. ACE2 at the centre of COVID-19 from paucisymptomatic infections to severe pneumonia *Autoimmun Rev.* 2020 Jun;19(6):102536.
 28. Mehmet Soy, Pamir Atagündüz, Işık Atagündüz, and Gülsan Türköz Sucak Hemophagocytic lymphohistiocytosis: a review inspired by the COVID-19 pandemic *Rheumatol Int.* 2021 Jan;41(1):7–18. doi: 10.1007/s00296-020-04636-y. Epub 2020 Jun 25.
 29. Mahdi M Fadlallah, Sarah M Salman, Mariam M Fadlallah, and Hassan Rahal Hemophagocytic Syndrome and COVID-19: A Comprehensive Review *Cureus.* 2023 ; 15(3): e36140. doi: 10.7759/cureus.36140
 30. Pranjal Kalita, Devina Laishram, Biswajit Dey, Jaya Mishra, Bhupen Barman, Himesh Barman Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Post-COVID-19 Patients: A Report of Two Cases *Cureus.* 2021 Aug 20;13(8):e17328. doi: 10.7759/cureus.17328. eCollection 2021 Aug.
 31. Hieber ML, Sprute R, Eichenauer DA, Hallek M, Jachimowicz RD Hemophagocytic lymphohistiocytosis after SARS-CoV-2 vaccination. *Infection.* 2022 Oct;50(5):1399–1404. doi: 10.1007/s15010-022-01786-y. Epub 2022 Feb 26.PMID: 35218512
 32. Wiwanitkit S, Wiwanitkit V. Hum Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) after COVID-19 vaccination. *Vaccin Immunother.* 2023 Dec 15;19(3):2279390. doi: 10.1080/21645515.2023.2279390. Epub 2023 Nov 16.PMID: 37970640
 33. Han-Qi Zhang, Bu-Zi Cao, Qing-Tai Cao, Marady Hun, Lin Cao, Ming-Yi Zhao An analysis of reported cases of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) after COVID-19 vaccination *Hum Vaccin Immunother.* 2023 Aug;19(2):2263229. doi: 10.1080/21645515.2023.2263229. Epub 2023 Oct 9
 34. Opoka-Winiarska V, Grywalska E, Roliński Could hemophagocytic lymphohistiocytosis be the core issue of severe COVID-19 cases? *J.BMC Med.* 2020 Jul 15;18(1):214. doi: 10.1186/s12916-020-01682-y.PMID: 32664932
 35. Bordbar M, Sanaei Dashti A, Amanati A, Shorafa E, Mansoori Y, Dehghani SJ, Molavi Vardanjani H Assessment of the HScore as a predictor of disease outcome in patients with COVID-19. *BMC Pulm Med.* 2021;21:338.
 36. Hakim NN, Chi J, Olazagasti C, Liu JM. *Exp Biol Med (Maywood)* 2021;246:5–9. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis versus cytokine release syndrome in severe COVID-19 patients.
 37. Loscocco GG, Malandrino D, Barchiesi S, Berni A, Poggesi L, Guglielmelli P, Vannucchi AM. *Int J Lab Hematol.* 2020;42:0–3 The HScore for secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis, calculated without a marrow biopsy, is consistently low in patients with COVID-19.
 38. Wood H, Jones JR, Hui K, et al. *Br J Haematol.* 2020;190:0–5. Secondary HLH is uncommon in severe COVID-19.
 39. McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, Bridgewood C. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. *Autoimmun Rev.* 2020;19:102537
 40. Allen J, McCambridge MM, Kincaid H, Kalter JA Incidence of secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in critically-ill COVID-19 patients. *Cureus.* 2021;13:0.
 41. Meng M, Chen L, Zhang S, et al Risk factors for secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in severe coronavirus disease 2019 adult patients. *BMC Infect Dis.* 2021;21:398.
 42. Lorenz G., Moog P, Bachmann Q, La Rosee P, Schneider H., Schlegl M., Spinner C., Heemann U., Schmid R.M., Algül H., et al. Cytokine release syndrome is not usually caused by secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in a cohort of 19 critically ill COVID-19 patients. *Sci. Rep.* 2020;10:1–11. doi: 10.1038/s41598-020-75260-w.
 43. Prilutskiy A., Kritselis M., Shevtsov A., Yambayev I., Vadlamudi C., Zhao Q., Kataria Y., Sarosiek S., Lerner A., Sloan J.M., et al. SARS-CoV-2 infection associated hemophagocytic Lymphohistiocytosis: An autopsy series with clinical and laboratory correlation. *medRxiv.* 2020 doi: 10.1101/2020.05.07.20094888
 44. Clark K.E., Nevin W.D., Mahungu T., Lachmann H., Singh A. Assessment of the hemophagocytic lymphohistiocytosis HScore in patients with coronavirus disease 2019. *Clin. Infect. Dis.* 2020 doi: 10.1093/cid/ciaa1463
 45. Stone J.H., Frigault M.J., Serling-Boyd N.J., Fernandes A.D., Harvey L., Foulkes A.S., Horick N.K., Healy B.C., Shah R., Bensaci A.M., et al. Efficacy of tocilizumab in patients hospitalized with COVID-19. *N. Engl. J. Med.* 2020 doi: 10.1056/NEJMoa2028836.
 46. Guaraldi G., Meschiari M., Cozzi-Lepri A., Milic J., Tonelli R., Menozzi M., Franceschini E., Cuomo G., Orlando G., Borghi V., et al. Tocilizumab in patients with severe COVID-19: A retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020;2:e474–e484. doi: 10.1016/S2665-9913(20)30173-9.
 47. Huet T., Beaussier H., Voisin O., Jouvesshomme S., Dauriat G., Lazareth I., Sacco E., Naccache J.M., Bézie Y., Laplanche S., et al. Anakinra for severe forms of COVID-19: A cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020 doi: 10.1016/S2665-9913(20)30164-8.
 48. Cavalli G., De Luca G., Campochiaro C., Della-Torre E., Ripa M., Canetti D., Oltolini C., Castiglioni B., Din C.T., Boffini N., et al. Interleukin-1 blockade with high-dose anakinra in patients with COVID-19, acute respiratory distress syndrome, and hyperinflammation: A retrospective cohort study. *Lancet Rheumatol.* 2020 doi: 10.1016/S2665-9913(20)30127-2.
 49. Mariette X., Hermine O., Resche-Rigon M., Porcher R., Ravaut P., Bureau S., Dougados M., Tibi A., Azoulay E., Cadranet J., et al. Effect of anakinra versus usual care in adults in hospital with COVID-19 and mild-to-moderate pneumonia (CORIMU-NO-ANA-1): A randomised controlled trial. *Lancet Respir. Med.* 2021 doi: 10.1016/S2213-2660(20)30556-7.
 50. Ikumi K., Ando T., Katano H., Katsuno M., Sakai Y., Yoshida M., Saido T., Kimura H., Sobue G. HSV-2-related hemophagocytic lymphohistiocytosis in a fingolimod-treated patient with MS. *Neurol. Neuroimmunol.*
 51. Efficacy and safety of baricitinib for the treatment of hospitalised adults with COVID-19 (COV-BARRIER): a randomised, double-blind, parallel-group, placebo-controlled phase 3 trial. Marconi VC, Ramanan AV, de Bono S, et al. *Lancet Respir Med.* 2021;9:1407–1418
 52. Baricitinib in hospitalised patients with COVID-19: a meta-analysis of randomised controlled trials. Selvaraj V, Finn A, Lal A, Khan MS, Dapaah-Afryie K, Carino GP. *EclinicalMedicine.* 2022;49:101489.
 53. Roschewski M, Lionakis MS, Sharman JP, Roswarski J, Goy A, Monticelli MA, Roshon M, Wrzesinski SH, Desai JV, Zarakas MA, Collen J, Rose K, Hamdy A, Izumi R, Wright GW, Chung KK, Baselga J, Staudt LM, Wilson WH. Inhibition of Bruton tyrosine kinase in patients with severe COVID-19. *Sci Immunol* 2020;5:eabd0110.

РАННО ЛИМФОЦИТНО ВЪЗСТАНОВЯВАНЕ: РИСКОВИ ФАКТОРИ И УСЛОЖНЕНИЯ, СВЪРЗАНИ С ИЗХОДА ОТ АЛОГЕННА ТРАНСПЛАНТАЦИЯ НА ХЕМОПОЕТИЧНИ СТВОЛОВИ КЛЕТКИ ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОСТРА ЛЕВКЕМИЯ И МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕН СИНДРОМ

К. Милчева¹, К. Венков¹, И. Тонев¹, Й. Лазарова¹, Е. Насева², Г. Михайлов¹

1 – Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания – СБАЛХЗ, София

2 – Медицински университет - София, Факултет по обществено здраве
„Проф. д-р Ц. Воденичаров, дмн“

EARLY LYMPHOCYTE RECOVERY AS AN INDEPENDENT PROGNOSTIC FACTOR FOR OUTCOME FROM ALLOGENIC HEMOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA AND MYELODYSPLASTIC SYNDROME

K. Milcheva¹, K. Venkov¹, I. Tonev¹, Y. Lazarova¹, E. Naseva², G. Mihaylov¹

1 – Specialized hospital for active treatment of hematological diseases - SBALHZ, Sofia

2 – Medical University of Sofia, Faculty of Public Health “Prof. Tsekomir Vodenicharov, MD, DSc”

Резюме.

Въведение: Алогенната трансплантация на стволови клетки (АлоСКТ) е доказан терапевтичен метод, но все още свързан със значителна заболеваемост и смъртност. Рецидивът и смъртността, свързана със самата процедура (NRM), са основни причини за неуспех от АлоСКТ. Установяването на рисковите фактори, продължава да бъде обект на задълбочени научни изследвания.

Цел: Да се проучат рисковите фактори и усложненията, свързани с ранното лимфоцитно въз-становяване (РЛВ) и изхода от АлоСКТ при пациенти със злокачествени хематологични заболявания.

Материали и методи: В изследването са включени 96 пациента, с диагнози остра миелоидна левкемия (ОМЛ), миелодиспластичен синдром (МДС) и остра лимфобластна левкемия (ОЛЛ), преди-нали АлоСКТ в Отделение за трансплантация на хемопоеитични стволови клетки към СБАЛХЗ ЕАД за периода 2017-2021 г. Базирайки се на наше предходно изследване за прогностичната роля на РЛВ като абсолютен лимфоцитен брой (АЛБ) за изхода от АлоСКТ, по отношение на общата преживяе-мост (OS), пациентите са разделени и оценени в две групи – със забавено лимфоцитно възстановяване (ЗЛВ) с АЛБ < 0,220 x 10⁹/L и с РЛВ с АЛБ ≥ 0,220 x 10⁹/L.

Резултати: При медиана на проследяването 54,7 месеца, медианата на OS, свободната от прогресия преживяемост (PFS), кумулативна честота на релапс (CIR) и NRM за пациентите с РЛВ не са достигнати. Резултати от АлоСКТ на първата и третата година са значимо по-добри за групата на РЛВ. Като значими рисковите фактори за РЛВ бяха идентифицирани – индексът на риск на заболява-нето (disease risk index, DRI), отговорът към АлоСКТ и изборът на хаплоидентичен донор. Анализът на данни спрямо значимостта на РЛВ по отношението на усложненията в следтрансплантационния период, достигна до ключови заключения относно aGvHD, cGvHD и свързаната с тях преживяемост.

Заклучение: РЛВ е доказан, клинично значим прогностичен фактор за изхода от трансплантацията. Идентифицирането и моделирането на рисковите фактори и усложненията, свързани с РЛВ могат чувствително да подобрят резултатите от АлоСКТ.

Ключови думи: алогенна трансплантация, остра левкемия, миелодиспластичен синдром, лимфоцитно възстановяване, изход от трансплантация

Abstract

Introduction: Allogeneic stem cell transplantation (AlloSCT) is a therapeutic method for the treatment of a large number of

malignant and non-malignant hematological diseases, still associated with significant morbidity and mortality. Disease relapse and non-relapse mortality (NRM) remain the main causes of failure from AlloSCT. The identification of the risk factors associated with this continue to be a subject of extensive scientific researches.

Aim: To investigate the risk factors and complications associated with early lymphocyte recovery (ELR) and the outcome of AlloSCT in patients with malignant hematological diseases.

Materials and methods: The study included 96 patients with diagnosed with acute myeloid leukemia (AML), myelodysplastic syndrome (MDS) and acute lymphoblastic leukemia (ALL), who underwent AlloSCT in the Hematopoietic Stem Cell Transplantation Department at SBALHZ EAD for the period 2017-2021. Based on our previous study on the prognostic role of ELR as absolute lymphocyte count (ALC) for the outcome of AlloSCT, in terms of OS, patients were divided and evaluated into two groups - delayed lymphocyte recovery (DLR) with $ALB < 0.220 \times 10^9/L$ and with ELR with $ALB \geq 0.220 \times 10^9/L$.

Results: At median follow-up 54.7 months, median OS, progression-free survival (PFS), cumulative incidence of relapse (CIR) and NRM for patients with ELR were not reached. AlloSCT results at the first and third year were significantly better for the ELR group. The disease risk index (DRI), the response to AlloSCT and the choice of a haploidentical donor were identified as significant risk factors for ELR. Analysis of the data regarding the significance of ELR in relation to complications in the post-transplant period reached a key to the inclusion of aGvHD, cGvHD and established survival.

Conclusion: ELR is a proven, clinically significant prognostic factor for transplant outcome. Identification and modeling of the risk factors and complications associated with LVH can significantly improve the outcomes of AlloSCT.

Key words: allogeneic transplantation, acute leukemia, myelodysplastic syndrome, lymphocyte recovery, risk factors, outcome of allogeneic transplantation

ВЪВЕДЕНИЕ

Алогенната трансплантация на стволови клетки (АлоСКТ) е доказан терапевтичен метод за лечение на редица хематологични заболявания, но все още е свързана със значителна заболяемост и смъртност [1, 2, 3]. Рецидивът на заболяването и смъртността, свързана със самата процедура, остават основните причини за неуспех от АлоСКТ. Антилевкемичният ефект на АлоСКТ е резултат от два ключови биологични процеса: елиминирането на резидуалните, химиочувствителни туморни клетки от кондициониращата химиотерапия и антилевкемичния ефект на присадката (graft versus leukemia, GVL). GVL е неизменно свързан с острата и хронична реакция на присадката срещу приемателя (graft versus host disease (GvHD)), но ефектът на GvL не е зависи изцяло от GvHD. Ефекторният механизъм на GVL и GvHD е сложен и все още не напълно разбран [4]. Медицината продължава да е в търсене и моделиране на рисковите фактори пряко свързани с подобряване на изхода от АлоСКТ. Решаващо значение за подобряване на общата преживяемост и намаляване на смъртността без рецидив след АлоСКТ има навременната и функционално адекватна имунна реконституция. Сурогатен маркер за това е възстановяването на донорната лимфоидна система, представена от циркулиращите в периферната кръв лимфоцити. Ролята на РЛВ като биологично значим прогностичен маркер за изхода от трансплантацията и свързаните с него рискови фактори, са обект на изследване на редица проучвания [5, 6, 7, 8].

ЦЕЛ

Да се проучат рисковите фактори и усложненията, свързани с РЛВ и изхода от АлоСКТ при пациенти със злокачествени хематологични заболявания.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Пациенти

В изследването са включени 96 пациента, с диагнози ОМЛ, МДС и ОЛЛ, преминали АлоСКТ в Отделение за трансплантация на хемопоемни стволови клетки към СБАЛХЗ ЕАД за периода 2017-2021 г. Периодът на проучването е 6 години. Демографските, клиничните и лабораторните данни за пациентите са получени от електронните досиета в болничната информационна система (БИС) и трансплантационното досие на пациентите.

1.1. Включващи критерии: Пациенти на възраст ≥ 18 ; Диагноза: ОМЛ, МДС, ОЛЛ; Отговарят на актуалните за периода на проучването показания и терапевтичните алгоритми за включване в алогенна трансплантационна програма, както следва [9]; Подписано информирано съгласие за провеждане на АлоСКТ; Документирано прихващане – първия от 3 последователни дни с абсолютен брой на неутрофилите по-висок от $0,5 \times 10^9/L$ (при задържане на стойности $>20 \times 10^9/L$ на тромбоцитите и хемоглобин $>80 \text{ g/L}$, без необходимост от кръвопреливане); Преживяни 30 дни след АлоСКТ.

1.2. Изключващи критерии: Пациенти с различна от гореописаните диагноза, вкл. остра промиелоцитна левкемия и рецидивирала или de novo

остра левкемия след първа АлоСКТ; Пациенти с първичен графт фейлър, отхвърляне на графта, недобро функциониране на графта, отхвърляне на графта, съгласно общоприетите дефиниции [10].

2. РЛВ като прогностичен фактор за изхода от АлоСКТ

Първначална оценката на РЛВ като АЛБ е направена при 70 пациента на Д+14, Д+21, Д+30 след АлоСКТ. Прилагайки регресионен анализ на Сох и ROC крива, като значим фактор за изхода от АлоСКТ по отношение на OS беше доказан АЛБ $0,220 \times 10^9/L$ на Д+21. На базата на тази стойност, пациентите са групирани и оценени в две групи – със ЗЛВ с АЛБ $< 0,220 \times 10^9/L$ и с РЛВ с АЛБ $\geq 0,220 \times 10^9/L$.

3. Дефинициите, свързани с оценка на изхода от трансплантацията и посттрансплантационните усложнения са съгласно общоприетите критерии и препоръки [10, 11].

3.1 Статистически анализ

Статистически анализ включва оценката на количествените променливи, представени със средна аритметична и стандартно отклонение или медиана и размах (минимум и максимум) и категорични

с абсолютни и относителни честоти. За проверка на наличие на връзка между категорични променливи е приложен хи (χ^2) квадрат анализ (екзактен тест на Fisher). При проверката на значимост на разликата между две средни от две независими извадки е използван непараметричен тест на Ман-Whitney. За търсене на значими фактори по отношение на преживяемостта и други събития, развиващи се във времето, е приложен регресионен анализ на Сох, както и log-rank тест (Mantel-Cox). Формата на разпределението е установена с тест на Kolmogorov–Smirnov. Стойности на $p < 0,05$ са приети за значими.

РЕЗУЛТАТИ

1. Характеристика на пациентите и трансплантационната програма

Основните характеристики на 96 пациенти, групирани според лимфоцитното възстановяване, са представени в таблица 1. Медианата на проследяване е 54,7 месеца (95% CI 1395,965 - 1936,035) . При всички пациенти стволовите хемопоеични клетки са добити от периферна кръв след стимулация с растежен фактор.

Показатели		АЛБ Д+21 $< 220 \times 10^9/L$		АЛБ Д+21 $\geq 220 \times 10^9/L$		p
		N	%	N	%	
Възраст (год.)	<40	16	38,1%	26	61,9%	0,325
	≥ 40	26	48,1%	28	51,9%	
Пол	мъж	27	41,5%	38	58,5%	0,527
	жена	15	48,4%	16	51,6%	
Диагноза	ОМЛ	24	39,3%	37	58,3%	0,651
	МДС	2	40,0%	3	75,0%	
	ОЛЛ	16	53,6%	14	50,0%	
ECOG PS	0-1	39	41,9%	54	59,7%	0,08
ECOG PS	2	3	100,0%	0	0,0%	
HCT CI	0-2	37	41,6%	52	60,3%	0,234
	3-5	5	71,4%	2	28,6%	
DRI	Нисък + междинен	17	32,7%	35	67,3%	0,018
	Висок + много висок	25	56,8%	19	43,2%	
RR АлоСКТ	CR1	17	33,3%	34	66,7%	0,045
	CR2/CR3	7	43,8%	9	56,2%	
	RR	18	62,1%	11	37,9%	

ABO - несъвместимост	малка	11	50,0%	11	50,0%	0,303
	голяма	6	37,5%	10	62,5%	
	двупосочна	4	76,5%	1	23,5%	
	съвместими	21	45,7%	32	54,3%	
HLA- съвместимост	MRD	10	38,5%	16	51,5%	0,524
	MURD	19	35,8%	34	64,2%	0,083
	Haplo	13	76,5%	4	27,5%	0,003
Полово отношение донор - реципиент	Жена донор – мъж реципиент	11	44,0%	14	56,0%	0,997
Кондициониращ режим	MAC	21	39,6%	32	60,4%	0,365
	RIC	21	48,8%	22	51,2%	
	TBI - базиран	16	50,0%	16	50,0%	0,303
	Bu - базиран	25	42,4%	34	57,6%	
	ATG - съдържащ	23	51,1%	22	48,9%	0,172

Таблица 1. Характеристики на пациентите и трансплантационната програма, стратифицирани според АЛБ

2. Ролята на ранното лимфоцитно възстановяване за изхода от трансплантацията

Стратифицирани на базата на лимфоцитното възстановяване, медианата на OS, PFS, CIR за РЛВ не са достигнати, в сравнение с групата на ЗЛВ, при които са съответно – 225 (p < 0,000), 196 (p < 0,000), 393 (p = 0,022) дни. Медианата на NRM не е достигната и в двете групи, но времето до настъпване на събитие е значимо по-дълго за пациентите с РЛВ - 2261 дни в сравнение с 1889 дни за групата на ЗЛВ, (p = 0,003).

Резултати от АлоСКТ на първата и третата година в двете групи са представени в таблица 2. Значимо по-добри резултати бяха отчетени както на първата, така и на втората година от АлоСКТ при пациентите, които достигат АЛБ $\geq 0,220 \times 10^9/L$ на 21-ден след инфузията на стволови клетки.

Променлива	АЛБ +21 <0,220 x 10 ⁹	АЛБ +21 ≥ 0,220 x 10 ⁹	p
OS-1 година	35,7%	75,9%	p < 0,000
PFS-1 година	33,3%	70,4%	p < 0,000
CIR-1 година	49,4%	25,2%	p < 0,022
NRM-1 година	39,1%	8,1%	p = 0,003
OS-3 година	29,5%	67,8%	p < 0,000
PFS-3 година	27,1%	60,2%	p < 0,000
CIR-3 година	53,0%	30,1%	p < 0,022
NRM-3 година	39,1%	12,9%	p = 0,003

Таблица 2. Резултати, свързани с трансплантацията на 1-вата година

3. Фактори, свързани с ранното лимфоцитно възстановяване

За идентифициране влиянието на перитрансплантационните фактори от таблица 1, върху лимфоцитното възстановяване в ранния следтрансплантационен период, приложихме χ^2 тест и тест на Mann-Whitney. Доказхме статистически значима връзка между АЛБ Д+21 и: DRI, отговорът към АлоСКТ, изборът на хаплоидентичен донор - таблица 1.

По отношение на DRI, разпределението на пациентите показва превес на пациентите с РЛВ в групата с нисък-интермедиерен риск, които са 67,3 % (35). В сравнение с тях, пациентите със ЗЛВ с нисък-интермедиерен риск, са наполовина по-малко – 32,7% (17). При пациентите с висок-много висок риск преобладава тенденцията за забавяне на лимфоцитното възстановяване – 56,8% (25).

Стратифицирани на базата на лимфоцитното възстановяване, разпределението на пациентите, според постигнатия отговор преди АлоСКТ показва, че 66,7% (34) от пациентите трансплантирани в първа пълна ремисия достигат АЛБ на Д+21 $\geq 0,220 \times 10^9/L$, докато при 33,3 % (17) АЛБ на Д+21 остава под $0,220 \times 10^9/L$. Противоположно изглежда стойностите при пациентите, трансплантирани в Р/Р статус – почти 2/3 от тях показват забавяне на лимфоцитното възстановяване.

Напълно очаквано пациентите, които са трансплантирани от хаплоидентичен донор показват забавено лимфоцитно възстановяване, като 13 (76,5%) от тях са с АЛБ Д+21 под $0,220 \times 10^9/L$ (p = 0,003).

Композицията на присадката, представена от

медианата на прелятите CD34+ и CD3+ донорни клетки, в нашата група от пациенти, не беше идентифицира като статически значим фактор, корелиращ с лимфоцитното възстановяване.

Хематологичното възстановяване, включително и възстановяването на NK-клетки, също бяха проследени в динамика в двете групи. Наблюдава се сигнификатно забавяне на неутрофилното и тромбоцитно възстановяване в групата на АЛБ Д+21 < 0,220 x 10⁹/L – медиана 17 и 19 дни срещу 13 и 12 дни за РЛВ. Както и по-ниски стойности на WBC, Hb, PLT, NK-клетки, Neu в края на първи месец от АлоСКТ, без да се доказва статистическа значимост за NK-клетки и Neu. Това потвърждава, че РЛВ може да бъде статистически доказан сурогатен маркер за стабилно захващане на графта, проследявайки времето за хематологичното възстановяване за нутрофили и тромбоцити и хематологичното възстановяване на Д+30 от АлоСКТ. До това заключение достигат други два екипа, които разглеждат този проблем в контекста на АлоСКТ след Т-клетъчна деплеция на графта при възрастни - Savini et al. [12] и при педиатрични пациенти - Han et al. [13].

4. Анализ на посттрансплантационните усложнения и смъртността според лимфоцитното възстановяване.

4.1. aGvHD

Честотата на aGvHD е статистически значимо по-висока при пациентите с АЛБ Д+21 < 0,220 x

10⁹/L, като наблюдаваната разлика при групирането според тежестта на aGvHD, не се доказва като значима статистически, таблица 3. За оценка на връзката между АЛБ и aGvHD в контекста на OS, разделихме извадката на две групи: с и без прояви на aGvHD. И в двете групи се вижда по-високата медианна преживяемост на пациентите с АЛБ ≥ 0,220 x 10⁹/L. В групата с aGvHD значимостта е гранична (p=0,055), докато в групата без aGvHD разликата е значима (p=0,001), фигура 1А и 1В. Медианата на OS за пациентите с РЛВ не е достигната и в двете групи. За пациентите със ЗЛВ с регистриран aGvHD тя е 208 дни, спрямо 320 дни за тези без.

4.2. cGvHD

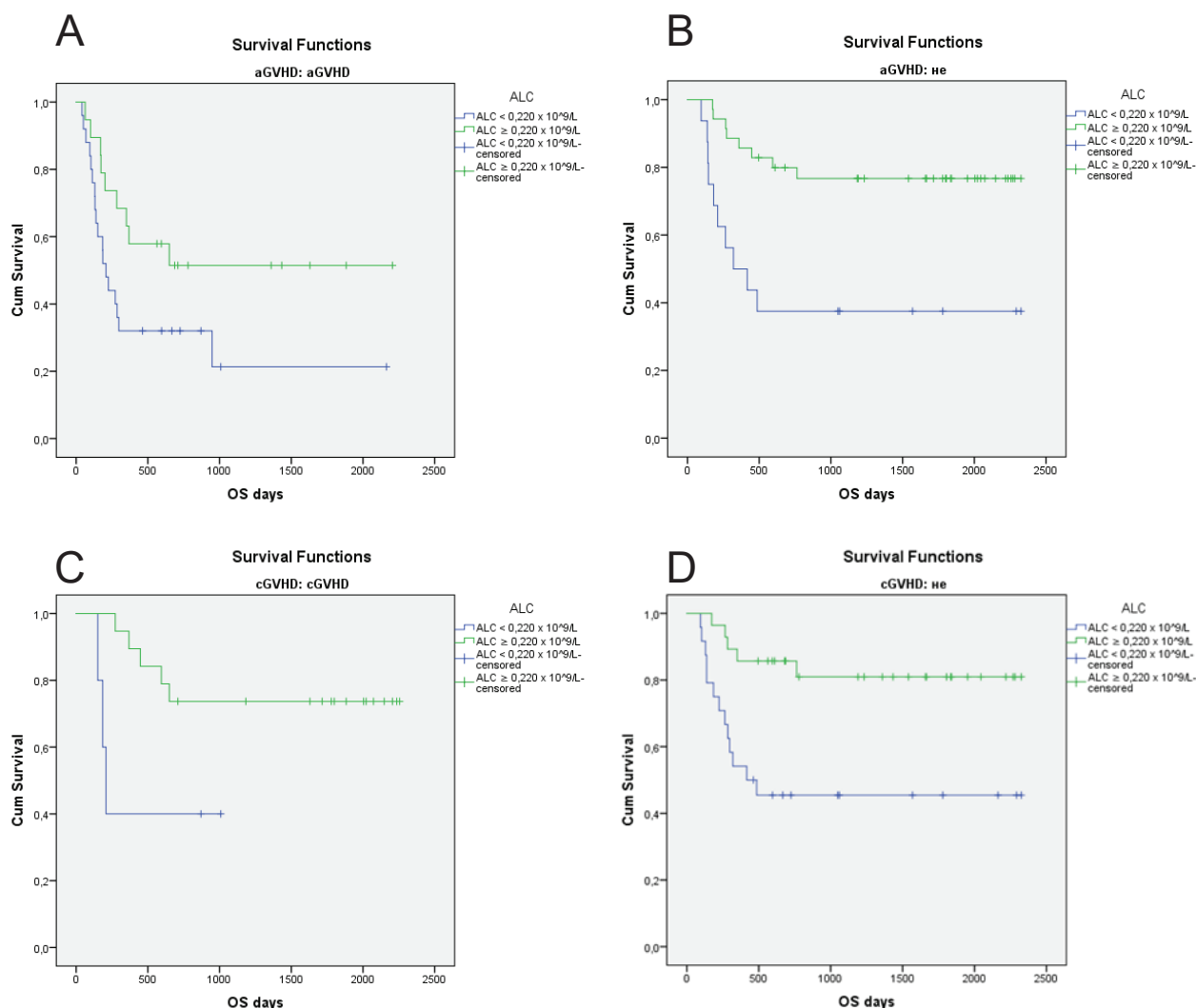
Честотата на cGvHD е сигнификантно по-висока в групата на РЛВ 79,2% срещу 20,8 % (p=0,035). За оценка на връзката между АЛБ и cGvHD по отношение на OS, разделихме извадката на две групи: с и без cGvHD. И в двете групи се вижда по-високата медианна преживяемост на пациентите с РЛВ, фигура 1С и 1D, (p=0,040 в групата с cGvHD, p=0,003 в групата без). Медианата на OS за пациентите с РЛВ не е достигната и в двете групи. За пациентите със ЗЛВ с регистриран cGvHD тя е 208 дни, спрямо 417 дни за тези без.

4.3. CMV реактивация

По отношение на реактивация на CMV резултатите са близки в двете групи – РЛВ и ЗЛВ, таблица 3.

Изследван параметър	АЛБ Д+21				
	< 0,220 x 10 ⁹ /L		≥ 0,220 x 10 ⁹ /L		р
	N	%	N	%	
aGvHD	25	56,8%	19	43,2%	0,014
1-2	15	53,6%	13	46,4%	0,565
3-4	10	62,5%	6	37,5%	
Изследван параметър	АЛБ Д+21				
	< 0,220 x 10 ⁹ /L		≥ 0,220 x 10 ⁹ /L		р
	N	%	N	%	
cGvHD	5	20,8%	19	79,2%	0,035
лек	0	0,0%	9	100,0%	0,065
умерен	2	22,2%	7	77,8%	
тежък	3	50,0%	3	50,0%	
CMV реактивация	25	48,1%	27	51,9%	0.35

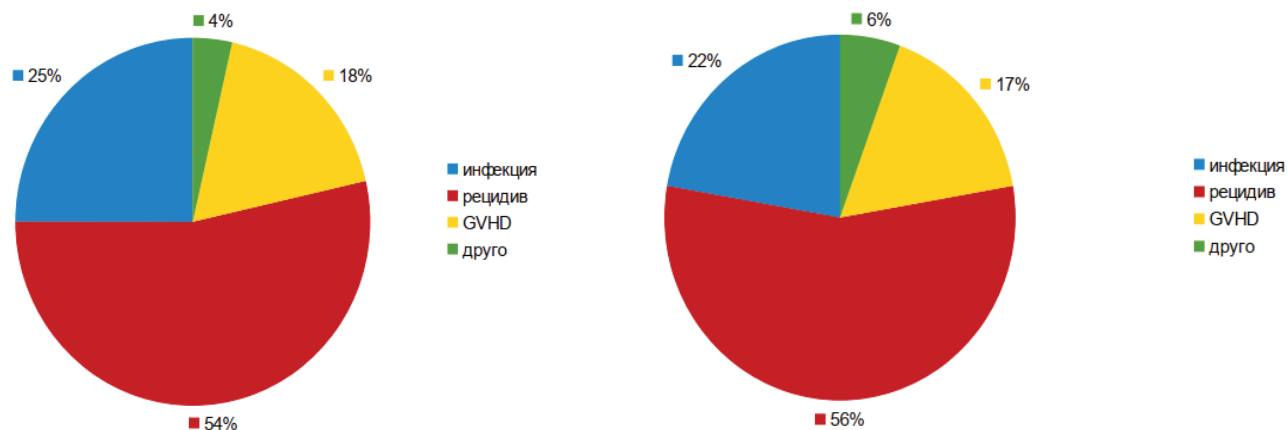
Таблица 3. Посттрансплантационни усложнения, стратифицирани на базата на лимфоцитното възстановяване на Д+21



Фигура 1. OS, стратифицирана на базата на лимфоцитното възстановяване на Д+21 за пациентите: А) с aGVHD, В) без aGVHD, С) с cGVHD, D) без cGVHD

На фигура 2 са представени кръгови диаграми отразяващи причините за фатален изход, стратифицирани на базата на лимфоцитния брой. Водеща причините за смърт, която не се дължи на рецидив на заболяването, и в двете групи, е инфекция – 7 (25%) за 3ЛВ и 4(22%) за РЛВ. Въпреки по-висо-

ката честота на cGVHD за пациентите с РЛВ, само при 2/28 пациента с cGVHD, тя води до фатален изход, а само за 2-ма от пациентите с cGVHD е регистриран рецидив на заболяването с летален край.



Фигура 2. Диаграма на причините за смъртност при АЛБ < 0,220 x 10⁹/L

Недостатък на нашето проучване е, че не може да бъде оценена ролята на източника на графта за имунохематологичното след АлоСКТ, тъй като пациентите получили стволови клетки от костен мозък са изключени от проучването, поради изключително малкия им брой.

ОБСЪЖДАНЕ

Въпреки значимите постижения и все по-впечатляващи дългосрочни резултати в областта на алогенната трансплантация, тя все още е свързана със значима морбидност и смъртност. Един от ключовите етапи за АлоСКТ е именно ранният следтрансплантационен период. Той е изключително критичен за въздействието на медиацията от имунокомпетентните клетки GVL ефект върху остатъчните левкемични клетки. Именно това ни насочи към проблематиката, засягаща ранното лимфоцитно възстановяване.

Профилът на трансплантационната програма, включващ вид на донор, източник на клетки, избор на кондициониращ режим, е напълно съпоставим с тенденциите и представените данни от други трансплантационни центрове [13].

Нашият първоначален анализ върху ролята на РЛВ за изхода от АлоСКТ [14] при оценка на OS, дефинира "cut off" стойност за АЛБ $0,220 \times 10^9/L$ и времева точка Д+21 от трансплантацията, като независим прогностичен фактор за удължена OS. Медианата на OS за групата на РЛВ не е достигната. Rigoni et al [15] доказват връзката на РЛВ на Д+21 с по-висока OS при сходна на нашата като профил популация пациенти, избирайки произволна гранична стойност за анализ АЛБ $0,300 \times 10^9/L$. Kim et al [16] идентифицира като гранична стойност с прогностично значение за OS - АЛБ - $0,350 \times 10^9/L$ на Д+21. Kumar et al. [17] достигат до извода, че АЛБ под $0,175 \times 10^9/L$ на Д+21 е предиктор за риска от рецидив при трансплантирани пациенти с ОЛЛ.

Проучването на връзката между РЛВ и останалите клинични точки, оценяващи ефективността и безопасността на АлоСКТ – PFS, CIR, NRM, категорично доказва, че пациентите с РЛВ, имат по-дълга преживяемост свободна от рецидив, по-ниска честота на рецидив и отложено във времето събитие, свързано с NRM. За разлика от Rigoni et al., които при медиана на проследяването 20 месеца, доказват значимо по-дълга свободна от заболяване преживяемост, но не и NRM, за пациентите с АЛБ $>0,300 \times 10^9/L$ на Д+21. Kim et al. доказват значимо по-дълга свободна от риск преживяемост и по-ниска честота на релапс на пациентите с АЛБ $>0,350 \times 10^9/L$ на Д+21, но несигнификантна разлика за NRM. Kumar et al. отчитат значимо по-дълга свободна от риск и по-ниска честота на релапс на

пациентите с АЛБ $>0,175 \times 10^9/L$ на Д+21, но не оценяват NRM.

Оценката на рисковите фактори, свързани лимфоцитното възстановяване, идентифицираните като рискови фактори за ЗЛВ – DRI, отговорът към АлоСКТ. Известни до момента фактори водещи до ЗЛВ са HLA-несъвместим донор, дозата на инфузираните CD 34+ клетки, приложението на ATG, приложението на G-CSF за стимулиране захващането на графта, aGvHD [18, 19, 20].

Само 1/3 от пациентите с нисък и интермедиерен DRI показват ЗЛВ, в сравнение с 56,% от пациентите с висок-много висок риск, които попадат в групата на ЗЛВ ($p=0,018$). По отношение на ролята на отговорът към АлоСКТ- 66,7% от пациентите трансплантирани в първа пълна ремисия са с АЛБ Д+21 над $0,220 \times 10^9/L$, значимо по-нисък е този процент за пациентите, получили АлоСК във втора и последваща ремисия или RR статус, съответно 16,7 % и 20,4%, ($p=0,045$). Калкулирането на DRI от своя страна включва вида на заболяването, цитогенетичен риск, където е приложимо и постигнатия отговор към АлоСКТ. Този рисков индекс, оценява два фактора, свързани със заболяването, които не могат да бъдат модулирани, за разлика от статуса на заболяването към постъпването на пациента за трансплантация. През последното десетилетие, напредъкът в развитието на онкогенетиката и онкофармакологията, доведе до съществени промени в класификацията на остри левкемии, преоценка на рисковите категории и терапевтични стратегии за индуцирана и поддържане на ремисия, извън рамките на конвенционалната химиотерапия [21, 22, 23, 24]. Разбирането в дълбочина на генетичния и имунологичния профил на хематологичните неоплазии е предпоставка за разработването на таргетната терапия – тирозинкиназни инхибитори, хистон-деацетилазни инхибитори, имунотерапията, вкл. биспецифични антитела, лекарствени конюгати и CAR T-технологията. Част от новите молекули са достъпни у нас, но все още не е оценено тяхното влияние, в контекста на АлоСКТ. Възможността за постигане на оптимален отговор към АлоСКТ е ключов фактор за изхода от процедурата и в частност за РЛВ, в който медицината влага значим научен потенциал и финансов ресурс. Нашите резултати потвърждават, че изборът на хаплоидентичен донор е неблагоприятен фактор за РЛВ. Добре известно е влиянието на хаплоидентичния донор върху лимфоцитното възстановяване [25]. Забавената имунна реконституция при хаплоидентична трансплантация е отличителна характеристиката за имунопатогенезата на този вид процедура. За разлика от Kim et al. [26] и Damlaj et al. [27], в нашето проучване не се потвърди връзката между количеството на инфузираните CD34+ клетки и РЛВ.

Анализът на данни спрямо значимостта на РЛВ по отношението на усложненията в следтрансплантационния период, достигна до ключови заключения относно aGvHD, cGvHD и свързаната с тях преживяемост. Категорично РЛВ корелира с клиничната изява на остра реакция на присадката, устоновено и от Rigoni et al. Определената честота на aGvHD е статистически значимо по-ниска при пациентите с АЛБ Д+21 $\geq 0,220 \times 10^9/L$ – 43,2% спрямо 56,8 % ($p = 0,014$) за сравняваната група. Тези резултати се транслират в подобрена преживяемост за пациентите с РЛВ както с изявен aGvHD, така и без документирана реакция. Това поставя въпроса за провеждане на допълнителни изследвания в насока изясняващи динамиката на имунната реконституция и идентифициране на лимфоцитните субпопулации, участващите в имунопатогенезата на aGvHD и ролята на имунорегулаторните клетки. Установихме и по-висока честота на cGvHD при пациентите с АЛБ $> 0,220 \times 10^9/L$ на Д+21 (79,2% срещу 20,8 %, $p=0,035$), за разлика от Rigoni, който доказва само корелация между РЛВ и честотата на aGvHD. Подобрената OS в групата на РЛВ при по-висока честота на cGvHD, потвърждава протективната роля на cGvHD и подкрепя хипотезата на Damla et al, че РЛВ може да бъде сурогатен маркер за GVL. Сигнификантна асоциация между ранното лимфоцитното възстановяване, представено в контекста на LD-index (Lymphopenia duration, индекс на продължителност на лимфопенията), и cGvHD наблюдават и Yanaqi и колектив [28]. За изясняване на имунопатогенезата на тези резултати са необходими допълнителни проучвания на лимфоцитната субпопулационна композиция при cGvHD.

Ние не открихме корелация между реактивацията на CMV и лимфоцитното възстановяване в двете групи пациенти, въпреки че други проучвания доказват обратна корелационна зависимост между темпа на лимфоцитно възстановяване и вирусната репликация [29, 30].

Не беше възможно да се анализират статистически причините за смъртност, статифицирани на базата на лимфоцитното възстановяване на Д+21, поради форамирането на малки групи от пациенти, които не биха могли да бъдат съпоставени достоверно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

РЛВ е доказан, клинично значим прогностичен фактор за изхода от трансплантацията - универсален, достъпен, лесно измерим и евтин. Той би могъл да послужи като отправна точка още в ранни следтрансплантационен период за инициране на риск адаптирани имуномодулиращи стратегии при пациентите с висок-много висок DRI и тези, които не са трансплантирани в CR1. Идентифицирането

и моделирането на перисковите фактори и усложненията, свързани с РЛВ могат чувствително да подобрят резултатите от АлоСКТ.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Камелия Милчева
СБАЛХЗ
Бул. „Климент Охридски“ 1А
1797 София, България
Email: k.simeonova@hematology.bg

Corresponding author:

Dr. Kameliya Milcheva,
SBALHZ
1A Kliment Ohridski Blvd.
1797 Sofia, Bulgaria
Email: k.simeonova@hematology.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

1. H.K.Mahmoud, A.M. Elhaddad, O.A. Fahmy, Samra M.A. Abdelfattah RM, Y.H.El-Nahass, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant hematological disorders J. Adv. Res., 6(2015), pp.449-458.
2. E.D. Thomas. Bone marrow transplantation: a review Sem in Hematol, 36 (4 Suppl 7) (1999), pp. 95-103
3. Appelbaum FR. Hematopoietic-cell transplantation at 50. N Engl J Med 2007; 357:1472-5
4. Fowler DH. Shared biology of GVHD and GVT effects: potential methods of separation. Crit Rev Oncol Hematol 2006; 57:225-44.
5. Berger M, Figari O, Bruno B, et al. Lymphocyte subsets recovery following allogeneic bone marrow transplantation (BMT): CD4⁺ cell count and transplant-related mortality. Bone Marrow Transplant. 2008; 41:55-62.
6. Bühlmann L, Buser AS, Cantoni N, et al. Lymphocyte subset recovery and outcome after T-cell replete allogeneic hematopoietic SCT. Bone Marrow Transplant 2011;46:1357-62.
7. Fallen PR, McGreavey L, Madrigal JA, et al. Factors affecting reconstitution of the T cell compartment in allogeneic haematopoietic cell transplant recipients. Bone Marrow Transplant. 2003; 32:1001-1014.
8. Heining C, Spyridonidis A, Bernhardt E, et al. Lymphocyte reconstitution following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective study including 148 patients. Bone Marrow Transplant. 2007; 39:613-622
9. Методични насоки за диагностика и лечение на хематологични заболявания
10. (Фармако-терапевтичен справочник) 2015 г. „Хематология“, XLI, № 3-4, 2015 год.
11. Valcárcel, D., Sureda, A. (2019). Graft Failure. In: Carreras, E., Dufour, C., Mohty, M., Kröger, N. (eds) The EBMT Handbook. Springer, Cham.
12. Delgado A, Guddati AK. Clinical endpoints in oncology - a primer. Am J Cancer Res. 2021 Apr 15;11(4):1121-1131. PMID: 33948349; PMCID: PMC8085844.
13. Savani BN, Mielke S, Rezvani K, Montero A, Yong AS, Wish L, Superata J, Kurlander R, Singh A, Childs R, Barrett AJ. Absolute lymphocyte count on day 30 is a surrogate for robust hematopoietic recovery and strongly predicts outcome after T cell-depleted allogeneic stem cell transplantation. Biol Blood Marrow Transplant. 2007 Oct;13(10):1216-23. doi: 10.1016/j.bbmt.2007.07.005. Epub 2007 Aug 24. PMID: 17889359; PMCID: PMC3426353.
14. Han DK, Baek HJ, Kim SY, et al. Implication of early lymphocyte recovery after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with leukemia. Yonsei Med J. 2013;54:62-70
15. Center for International Blood and Marrow Transplant Research. Summary slides—HCT trends and survival data [Web resource] Milwaukee, WI: The Medical College of Wisconsin; 2017.
16. Милчева К., Венков К., Тонев И., Насева Е., Ганева П. Ранно лимфоцитно възстановяване като независим прогностичен фактор за изход от алогенна трансплантация на хемопоеитични стволови клетки при пациенти с остра левкемия и миелодиспластичен синдром. „Хематология“, LIX, № 3-4, 2022 год.
17. Rigoni L, Scroferneker ML, Pitombeira BS, Ottoni E, Paz A, Fischer G, Michalowski M, Pezzi A, Amorin B, Valim V, Baggio L, Laureano Á, da Silva MA, Silla L, Daudt L. Impor-

tance of early absolute lymphocyte count after allogeneic stem cell transplantation: a retrospective study. *Transplant Proc.* 2015 Mar;47(2):511-6. doi: 10.1016/j.transproceed.2014.11.042. PMID: 25769599. 3e2223.

18. Kim HT, Armand P, Frederick D, Andler E, Cutler C, Koreth J, Alyea EP 3rd, Antin JH, Soiffer RJ, Ritz J, Ho VT. Absolute lymphocyte count recovery after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation predicts clinical outcome. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015 May;21(5):873-80. doi: 10.1016/j.bbmt.2015.01.019. Epub 2015 Jan 23. PMID: 25623931.
19. Damlaj M, Ghazi S, Mashaqbeh W, Gmati G et al. Lymphocyte recovery is an independent predictor of relapse in allogeneic hematopoietic cell transplantation recipients for acute leukemia. *World J Transplant.* 2017 Aug 24;7(4):235-242. doi: 10.5500/wjt.v7.i4.235. PMID: 28900606; PMCID: PMC5573899
20. Kumar S, Chen MG, Gastineau DA, et al. Lymphocyte recovery after allogeneic bone marrow transplantation predicts risk of relapse in acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2003;17:1865e70.
21. De Koning J, Van Bakkum DW et al. Transplantation of bone-marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1969; 1:1223-7.
22. Le Blanc K, Barrett AJ, Schaffer M et al. Lymphocyte recovery is a major determinant of outcome after matched unrelated myeloablative transplantation for myelogenous malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 Sep;15(9):1108-15.
23. Henig I, Zuckerman T. Hematopoietic stem cell transplantation-50 years of evolution and future perspectives. *Rambam Maimonides Med J.* 2014 Oct 29;5(4):e0028. doi: 10.5041/RMMJ.10162. PMID: 25386344; PMCID: PMC4222417.
24. Amandine Le Bourgeois, Pierre Peterlin, Thierry Guillaume et al. Early Monocyte and Total Lymphocyte Counts Are Associated with Better Overall Survival after Standard Total Body Irradiation, Cyclophosphamide, and Fludarabine Reduced-Intensity Conditioning Double Umbilical Cord Blood Allogeneic Stem Cell Transplantation in Adults, *Biology of Blood and Marrow Transplantation*, Volume 22, Issue 8, 2016, Pages 1473-1479, ISSN 1083-8791.
25. Fred Hutchinson Cancer Research Center/Seattle Cancer Care Alliance Version June 03, 2015. Long-Term Follow-Up After Hematopoietic Stem Cell Transplant General Guidelines For Referring Physicians.
26. Negrin, R.S. and Ritz, J. (2015). Immune Regulation in Hematopoietic Cell Transplantation. In Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation (eds S.J. Forman, R.S. Negrin, J.H. Antin and F.R. Appelbaum). <https://doi.org/10.1002/9781118416426.ch14>
27. Choi I, Yoon SR, Park SY, Kim H, Jung SJ, Jang YJ, et al. Donor-derived natural killer cells infused after human leukocyte antigen-haploidentical hematopoietic cell transplantation: A dose-escalation study. *Biol Blood Marrow Transplant* (2014) 20(5):696-704. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.01.031
28. De Koning J, Van Bakkum DW et al. Transplantation of bone-marrow cells and fetal thymus in an infant with lymphopenic immunological deficiency. *Lancet* 1969; 1:1223-7.
29. Yanagi, M., Kobayashi, R., Matsushima, S., Hori, D., Kodama, K., Suzuki, D. and Kobayashi, K. (2022), Early reconstitution of lymphocytes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation affects chronic graft-versus-host disease. *Pediatrics International*, 64: e15222.
30. Kollman C, Spellman SR, Zhang MJ, et al. The effect of donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy. *Blood.* 2016;127:260-7.
31. Shaw BE, Arguello R, Garcia-Sepulveda CA, Madrigal JA. The impact of HLA genotyping on survival following unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation. *Br J Haematol.* 2010;150:251-8.

РАЗПРОСТРАНЕНИЕ И РОЛЯ НА СВРЪХЕКСПРЕСИЯТА НА BAALC ГЕНА ПРИ ОСТРИ МИЕЛОИДНИ ЛЕВКЕМИИ – ЕДНОЦЕНТРОВО ПРОУЧВАНЕ

Е. Алексов¹, Й. Лазарова¹, Е. Насева², Г. Василев¹, Г. Михайлов¹, М. Генова¹, Г. Балаценко¹

1 – Национална специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания, София;

2 – Факултет по общественото здраве „Проф. д-р Цекомир Воденичаров, дмн“, Медицински университет – София

THE ROLE OF BAALC GENE OVEREXPRESSION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA – ONE CENTER STUDY

E. Aleksov¹, Y. Lazarova¹, E. Naseva², G. Vasilev¹, G. Mihaylov¹, M. Genova¹, G. Balatzenko¹

1 – National Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases – Sofia

2 – Faculty of Public Health «Prof. Tsekomir Vodenicharov, MD, DSc», Medical University of Sofia

Резюме. Клоналната трансформация на хемопоеичните стволови клетки, в резултат на хромозомни прена-реждания и различни генни мутации, стои в основата на появата на острите миелоидни левкемии (ОМЛ). Устано-вяването на различните молекулярно-генетични маркери в ОМЛ подпомага разграничаването на подгрупи с раз-лично биологично и клинично поведение, подобрявайки прогностичните възможности. В настоящето проучване, ние си поставихме за цел да проучим определим ролята и взаимовръзките на повишената експресия на BAALC гена [BAALC(+)] в развитието на ОМЛ. В изследването бяха включени 174 пациенти, навършили 18 години с поставена, съ-гласно установените критерии, диагноза ОМЛ. За изследването на експресията на BAALC гена в аспират от костен мозък беше използвана полимеразно-верижна реакция след обратна транскрипция [Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)]. Установена бе честота на разпространение на BAALC(+) в популацията 54,6 %, както значи-ма връзка на свръхекспресията на BAALC с морфологичните подтипове ОМЛ по FAB при M0-2 спрямо M4-5 ($p=0,003$) и диагноза по WHO 2022 - ОМЛ дефинирана според диференциацията и ОМЛ свързана с МДС/МПН, спрямо ОМЛ дефини-рана според генетичните аномалии ($p=0,041$). Медианата на общата преживяемост на цялата изследвана кохорта беше 296 дни (95% CI 176.5-415.5). Налице е разлика в преживяемостта на двете групи – с и без нарушена експресия на BAALC гена ($p=0,042$). Установи се негативна прогностична значимост на свръхекспресия на BAALC по отношение на преживяемостта в групата от мъжки пол, групата пациенти с ОМЛ развила се на базата на МДС и групата с ECOG статус 0-1. Доказа се, че при наличие на рецидив, свръхекспресията гена значимо намалява преживяемостта ($p=0.043$). При пациенти провеждали интензивна терапия също е налице значимо негативно влияние на свръхекспе-сията на BAALC гена върху преживяемостта ($p=0.050$). Нашите данни потвърждават тезата, че BAALC е подходящ прогностичен маркер при пациентите с ОМЛ, характеризирайки подгрупи пациенти, при които изследването му при диагноза, ще бъде практически полезно.

Ключови думи: BAALC, ОМЛ, генни мутации, генна свръхекспресия, прогноза

Abstract. Clonal transformation of hematopoietic stem cells, as a result of chromosomal rearrangements and various gene mutations, underlies the development of acute myeloid leukemia (AML). The detection of the different molecular genetic markers in AML helps to differentiate subgroups with different biological and clinical behavior, improving prognostic potential. We investigated the role and interrelations of overexpression of BAALC gene in the development of AML. In the analysis were included 174 patients over the age of 18 with a diagnosis of AML, according to the established criteria. RT-PCR was used to assess BAALC gene expression. A population prevalence of 54.6% was found. BAALC overexpression was significantly associated with FAB diagnosis M0-2 subtypes, versus M4-5 ($p=0.003$) and WHO 2022 diagnosis – AML defined according to differentiation and AML associated with MDS/MPN, versus AML with recurrent genetic abnormalities ($p=0.041$). The median overall survival of the entire study cohort was 296 days (95% CI 176.5-415.5). There was a difference in the survival of the two groups – with and without overexpression of the BAALC gene ($p=0.042$). A negative prognostic significance of BAALC overexpression with respect to survival was found in the male group, the group of patients with AML developed on the basis of MDS, and the group with ECOG status 0-1. In the group with relapse of AML, overexpression of the gene significantly reduced survival rate ($p=0.043$). In patients undergoing intensive therapy, there was also a significant negative influence of overexpression of the BAALC gene on the survival ($p=0.050$). Our data support the thesis that BAALC is a suitable prognostic marker in patients with AML, defining patient subgroups in which the examination at diagnosis will have practical use.

Key words: BAALC, AML, gene mutations, gene overexpression, prognosis

ВЪВЕДЕНИЕ

Клоналната трансформация на хемopoетичните стволови клетки стои в основата на появата на острата миелоидна левкемия (ОМЛ). В резултат на хромозомни пренареждания и различни генни мутации, някои от тези клетки придобиват пролиферативно предимство, увреждащо хемopoетичната диференциация, но същевременно даващо им предимство в оцеляването [1].

Навлизането на съвременните технологии за оценка на структурните и функционални генетичните нарушения позволи разкриването на нови и непознати досега генни мутации, както и нарушения в генната експресия свързани с ОМЛ, като същевременно позволи комплексната оценка на множество гени и улесни тълкуването на междугенните взаимодействия. Доказването на различните молекулярно-генетични маркери в ОМЛ подпомага разграничаването на подгрупи с различно биологично и клинично поведение. Съпоставянето на „мутационната картина“ с други набори от данни може допълнително да изясни биологията на ОМЛ, както и да подобри възможността за прогнозиране, и дефинира по-точно избора на лечение. Групата на идентифицираните гени, свързани с развитието на ОМЛ, непрекъснато нараства, като според някои автори включва почти 2000 генетични алтерации. [2,3].

Един от тези гени – Brain and Acute Leukemia Cytoplasmic (BAALC), кодира протеин, който при нормални физиологични условия участва в регулацията на развитието на невроектодермалните и хемopoетичните тъкани [4]. Неговата експресия претърпява значителни динамични промени по време на нормалната хемопоеза, като достига максимум в CD34+ прогениторни клетки [5,6]. Свърхекспресията на BAALC има левкемогенен ефект чрез блокаж на диференциацията на хематопоетичните прогенитори, повишаване клетъчната пролиферация и намалена апоптоза в левкемични клетки [6,7,8].

Натрупаните до момента данни са противоречиви по отношение на въпроса какво е клиничното значение на BAALC за определяне хода на ОМЛ [9,10,11,12].

В нашата страна липсват данни относно разпространението и клиничната значимост на свърхекспресията на BAALC гена при ОМЛ, поради което ние си поставихме за цел установи честота на аномалията и се потърсят корелации с биологичните и клиничните особености на пациентите, които я носят.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В изследването бяха включени 220 (94 (46.0%) жени и 80 (54.0%) мъже) пациенти, навършили 18 години, на средна възраст към диагнозата е 57.08 (18-88) години, съответно 57.21 (18-80) при жените и 56.54 (20-88) при мъжете, с поставена, съгласно установените критерии, диагноза ОМЛ, при които е проведено активно химиотерапевтично лечение или са насочени за най-добра поддържаща симптоматична терапия. Пациентите допълнително бяха разделени на две групи: такива, при които е проведено изследване при диагноза, преди терапия – 174 пациенти и такива, при които е проведено изследване след проведена терапия - 46 пациенти. За целите на сравнимостта в настоящия анализ са включени само пациенти, чиито статус на BAALC е установен към диагнозата. От по-нататъшен анализ бяха изключени пациентите, изследвани след проведена терапия, без налично базово изследване на BAALC статуса, поради факта, че при пациентите в ремисия отрицателния статус не изключва положителен такъв при диагноза, а при пациентите с релапс положителния статус не изключва новопоявила се аномалия.

Пациентите, разделени по рискови категории съгласно ELN, бяха: с благоприятен риск n=27 (15,5%), с междинен риск n=94 (54,0%) и с висок риск съответно - n=53 (30,5%).

Разпределението на изследваната популация пациенти по отношение на отделните подтипове ОМЛ, съгласно най-често използваните класификации, е показано на таблица 1.

Разпределение съгласно класификацията по FAB

	n	%
M0	14	8,0%
M1	22	12,6%
M2	21	12,1%
M3	12	6,9%
M4	39	22,4%
M5	20	11,5%
Неопределен	46	26,4%

Разпределение на пациентите съгласно WHO 2017.

	n	%
ОМЛ монобластна/ моноцитна	8	4,6%
ОМЛ миеломоноцитна	21	12,1%
ОМЛ неопределена по друг начин	1	0,6%
ОМЛ терапевтично свързана	3	1,7%
ОМЛ с матурация	10	5,7%
ОМЛ с МДС/МПН свързани промени	52	29,9%
ОМЛ с минимална диференциация	9	5,2%
ОМЛ с рекурентни генетични аномалии	50	28,7%
ОМЛ без матурация	8	4,6%
ОПМЛ; PML-RARA	12	6,9%

Разпределение на пациентите съгласно WHO 2022.

	n	%
ОМЛ дефинирана според диференциацията	60	34,5%
ОМЛ свързана с миелодисплазия	52	29,9%
ОМЛ дефинирана според генетичните аномалии	62	35,6%

Таблица 1. Разпределение на пациентите с ОМЛ по субтипове

В зависимост от вида на проведената терапия пациентите бяха разпределени в пет основни категории:

- Пациенти, лекувани със стандартни високоинтензивни режими
- Пациенти, лекувани със стандартни високоинтензивни режими + таргетен агент
- Пациенти, лекувани със стандартни нискоинтензивни режими (Azacitidin)
- Пациенти, лекувани със стандартни нискоинтензивни режими + таргетен агент (Azacitidin + Venetoclax)
- Пациенти, лекувани с най-добра поддържаща терапия

МЕТОДИ ЗА ИЗСЛЕДВАНЕТО НА ЕКСПРЕСИЯТА НА BAALC ГЕНА И СТАТИСТИЧЕСКИ МЕТОДИ

За изследването на експресията на BAALC гена беше използвана RT-PCR, като за целта бяха

изследвани моноклеарни клетки, изолирани от аспират от костен мозък, след селективно лизиране на еритроцитите. Екстракцията на тотална РНК беше извършена чрез използване на TRIzol Reagent [Thermo Fisher Scientific] съгласно препоръките на производителя. Обратната транскрипция беше осъществена по метода със случайни хексамери (random hexamers) и MuLV RT обратна транскриптаза [Thermo Fisher Scientific]. PCR реакцията с едновременна амплификация на FLT3 (като вътрешна контрола) и BAALC гена беше проведена на термосайкълър Veriti Applied Biosystems. Продуктите на реакцията бяха визуализирани след електрофореза в 2% агарозен гел, оцветен с SybreGreen след облъчване с УВ лъчи. За оценка на експресията на BAALC гена беше използвана следната скала: BAALC (+) - свръхекспресия – наличие на продукт на амплификацията на BAALC с интензивност на PCR продукта еднаква и по-изразена от тази, на вътрешната контрола (FLT3)

BAALC (-) – нормална експресия – отсъствие на продукт на амплификацията на BAALC или слабо-набелязващ се продукт на амплификацията при наличие на изразена реакция на амплификацията на вътрешната контрола (FLT3). При всички пациенти бяха проведени морфологична оценка на костния мозък, имунофенотипизация чрез точна цитометрия, и конвенционален хромозомен лентов анализ.

За целите на статистическия анализ беше използван софтуер SPSS v.26. Категорийните променливи са представени като абсолютни и относителни честоти, а количествените – като средна аритметична и стандартно отклонение. Връзки между категориите променливи са търсени с хи квадрат анализ (екзактен тест на Фишер, когато е приложим). При търсене на фактори за бинарен резултат е приложен бинарен логистичен регресионен анализ. За оценка на бинарни събития във времето и определяне на средни и медиани (с техните 95% доверителни интервали) е приложен метода на Каплан-Майер. Значимостта на факторите за тези събития във времето са оценявани с лог-ранк тест (Мантел-Кокс). За тестване на количествени фактори е приложен регресионен анализ на Кокс с определяне на рисково отношение (Hazard ratio – HR) с неговия доверителен интервал. Резултатите при стойности на $p < 0,05$ са приети за значими, а между 0,05 и 0,10 – за гранични.

РЕЗУЛТАТИ

Свръхекспресия на BAALC(+) беше установена общо при 95 пациенти (54,6%), съответно – при 45 (56,3%) жени и при 50 (53,2%) мъже, като не се

доказа значима разлика в разпространението между двата пола ($p>0,05$). *BAALC*(+) статус беше установен при съответно 59 (51,8%) пациента в групата под 65 години и 36 (60,0%) в групата над 65 години и не се доказа разлика между двете възрастови групи ($p>0,05$).

По отношение на основните лабораторни показатели: левкоцити, тромбоцити, хемоглобин, неутрофили, брой бласти в периферна кръв и брой бласти в костен мозък (Таблица 2), не се установи значима корелация.

	BAALC (-)		BAALC (+)		p
	n	%	N	%	
Стойности на хемоглобина g/l	79		95		
Нормален хемоглобин	1	1,3	0	0,0	0,268
Нормален -100	20	25,3	17	17,9	
100 - 80	22	27,8	37	38,9	
< 80	36	45,6	41	43,2	
Брой левкоцити G/l	79		95		
Левкопения	26	32,9	37	38,9	0,274
Норма	16	20,3	11	11,6	
Левкоцитоза	37	46,8	47	49,5	
Брой неутрофили G/l	79		95		
Норма	14	17,7	19	20,0	0,974
Норма - 0,8	13	16,5	16	16,8	
< 0.8	24	30,4	29	30,5	
Неутрофилия	28	35,4	31	32,6	
Брой тромбоцити G/l	79		95		
Норма	13	16,5	18	18,9	0,942
Норма - 100	12	15,2	15	15,8	
100 - 50	13	16,5	17	17,9	
< 50	41	51,9	45	47,4	
Брой бласти в периферна кръв %	79		95		
< 20	49	62,0	68	71,6	0,230
20-50	17	21,5	19	20,0	
>50	13	16,5	8	8,4	
Бласти в костен мозък %	79		95		
20-50	2	2,5	4	4,2	0,143
50-90	65	82,3	85	89,5	
> 90	12	15,2	6	6,3	

Таблица 2. Корелация на статуса на *BAALC* с основните лабораторни показатели.

Установи се значима връзка между *BAALC* (+) гена и диагнозата по FAB ($p=0,003$). Пациентите с диагнози ОМЛ-М4-М5 и свръхекспресия на *BAALC* гена са с по-нисък относителен дял спрямо пациентите с диагнози ОМЛ-М0-М2.

Доказа се значима връзка и с диагнозата по WHO 2022 ($p=0,041$). Пациентите с диагнози ОМЛ дефинирана според диференциацията и вторична ОМЛ (свързана с МДС/МПН) много по-често имат свръхекспресия на *BAALC* гена, докато при пациентите с ОМЛ дефинирана според генетичните аномалии делът на *BAALC* (+) е по-нисък.

Установи се връзка с гранична значимост ($p=0,070$)

между рисковата категория по ELN и свръхекспресия на *BAALC* гена. С промяна на рисковата категория в посока неблагоприятен риск, нараства и честотата на *BAALC*(+). При обединяване на двете групи: с междинен и неблагоприятен риск, връзката се запазва и става значима ($p=0,046$).

Доказа се статистически значима негативна връзка ($p=0,016$) между *BAALC*(+) и постигането на ремисия след проведена първа индукция, в групата на болните лекувани с интензивна терапия. В групата на *BAALC* (+), ремисия постигат по-малко пациенти, спрямо групата на *BAALC* (-). Всичките резултати са представени в таблица 3.

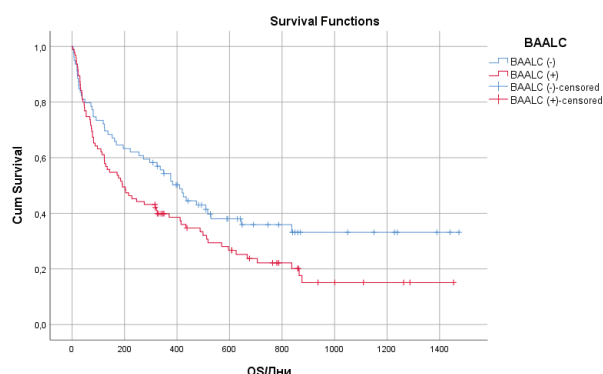
Фактор	Подгрупи	Общ брой	BAALC (-)		BAALC (+)		p
			n	%	n	%	
Диагноза по FAB	M0-M2	128	18	31,6	39	68,4	0,003
	M3		9	75,0	3	25,0	
	M4-M5		34	57,6	25	42,4	
Диагноза по WHO 2022	ОМЛ дефинирана според диференциацията	174	24	40,0	36	60,0	0,041
	ОМЛ свързана с МДС/МПН		19	36,5	33	63,5	
	ОМЛ дефинирана според генетичните аномалии		36	58,1	26	41,9	
Рискова категория по ELN	Благоприятен риск	174	17	63,0	10	37,0	0,07
	Междинен риск		43	45,7	51	54,3	
	Неблагоприятен риск		19	35,8	34	64,2	
Наличие на NPM1	Не	174	65	42,2	89	57,8	0,019
	Да		14	70,0	6	30,0	
Наличие на PML-RARA	Не	174	37	30,3	85	69,7	0,002
	Да		9	75,0	3	25,0	
Постигната ремисия след 1 индукция (интензивна терапия)	Не	104	12	24,5	26	47,3	0,016
	Да		37	75,5	29	52,7	

Таблица 3. Асоциация между свръхекспресията на BAALC гена и различни клиничко-лабораторни фактори

От молекулярно-генетичните и цитогенетични маркери, включени в обема на изследването, връзка се доказва с мутации в *NPM1* гена и фузионните транскрипти *PML-RARA*. Наличието на мутация на *NPM1* гена има значима връзка със свръхекспресия на *BAALC* гена ($p=0,019$). Пациентите с тази аномалия много по-рядко имат *BAALC(+)*, в сравнение с тези, които нямат мутация на *NPM1*. Доказва се връзка между налична генетичната аномалия *PML-RARA* и *BAALC (+)* ($p=0,002$). Пациентите с наличен фузионен ген *PML-RARA* много по-рядко имат *BAALC(+)* на фона на тези без *PML-RARA*. Не се доказва значима връзка между *BAALC(+)* и свръхекспресия на *EVI1*, както и с *FLT3* мутационния статус.

ВЛИЯНИЕ НА BAALC ВЪРХУ ПРЕЖИВЯЕМОСТТА

Медианата на общата преживяемост на цялата група е 296 дни (95% CI 176.5-415.5). Установи се значима разлика в преживяемостта на двете групи – *BAALC(+)* и *BAALC(-)* (Log rank test $p=0,042$). Общата преживяемост при *BAALC(+)* пациенти е значимо по-кратка. Починалите сред тях са 76,8%, докато в *BAALC(-)* група са 62% (Фиг.1).



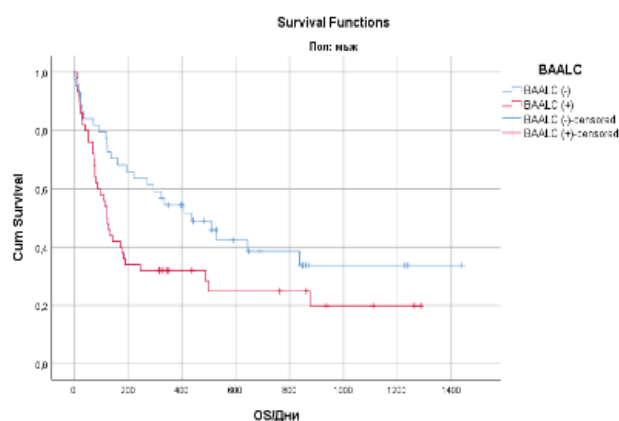
Фигура 1. Общата преживяемост при пациентите в зависимост от статуса BAALC гена

С регресионен анализ на Кокс установихме, че свръхекспресията на гена *BAALC* увеличава риска от смърт за времето на проследяване 1,4 пъти (HR=1.452, 95% CI 1.010-2.087, $p=0,044$).

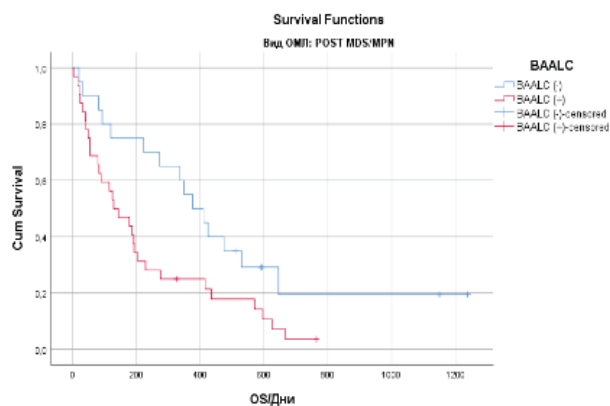
Потърсихме подгрупи, при които *BAALC* е фактор по отношение на преживяемостта. Установи се, че пациентите от мъжки пол със свръхекспресия на *BAALC* гена имат значимо по-ниска преживяемост в сравнение с мъжете без такава свръхекспресия (лог ранк тест $p=0,029$) (Фиг. 2а). При женския пол не се установи такава разлика. При разделяне на пациентите на две групи по възраст – под и над 65 години, не се доказва значима разлика между пациентите със свръхекспресия на гена и тези без, но е налице тенденция, наличието на *BAALC(+)*

да води до по-ниска преживяемост. При разделяне на пациентите според вида ОМЛ се доказва, че тези със свръхекспресия на *BAALC* гена имат статистически значима по-ниска преживяемост само в групата с вторична ОМЛ ($p=0,024$) (Фиг. 2б), но и в другите две групи, пациентите със свръхекспресия на *BAALC* са с по-ниска преживяемост. В групата на терапевтично обусловена ОМЛ значимостта е гранична ($p=0,051$). При пациентите със статус ECOG 0-1 се установи, че свръхекспресията на *BAALC* значимо намалява общата преживяемост ($p=0,049577$) (Фиг. 2в). В групата със статус ECOG 2-4 не се доказва разлика.

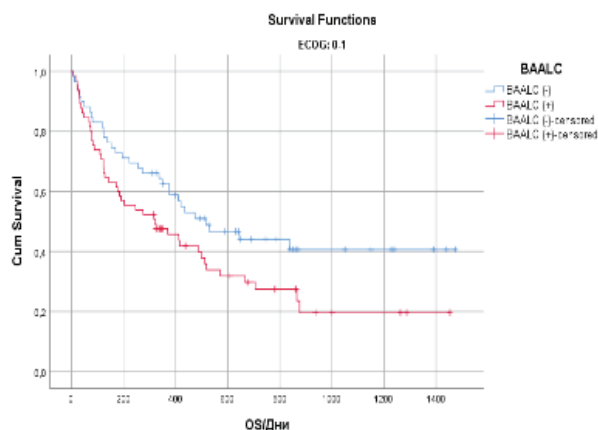
Фигура 2. Значими фактори за общата преживяемост в групите *BAALC* +/-



2а. Мъжки пол



2б. Вторична ОМЛ

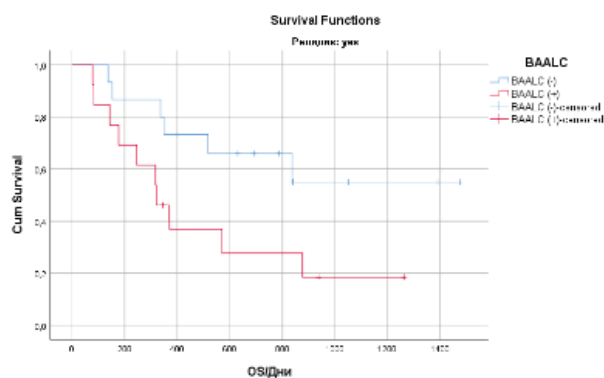


2в. ECOG статус 0-1

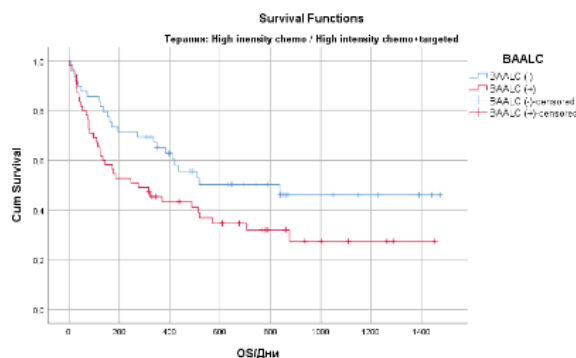
При разделяне на пациентите на 3 групи според рисковите категории на ELN, е налице тенденция в две от групите, тези с междинен и неблагоприятен риск, преживяемостта на пациентите с наличие на свръхекспресия на *BAALC* гена е по-ниска, без да се достигне статистическа значимост.

Не се доказва влияние на *BAALC* върху свободната от прогресия преживяемост ($p=0,484$).

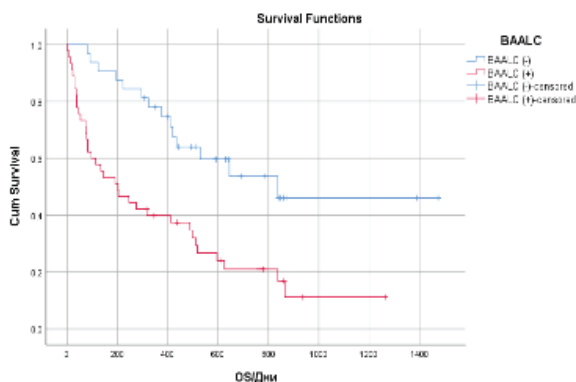
Разделихме пациентите на две групи според това дали имат или нямат настъпил рецидив. Оказа се, че в групата с рецидив и *BAALC*(+), към диагноза, значимо намалява преживяемостта ($p=0.043$) (Фиг. 3). Сред пациентите с рецидив анализирахме времето до смъртта (ако е настъпила) – преживяемост след рецидив. Медианата е достигната в групата на *BAALC*(+) пациентите, но не се доказва значима разлика. Значимостта може да се определи като гранична ($p=0,071$). При *BAALC* + пациентите починалите са 76,9%, а в другата група 40%.



Фигура 3. Влияние на *BAALC*(+) върху преживяемостта в групата пациенти с рецидив на ОМЛ



Фигура 4. Влияние на *BAALC* (+) върху преживяемостта в групата пациенти провела интензивна терапия



Фигура 5. Влияние на BAALC (+) върху преживяемостта в групата пациенти с нормален кариотип

При разделяне на пациентите в зависимост от проведената терапия - интензивна или ниско интензивна, се установи, че в групата с интензивна терапия е налице статистически значимо влияние на BAALC (+) гена върху преживяемостта ($p=0.050$) (Фиг. 4).

Изследвахме в групата пациенти с нормален кариотип, влиянието на BAALC (+) върху преживяемостта. Доказа се, че BAALC (+) е негативен прогностичен фактор по отношение на общата преживяемост ($P<0.0001$). В другата група BAALC (-), не се доказва статистическа значимост ($P>0.05$) (Фиг. 5).

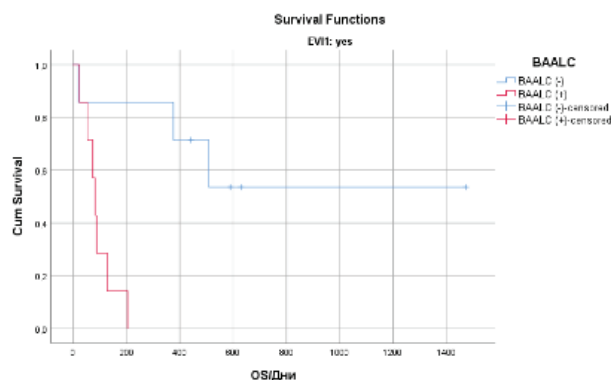
КОРЕЛАЦИЯ НА СТАТУСА НА BAALC С ДРУГИ ГЕНЕТИЧНИ АНОМАЛИИ

При разделяне на пациентите на две групи – с и без свръхекспресия на EVI1 гена, в групата със свръхекспресия на EVI1 се установи, че всички пациенти със BAALC (+) са починали ($p=0.004$) (Фиг. 6а). В другата група не се доказва значима разлика, макар че се вижда, че наличието на BAALC (+) намалява преживяемостта.

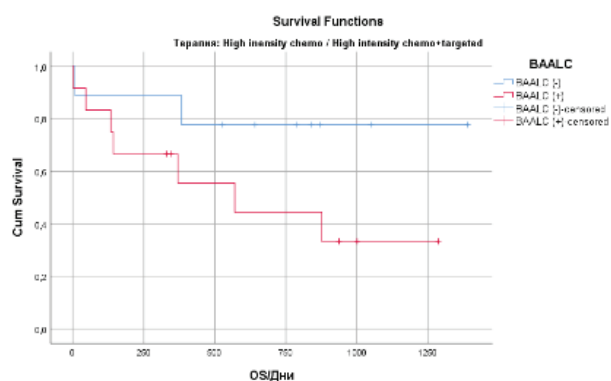
Оценихме въздействието на BAALC (+) върху преживяемостта на пациентите с налична мутация FLT3 ITD и интензивна терапия (Фиг. 6б). Доказа се статистически значима разлика в преживяемостта на групата пациенти, които са FLT-ITD(+) и BAALC(+) ($p=0.040$). В другата група не се доказва разлика ($p>0.05$).

При разделяне на пациентите според наличието на FLT3 TKD мутация, в групата без такава мутация се установи, че BAALC (+) значимо намалява преживяемостта ($p=0.012$) (Фиг. 6в). В другата група не се доказва статистическа значимост.

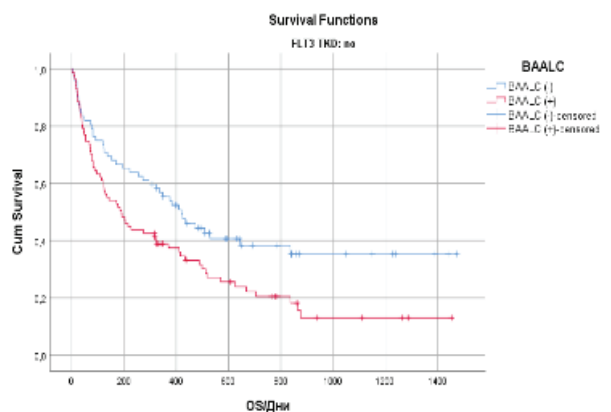
Фигура 6. Корелация на статуса на BAALC с други генетични аномалии върху преживяемостта



6а. Корелация със свръхекспресия на EVI1



6б. Корелация с FLT3 ITD мутацията



6в. Корелация със FLT3 TKD мутация

Останалите налични генетични мутации, в изследваната кохорта пациенти, са с твърде малка честота, което не позволи провеждането на релевантен статистически анализ.

ДИСКУСИЯ

В това проучване ние анализирахме честотата и разпространението на BAALC (+) и прогностичното му значение по отношение на терапевтичния

отговор, в светлината на други клинично значими маркери. Други автори също са адресирали тези и сходни въпроси в своите проучвания. По отношение на честотата на *BAALC* (+) има множество натрупани данни, но за съжаление доста противоречиви. Първоначалните изследвания по проблема с разпространението в популацията дават честота 23% [13]. Други автори съобщават честота 63.2 % [14], а според някои честотата на *BAALC* (+) при пациенти с ОМЛ достига 81.82% [15]. Установената от нас честота на *BAALC* (+) при изследваната популация от ОМЛ пациенти е 54,6 %, която цифра попада в обхвата на докладваните да момента честоти и е сходен с резултатите на някои автори – 50% [16], изследвали проблема. Голямата девиация в честотата може да бъде обяснена с различните методи на измерване свръхекспресията, както и с липсата на установен, точно дефиниран стандарт за границите между норма и свръхекспресия, който проблем е дискутиран и от други автори. [17]. В някои от случаите става въпрос за изследвания само в определени субпопулации – например цитогенетично нормална ОМЛ, което само по себе си не предполага еквивалентно сравнение.

Нашите данни показват липса на значимост по отношение асоциацията на *BAALC* с основните клинично-лабораторни и демографски характеристики. Повечето автори занимавали се с проблема, също не доказват значима разлика в това отношение [10, 18, 19].

Установи се значима връзка между *BAALC*(+) и диагноза по FAB ($p=0,003$). Пациентите с ОМЛ-M4-5 и нарушена свръхекспресия на *BAALC* гена са с по-нисък относителен дял спрямо пациентите с диагнози ОМЛ-M0-2. Тези резултати потвърждават данните на Xiao et al. от мета-анализ, проведен при избрани проучвания, показващи тенденция за *BAALC* (+) при слабо диференцираните ОМЛ (M0/M1/M2 субтипове), докато при добре диференцираните свръхекспресия се наблюдава рядко [17]. Подобни са и резултатите на Shakirova et al., които показват, че *BAALC* е свръхекспресиран при подтиповете M1 и M2 по FAB по-често, отколкото при останалите субтипове, а при M3 липсва [20], както и резултатите на Amirpour et al., идентифициращи свръхекспресия на *BAALC* гена при подтиповете M0, M1 и M2 [21]. Доказа се също значима връзка с диагнозата по WHO 2022. Пациентите с диагнози ОМЛ дефинирана според диференциацията и ОМЛ свързана с МДС/МПН много по-често са *BAALC*(+)(60% и повече), докато при пациентите с ОМЛ дефинирана според генетичните аномалии делът на *BAALC*(+) лица е едва 41,9% ($p=0,041$). Вероятно обяснение на този факт, може да дойде от данните на Thol et al., които в проучване на 140 пациенти с MDS, установяват честота на

свръхекспресия на *BAALC* около 50% и 48,6% от тези пациенти трансформират в ОМЛ в рамките на проучването, докато само 11,4% от групата с ниска експресия на *BAALC* се трансформират [22].

Нашите данни показват, че наличието на мутация на *NPM1* гена има негативна връзка с *BAALC* (+). Подобни са данните и на Verma et al., които свързват *BAALC*(+) с отсъствието на *NPM1* мутация [8].

Установихме връзка между налична *PML-RARA* аномалия и *BAALC* (+). Частично потвърждение на този факт се дава от резултатите на Shakirova et al., които не откриват *BAALC* (+) при M3 подтипа на ОМЛ по FAB [20]. Потвърждение на нашите данни дават и резултатите на Lucena-Araujo et al., които правят извод, че *BAALC* (+) е много по-нисък при острата промиелоцитна левкемия [23].

В нашия анализ доказахме значима разлика в преживяемостта на *BAALC* (+) и *BAALC* (-) групи, като общата преживяемост при *BAALC* (+) пациентите е значимо по-кратка. Подобни резултати намираме в данните на множество автори [9,10,11,17,18,19]. Други не откриват разлика [23], като това може да се отдаде на различните популации от ОМЛ пациенти, които са анализирани. Като фактори повлияващи негативно преживяемостта в групата със свръхекспресия се установиха: мъжкият пол, вторична ОМЛ и ECOG статус 0-1. Вероятно обяснение на факта, че мъжкият пол е негативен прогностичен фактор може да се отдаде на данните, че половият признак при пациентите с ОМЛ има връзка с генетичните алтерации и оказва влияние върху биологията и прогнозата на заболяването [24]. Влиянието на *BAALC* гена в групата на вторична ОМЛ може да намери обяснение в данните на Thol et al., които демонстрират висока честота на свръхекспресия (50%), както и по висока честота на трансформация на болните с МДС към ОМЛ [22]. По отношение на ECOG статус 0-1, може да се каже, че *BAALC* (+), като негативен прогностичен фактор се доказва и от други автори във всичките популации на ОМЛ болни, подложени на анализ от тях [19].

Установихме, че в групата пациенти с рецидив на ОМЛ, наличието на *BAALC*(+)значимо намалява преживяемостта. Това допълва данните на Jentzsch et al., които съобщават по-висока честота на рецидивите при пациенти с ОМЛ, преминали алоСКТ и позитивни за *BAALC* [25].

При пациентите с ОМЛ в групата провеждала високо интензивна терапия е налице статистически значимо негативно влияние на свръхекспресията на *BAALC* гена върху преживяемостта. Това е потвърдено от данните на Langer et al., които установяват, че *BAALC* (+) статус намалява преживяемостта при пациенти под 60 години с нормален цитогенетичен профил и преминали интензив-

на индукционна терапия [11]. В тази насока са и данните на Najima et al., които потвърждават, че BAALC (+) има негативен импакт по отношение на преживяемостта свободна от заболяване при пациенти с ОМЛ, лекувани със стандартни високо интензивни режими [26].

По отношение въздействието на BAALC (+) статуса върху преживяемостта на подгрупата ОМЛ с нормален кариотип, нашите данни съответстват на резултатите на множество други автори [7, 8, 11, 12, 14, 18].

По отношение корелация на статуса на BAALC със свръхекспресия на EVI1 се установи, че всички пациенти със свръхекспресия на двата гена са починали, определяйки категорично наличието им като негативен прогностичен фактор. Потвърждение на нашите данни дават резултатите на Akhter et al. [27], които показват, че BAALC (+) и EVI1 е лош прогностичен белег, по отношение на преживяемостта. Потвърждение на нашия резултат намираме и в данните на други автори [28,29].

В нашия анализ връзката между FLT3 ITD мутацията и BAALC (+) по отношение на преживяемостта в групата пациенти, преминали интензивна терапия, се доказва статистически значима ($p=0,040$). Този резултат се потвърждава от данните на Baldus et al. [30], както и от данните на Bienz et al. [31], но е в противоречие с анализа на Weber et al. [32]. Различията в резултатите на авторите могат да се дължат на различните кохорти пациенти, както и на различните статистически методи на анализ, които са приложени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При това първо за страната системно изследване на свръхекспресия на BAALC върху голяма популация пациенти с ОМЛ се установи честота от 54,6 %. BAALC е негативен прогностичен маркер за общата преживяемост при ОМЛ, както и при подгрупите: мъжки пол, вторична ОМЛ, ECOG 0-1, нормален кариотип, проведена интензивна терапия и рецидивирала ОМЛ. По отношение на преживяемостта BAALC корелира негативно с EVI1 и FLT3 ITD. Нашите данни потвърждават тезата, че свръхекспресията на BAALC е значим прогностичен маркер при пациентите с ОМЛ, характеризирайки отделни подгрупи пациенти, при които изследването му при поставянето на диагнозата, ще бъде от важно клинично значение и ще носи практическа полза. Необходими са последващи, детайлни и проспективни проучвания в тази област, за да бъдат изяснени и възможно най-точно приложени натрупаните данни.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Емил Алексов

Национална специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания

Бул. „Климент Охридски“ № 1А

София, п.к. 1756

e.aleksov@hematology.bg

Corresponding address:

Dr. Emil Aleksov

Specialized Hospital for Active Treatment

of Hematology Diseases - Sofia

Kliment Ohridski Bldv 1A

1A Kliment Ohridski Blvd.

1756 Sofia

E-Mail: e.aleksov@hematology.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Rubnitz JE, Gibson B, Smith FO. Acute myeloid leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2010 Feb;24(1):35-63. doi: 10.1016/j.hoc.2009.11.008. PMID: 20113895.
2. Lagunas-Rangel FA, Chávez-Valencia V, Gómez-Guijosa MÁ, Cortes-Penagos C. Acute Myeloid Leukemia-Genetic Alterations and Their Clinical Prognosis. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res.* 2017 Oct 1;11(4):328-339. PMID: 29340131; PMCID: PMC5767295.
3. J. W. Tyner, C. E. Tognon, D. Bottomly et al., "Functional genomic landscape of acute myeloid leukaemia," *Nature*, vol.562, no.7728, pp.526-531, 2018
4. Tanner, BAALC, the human member of a novel mammalian neuroectoderm gene lineage, is implicated in hematopoiesis and acute leukemia, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, № 98, с. 13901 <https://doi.org/10.1073/pnas.241525498>
5. Heuser, M., Berg, T., Kuchenbauer, F. et al. Functional role of BAALC in leukemogenesis. *Leukemia* 26, 532-536 (2012). <https://doi.org/10.1038/leu.2011.228>
6. Xu B, Chen G, Shi P, Guo X, Xiao P, Wang W, Zhou S. shRNA-Mediated BAALC knock-down affects proliferation and apoptosis in human acute myeloid leukemia cells. *Hematology*. 2012 Jan;17(1):35-40. doi: 10.1179/102453312X13221316477499. PMID: 22549446.
7. Marjanovic I, Karan-Djurasevic T, Kostic T, Virijevic M, Vukovic NS, Pavlovic S, Tosic N. Prognostic significance of combined BAALC and MN1 gene expression level in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Int J Lab Hematol.* 2021 Jun;43(3):433-440. doi: 10.1111/ijlh.13405. Epub 2020 Nov 26. PMID: 33242229.
8. Verma D, Kumar R, Ali MS, Singh J, Arora M, Singh I, Kumari S, Bakhshi S, Sharma A, Palanichamy JK, Tanwar P, Singh AR, Chopra A. BAALC gene expression tells a serious patient outcome tale in NPM1-wild type/FLT3-ITD negative cytogenetically normal-acute myeloid leukemia in adults. *Blood Cells Mol Dis.* 2022 Jul;95:102662. doi: 10.1016/j.bcmd.2022.102662. Epub 2022 Apr 8. PMID: 35429905.
9. Santamaria C, Chillón MC, García-Sanz R, Pérez C, Caballero MD, Mateos MV, Ramos F, de Coca AG, Alonso JM, Giraldo P, Bernal T, Queizán JA, Rodríguez JN, Puig N, Balanzategui A, Sarasquete ME, Alcoceba M, Díaz-Mediavilla J, San Miguel J, González M. BAALC is an important predictor of refractoriness to chemotherapy and poor survival in intermediate-risk acute myeloid leukemia (AML). *Ann Hematol.* 2010 May;89(5):453-8. doi: 10.1007/s00277-009-0864-x. Epub 2009 Nov 27. PMID: 19943049.
10. Yahya RS, Sofan MA, Abdelmasseih HM, Saady N, Sharaf-Eldein MA. Prognostic implication of BAALC gene expression in adult acute myeloid leukemia. *Clin Lab.* 2013;59(5-6):621-8. doi: 10.7754/clin.lab.2012.120604. PMID: 23865362.
11. Langer C, Radmacher MD, Ruppert AS, Whitman SP, Paschka P, Mrózek K, Baldus CD, Vukosavljevic T, Liu CG, Ross ME, Powell BL, de la Chapelle A, Kolitz JE, Larson RA, Marcucci G, Bloomfield CD; Cancer and Leukemia Group B (CALGB). High BAALC expression associates with other molecular prognostic markers, poor outcome, and a distinct gene-expression signature in cytogenetically normal patients younger than 60 years with acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B (CALGB) study. *Blood.* 2008 Jun 1;111(11):5371-9. doi: 10.1182/blood-2007-11-124958. Epub 2008 Mar 31. PMID: 18378853; PMCID: PMC2396728.
12. Eid MA, Attia M, Abdou S, El-Shazly SF, Elahwal L, Farrag W, Mahmoud L. BAALC and ERG expression in acute myeloid leukemia with normal karyotype: impact on prognosis. *Int J Lab Hematol.* 2010 Apr;32(2):197-205. doi: 10.1111/j.1751-553X.2009.01168.x. Epub 2009 Jun 23. PMID: 19555438.
13. Tanner SM, Austin JL, Leone G et al. (November 2001). "BAALC, the human member of a novel mammalian neuroectoderm gene lineage, is implicated in hematopoiesis and acute leukemia." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 98 (24): 13901-6.
14. El-Sharnouby JA, Ahmed LM, Taha AM, Kamal O. Prognostic significance of CEBPA mutations and BAALC expression in acute myeloid leukemia Egyptian patients with

normal karyotype. *Egypt J Immunol.* 2008;15(1):131-43. PMID: 20306678.

15. Soliman A, Aal AA, Afify R, Ibrahim N. BAALC and ERG Expression in Egyptian Patients with Acute Myeloid Leukemia, Relation to Survival and Response to Treatment. *Open Access Maced J Med Sci.* 2016 Jun 15;4(2):264-70. doi: 10.3889/oamjms.2016.058. Epub 2016 May 22. PMID: 27335598; PMCID: PMC4908743.
16. Shafik NF, El Ashry MS, Badawy RH, Hussein MM, Hassan NM. The Prognostic Significance of the BML-1 and BAALC Genes in Adult Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2020 Oct;36(4):652-660. doi: 10.1007/s12288-020-01278-9. Epub 2020 Mar 30. PMID: 33100707; PMCID: PMC7573057
17. Xiao SJ, Shen JZ, Huang JL et al.(2015) Prognostic significance of the BAALC gene expression in adult patients with acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *Molecular and clinical oncology* 3(4):880–888. <https://doi.org/10.3892/mco.2015.562>
18. Weber, S., Alpermann, T., Dicker, F. et al. BAALC expression: a suitable marker for prognostic risk stratification and detection of residual disease in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Blood Cancer Journal* 4, e173 (2014). <https://doi.org/10.1038/bcj.2013.71>
19. Damiani D, Tiribelli M, Franzoni A, Michelutti A, Fabbro D, Cavallin M, Toffoletti E, Simeone E, Fanin R, Damante G. BAALC overexpression retains its negative prognostic role across all cytogenetic risk groups in acute myeloid leukemia patients. *Am J Hematol.* 2013 Oct;88(10):848-52. doi: 10.1002/ajh.23516. Epub 2013 Jul 23. PMID: 23760853.
20. Shakirova, Alena & Mamaev, Nikolay & Barkhatov, I. & Gudozhnikova, Yana & Gindina, Tatiana & Babenko, Elena & Afanasyev, Boris. (2019). Clinical significance of BAALC overexpression for predicting post-transplant relapses in acute myeloid leukemia. *Cellular Therapy and Transplantation.* 8. 45-57. 10.18620/ctt-1866-8836-2019-8-2-45-57.
21. Amirpour M, Ayatollahi H, Sheikh M, Azarkerdar S, Shams SF. Evaluation of BAALC gene expression in normal cytogenetic acute myeloid leukemia patients in north-east of Iran. *Med J Islam Repub Iran.* 2016 Sep 27;30:418. PMID: 28210583; PMCID: PMC5307615.
22. Thol F, Yun H, Sonntag AK et al: Prognostic significance of combined MN1, ERG, BAALC, and EVI1 (MEBE) expression in patients with myelodysplastic syndromes. *Ann Hematol.* 2012 Aug;91(8):1221-33. doi: 10.1007/s00277-012-1457-7. Epub 2012 Apr 10.
23. Lucena-Araujo AR, Pereira-Martins DA, Koury LC, Franca-Neto PL, Coelho-Silva JL, de Deus Wagatsuma VM, Melo RAM, Bittencourt R, Pagnano K, Pasquini R, Chiattoni CS, Fagundes EM, Chauffaille ML, Schrier SL, Tallman MS, Ribeiro RC, Grimwade D, Ganser A, Löwenberg B, Lo-Coco F, Sanz MA, Berliner N, Rego EM. Clinical impact of BAALC expression in high-risk acute promyelocytic leukemia. *Blood Adv.* 2017 Sep 15;1(21):1807-1814. doi: 10.1182/bloodadvances.2017005926. PMID: 29296827; PMCID: PMC5728094.
24. Ozga, M., Nicolet, D., Mrózek, K. et al. Sex-associated differences in frequencies and prognostic impact of recurrent genetic alterations in adult acute myeloid leukemia (Alliance, AMLCG). *Leukemia* 38, 45–57 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41375-023-02068-8>
25. Jentsch M, Bill M, Grimm J, Schulz J, Goldmann K, Beinicke S, Häntschel J, Pönisch W, Franke GN, Vucinic V, Behre G, Lange T, Niederwieser D, Schwind S. High BAALC copy numbers in peripheral blood prior to allogeneic transplantation predict early relapse in acute myeloid leukemia patients. *Oncotarget.* 2017 Sep 27;8(50):87944-87954. doi: 10.18632/oncotarget.21322. PMID: 29152132; PMCID: PMC5675684.
26. Najima Y, Ohashi K, Kawamura M, Onozuka Y, Yamaguchi T, Akiyama H, Sakamaki H. Molecular monitoring of BAALC expression in patients with CD34-positive acute leukemia. *Int J Hematol.* 2010 May;91(4):636-45. doi: 10.1007/s12185-010-0550-8. Epub 2010 Apr 8. PMID: 20376583.
27. Akhter et al. A, Farooq F, Elyamany G, Mughal MK, Rashid-Kolvear F, Shabani-Rad MT, Street L, Mansoor A. Acute Myeloid Leukemia (AML): Upregulation of BAALC/MN1/MLLT11/EVI1 Gene Cluster Relate With Poor Overall Survival and a Possible Linkage With Coexpression of MYC/BCL2 Proteins. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2018 Aug;26(7):483-488. doi: 10.1097/PAI.0000000000000452. PMID: 28362701.
28. Erik H van Beers, Jaap Brand, Martin H. van Vliet, Henk E Vietor, Peter J.M. Valk, Bob Lowenberg. BAALC and EVI1 Prognostic Gene Expression in Adult Acute Myeloid Leukemia Using the Amlprofiler Custom Microarray, *Blood*, Volume 120, Issue 21, 2012, Page 1420, ISSN 0006-4971, <https://doi.org/10.1182/blood.V120.21.1420.1420>.
29. Ka-Yuk Yuen, Xiao-Ying Lin, Yong-Zhuo Zhou, Hua Luo, Yong Liu & Lu-Hong Xu (2021) Optimal time-points for detecting expression levels of BAALC, EVI1, and WT1 genes in patients with acute myeloid leukemia: a meta-analysis, *Hematology*, 26:1, 995-1006, DOI: 10.1080/16078454.2021.2006409
30. Baldus CD, Thiede C, Soucek S, Bloomfield CD, Thiel E, Ehninger G. BAALC expression and FLT3 internal tandem duplication mutations in acute myeloid leukemia patients with normal cytogenetics: prognostic implications. *J Clin Oncol.* 2006 Feb 10;24(5):790-7. doi: 10.1200/JCO.2005.01.6253. Epub 2006 Jan 17. PMID: 16418499.
31. Bienz M, Ludwig M, Leibundgut EO, Mueller BU, Ratschiller D, Solenthaler M, Fey MF, Pabst T. Risk assessment in patients with acute myeloid leukemia and a normal karyotype. *Clin Cancer Res.* 2005 Feb 15;11(4):1416-24. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-1552. Erratum in: *Clin Cancer Res.* 2005 Aug 1;11(15):5659. PMID: 15746041.
32. Simone Weber, Tamara Alpermann, Christiane Eder, Frank Dicker, Sabine Jeromin, Alexander Kohlmann, Annette Fasan, Claudia Haferlach, Wolfgang Kern, Torsten Haferlach, Susanne Schnittger, High BAALC Expression in Cytogenetically Normal Acute Myeloid Leukemia Strongly Correlates with Adverse Markers Such As RUNX-1mut, MLL-PTD and FLT3-ITD and Is Useful for Disease Monitoring, *Blood*, Volume

120, Issue 21, 2012, Page 1376, ISSN 0006-4971, <https://doi.org/10.1182/blood.V120.21.1376.1376>.

ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ ПРИ НАПРЕДНАЛА ВЪЗРАСТ – ЕДНОЦЕНТРОВ ОПИТ

М. Дончев, Я. Давидкова, Т. Янкова, Н. Симоноски, Г. Михайлов

Специализирана Болница за Активно Лечение на Хематологични Заболявания – гр. София

ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN ELDERLY PATIENTS – SINGE CENTER EXPERIENCE

M. Donchev, Y. Davidkova, T. Yankova, N. Simonoski, G. Mihaylov

Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia

Резюме.

Въведение: Острата миелоидна левкемия (ОМЛ) представлява хематологична неоплазия с различен биологичен и клиничен ход, която се отличава с нарушение в регулаторни механизми, водещи до пролиферация, апоптоза и диференциация на левкемични незрели клетки.

Цел: Да се сравнят новодиагностицирани пациенти с ОМЛ, неподходящи за интензивна терапия, които са лекувани с монотерапия с хипометилиращ агент Azacitidine или с комбинация с перорален BCL-2 инхибитор (Ven/Aza).

Материали И Методи: Проведеното ретроспективно проучване включва кохорта от 50 новоткрити възрастни с ОМЛ за периода от юли 2018г. до април 2023г. в СБАЛХЗ, София. Средната възраст на пациентите беше 71.4 год. (от 61 до 86 год.). От тях 40% (n=20) бяха лекувани с монотерапия с хипометилиращ агент Azacitidine, а останалите 60% (n=30) – с комбинацията от Azacitidine с перорален BCL-2 инхибитор Venetoclax.

Резултати: Анализът показа, че не се наблюдават статистически значими различия по отношение на демографските параметри, параклиничните данни и ELN рисковата статификация в двете изследвани групи. Оценката след 4 курса на лечение показа, че честотата на обща пълна ремисия бе значимо по-висока в групата на Ven/Aza в сравнение с Aza (съответно 72,2% срещу 8,3%, $p<0,001$). Сходни бяха резултатите за постигната пълна ремисия (включваща CR и CRi) и след 8 курса за Ven/Aza в спрямо групата с Aza (съответно 80% срещу 0%, $p=0,015$). Пациентите с проведена монотерапия се характеризираха със значимо по-кратка средна обща преживяемост спрямо останалите, лекувани с Ven/Aza съответно 6.8 мес. (95% CI 3.9 – 9.6 мес.) спрямо 11.1 мес. (95% CI 7.7 – 14.5 мес.) ($p=0.05$). Лекуваните с Ven/Aza се отличаваха значимо с по-продължителна свободната от прогресия преживяемост спрямо възрастните с монотерапия, съответно 16.7 мес. (95% CI 13.3 – 20.2 мес.) спрямо 6.6 мес. (95% CI 3.7 – 9.5 мес.) ($p=0.002$).

Заклучение: Нашите данни показват, че комбинираното приложение на Ven/Aza при възрастни пациенти, неподходящи за интензивна терапия, води до по-продължителна обща и свободна от прогресия преживяемост, както и до по-висока честота на постигнат пълн отговор спрямо монотерапията с Aza

Ключови думи: остра миелоидна левкемия, BCL-2 инхибитор, хипометилираща терапия

Abstract.

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is a hematological neoplasm with various biological and clinical course, which is characterized by abnormal regulatory mechanisms leading to impaired proliferation, apoptosis and differentiation of leukemic immature cells.

Aim: To compare newly diagnosed patients with AML unfit for intensive care who were treated with monotherapy with the hypomethylating agent Azacitidine (Aza) or with combination with an oral BCL-2 inhibitor (Ven/Aza).

Materials and methods: The retrospective study included a cohort of 50 newly diagnosed elderly patients with AML for the period from July 2018 until April 2023 at the Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia. The mean age of the patients was 71.4 years. (from 61 to 86 years old). Of these, 40% (n=20) were treated with monotherapy with the hypomethylating agent Azacitidine, and the remaining 60% (n=30) - with the combination of Azacitidine with the oral BCL-2 inhibitor Venetoclax.

Results: The analysis demonstrated the absence of statistically significant differences in regards to demographic parameters, laboratory data and ELN risk stratification in the two treated groups. The evaluation after 4 courses of treatment showed that the incidence of total complete remission was significantly higher in the Ven/Aza group compared to Aza (72.2% vs 8.3%, $p<0.001$, respectively). Similar were the results for complete remission (including CR and CRi) after 8 therapeutic courses of Ven/Aza in comparison to Aza alone (respectively 80% vs. 0%, $p=0.015$). Patients with monotherapy were characterized by a significantly

shorter mean overall survival compared to the others treated with Ven/Aza 6.8 months (95% CI 3.9 – 9.6 months) compared to Aza 11.1 months (95% CI 7.7 – 14.5 months) ($p=0.05$). The elderly patients treated with Ven/Aza had a significantly longer progression-free survival compared to adults with monotherapy 16.7 months (95% CI 13.3 – 20.2 months) compared to 6.6 months (95% CI 3.7 – 9.5 months), respectively ($p=0.002$).

CONCLUSION: The therapeutic approach with Ven/Aza in elderly patients unfit for intensive chemotherapy is characterized by durable overall and progression-free survival, as well as with an elevated rate of complete response compared to Aza monotherapy.

Key words: acute myeloid leukemia, BCL-2 inhibitor, hypomethylating therapy

ВЪВЕДЕНИЕ

Острата миелоидна левкемия (ОМЛ) е клонално заболяване с различен клиничен и биологичен ход, което се дължи на абнормна пролиферация, нарушена апоптоза и диференциация на незрели миелоидни бласти. Честотата на ОМЛ е едва под 3% от всички злокачествени заболявания, като в частност ОМЛ съставлява около 25% от всички левкемии и 80% от острите левкемии при възрастните пациенти¹. В световен мащаб се установява нарастване на новодиагностицираните случаи с остра левкемия до 46% през последните 3 години².

Според популационно-базирано проучване онкологичният регистър в САЩ SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results) показва увеличена 5-годишна преживяемост до 31.9 % в западните страни (за периода 2014-2020 г.) при пациенти с ОМЛ³. Епидемиологичните данни сочат, че 5-годишната преживяемост по декади при млади пациенти от 15-39 г. нараства от 24% за периода 1980 – 1989 г. до 63% за периода 2010 – 2017 г.³. Това се обуславя в голяма степен от молекулярно-биологичните и генетични открития за биологичния ход на ОМЛ, което от своя страна позволява персонализиране на терапевтичния подход. В допълнение, 5-годишната преживяемост при младите пациенти с ОМЛ е около 40%, докато същата при възрастни над 65 години едва достига 5%^{4,5}. Сходни са възрастовите различия и по отношение на постигането на пълен терапевтичен отговор – по-ниска честота на терапевтичен успех при по-възрастните 40-50% спрямо 50-60% при по-младите^{6,7}.

Промяната във функцията на редица епигенетични и транскрипционни фактори, кинази и регулатори на клетъчни цикъл имат ключова роля в мутационния статус на ОМЛ при по-възрастни пациенти, което налага и различен терапевтичен подход спрямо по-младите. През последните години се наблюдава подобрене в клиничния отговор и по-продължителна обща преживяемост при пациенти в напреднала възраст благодарение на приложението на селективен BCL-2 инхибитор (B-cell lymphoma 2) към терапията с Azacitidine (Aza)⁸.

В тази връзка си поставихме за цел да проведем сравнително проучване върху новодиагностицирани пациенти с ОМЛ, неподходящи за интензив-

на терапия, които са лекувани с монотерапия с хипометилиращ агент Azacitidine (Aza) или с комбинация с перорален BCL-2 инхибитор (Ven/Aza).

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проучването обхваща 50 пациента (30 мъже, 20 жени на средна възраст 71.4 год., от 61 до 86 год.), новодиагностицирани с ОМЛ за периода от юли 2018г. до април 2023 год. в СБАЛХЗ, гр. София. Анализирани бяха клинични параметри за еволюция на заболяването (обща преживяемост, свободна от прогресия преживяемост), както и лабораторни данни. Общата преживяемост (OS) беше изчислена от датата на поставяне на диагнозата до датата на настъпване на смъртта, а свободната от прогресия преживяемост (PFS) – като времето от инициране на терапията до настъпването на прогресия или смърт. Терапевтичният отговор беше определен посредством морфологично изследване на костния мозък, съчетано с имунофенотипизация на бластните клетки за оценка на нивото на минимална резидуална болест. Понятието пълна ремисия (CR) включваше пациенти с бласти в костния мозък $<5\%$, неутрофили $\geq 1 \times 10^9/L$ и тромбоцити $\geq 100 \times 10^9/L$, тези с непълно хематологично възстановяване (CRi) се характеризираха с всички критерии за CR, но неутрофили $< 1 \times 10^9/L$, тромбоцити $< 100 \times 10^9/L$. Морфологично липсваща левкемия беше дефинирана при под 5% незрели миелоидни прекурсори в костния мозък, при липса на изброените критерии за клетъчно възстановяване. Случаите с частична ремисия (PR) се отличаваха с намаление на бластния брой с най-малко 50%. Прогресията бе дефинирана с увеличение на процента на незрели клетки или поява на нова екстрамедуларна локализация. Достигналите CR и CRi бяха обединени под обща честота на пълна ремисия (composite CR - CRc).

Статистически анализ

Извършена беше статистическа обработка на получените резултати. Продължителността на общата преживяемост и свободната от прогресия преживяемост бяха анализирани посредством метода на Kaplan&Meier, като различията между отделните статистически групи бяха оценени посредством log rank тест. Статистически значими разлики са съобщени при $p < 0.05$. Изчисленията бяха осъ-

ществени посредством компютърна статистическа програма SPSS software version 27 (Statsoft Inc., Los Angeles, CA, USA).

РЕЗУЛТАТИ

В проведеното проучване бяха включени 20 пациента на монотерапия с Aza, и 30 – на лечение с Ven/Aza. Не се установиха статистически значими

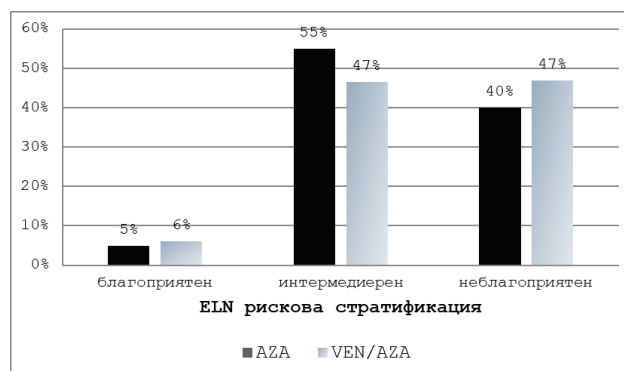
различия по отношение на демографските параметри (възраст и пол) в двете анализирани групи. Сходни бяха резултатите и по отношение на лабораторните параметри от пълната кръвна картина – левкоцитен брой (WBC), абсолютен неутрофилен брой (ANC), стойности на хемоглобин (Hb), тромбоцити (PLT), както и на инициалния процент бласти в периферна кръв и костен мозък към диагноза (Таблица 1.).

Параметър	Група Aza	Група Ven/Aza	P value
Възраст Mean (95% CI)	70.1 години (68.0 – 72.2)	72.3 години (69.9 – 74.5)	P = 0.18
мъже % (n)	65% (13)	56.7% (17)	P = 0.5
жени % (n)	35% (7)	43.3% (13)	
WBC Mean (95% CI)	10.8 x10 ⁹ /L (4.7 – 16.9)	15.7 x10 ⁹ /L (6.7 – 24.7)	P = 0.4
ANC Mean (95% CI)	4.7 x10 ⁹ /L (0.68 – 8.8)	5.9 x10 ⁹ /L (2.8 – 9.2)	P = 0.63
Hb Mean (95% CI)	82.5 g/L (72.6 – 92.4)	83.6 g/L (76.3 – 90.9)	P = 0.86
PLT Mean (95% CI)	68.9 x10 ⁹ /L (45.5 – 92.4)	95.1 x10 ⁹ /L (62.5 – 127.7)	P = 0.23
Бласти в периферна кръв % Mean (95% CI)	23.2 % (11.7 – 34.7)	18.5 % (11.2 – 25.7)	P = 0.45
Бласти в костен мозък % Mean (95% CI)	40.4 % (29.9 – 50.7)	49.4 % (41.5 – 57.3)	P = 0.15

Таблица 1. Основни демографски и лабораторни параметри в двете терапевтични групи.

Микроскопското изследване на препарати от периферна кръв и костномозъчен аспират показва, че при 42% от всички пациенти се наблюдават диспластични изменения в клетките. Морфологичният анализ и допълнителното цитохимично оцветяване допринесоха за определяне на случаите с ОМЛ според FAB (French-American-British) класификацията. Превалираха тези с миеломоноцитна и монобластна/моноцитна характеристика, съответно 54% (ОМЛ-M4) и 15% (ОМЛ-M5) от всички пациенти. Не се доказва връзка между моноцитонидната морфология на бластните елементи и продължителността на общата преживяемост.

По отношение на разпределението на рисковите групи според рисковата стратификация на ELN от 2022 (European LeukemiaNet) също не се откриха статистически значими различия между генетичните аномалии в двете терапевтични групи (p=0.8) (Фигура 1.). Най-малобройна беше групата с благоприятен рисков статус – съответно 5% (n=1) за лечение с Aza и 6% (n=2) - Ven/Aza. Резултатите показваха, че преобладават случаите с неблагоприятен риск – 44% от всички пациенти. В тази група са проявени следните генетични аномалии – комплексен кариотип, t(3;3)(q21.3;q26.2), t(6;9)(p23.3;q34.1), del(5q).

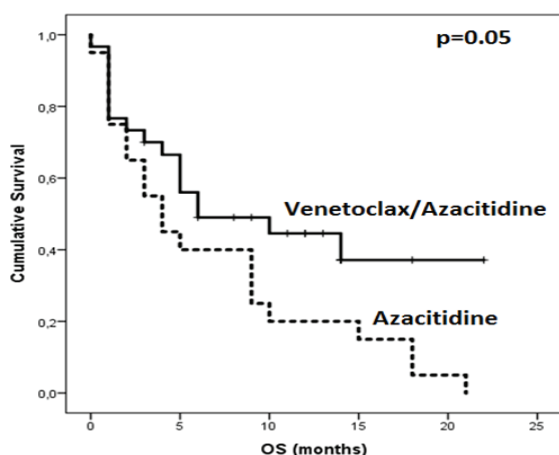


Фигура 1. Разпределение на рисковите групи според препоръките на ELN 2022 в двете анализирани групи.

Отговорът от проведеното лечение бе оценен съответно след 4 и 8 курса посредством пълна кръвна картина, миелограма и флуцитометрично изследване на костномозъчен аспират. Седем от пациентите, лекувани с Ven/Aza се открояваха значимо с ниско ниво на резидуална болест ($\leq 0.1\%$) спрямо 0 лекувани с Aza, докато тези с високо ниво на остатъчна болест ($> 0.1\%$) бяха сходни в двете групи 48% с Aza срещу 52% с Ven/Aza (p=0.03). Интерес представляват резултатите след

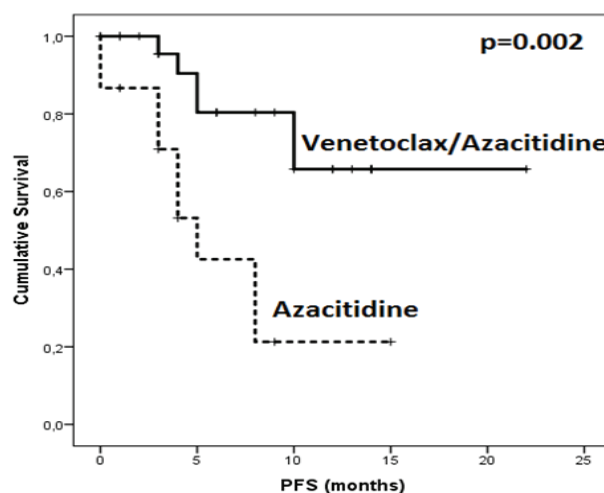
4 курса на химиотерапия. В групата с Aza беше отчетен само 1 случай с CRc (включващ CR и CRi), нито един не бе достигнал PR и при 11 бе регистрирана прогресия спрямо 13 пациента с CRc, 1 с PR и едва четирима с прогресия в групата с Ven/Aza ($p < 0.001$). Терапевтичният отговор след 8 курса на лечение бе отчетен при 14 от пациентите. Значими различия бяха забелязани в двете изследвани групи, като 8 от възрастните пациенти с Ven/Aza достигнаха CRc, спрямо нито един от Aza групата, а с прогресия бяха само 2 от Ven/Aza спрямо 4 от Aza ($p = 0.015$).

Допълнително сравнихме продължителността на общата преживяемост при пациентите в двете анализирани групи посредством метода на Kaplan&Meier. Резултатите показаха, че пациентите с проведена монотерапия се характеризираха със значимо по-кратка средна обща преживяемост спрямо останалите, лекувани с Ven/Aza съответно 6.8 мес. (95% CI 3.9 – 9.6 мес.) спрямо 11.1 мес. (95% CI 7.7 – 14.5 мес.) ($p = 0.05$) (Фигура 2.).



Фигура 2. Оценка на общата преживяемост (OS) при лечение с монотерапия с хипометилиращ агент Aza и при комбинацията Ven/Aza (Kaplan-Meier, log rank test $p = 0.05$).

Анализът на свободната от прогресия преживяемост в двете групи възрастни пациенти показва сходни резултати. Пациентите, неподходящи за интензивна терапия, които са лекувани с Ven/Aza се отличаваха значимо с по-продължителна свободната от прогресия преживяемост спрямо възрастните с монотерапия съответно 16.7 мес. (95% CI 13.3 – 20.2 мес.) спрямо 6.6 мес. (95% CI 3.7 – 9.5 мес.) ($p = 0.002$) (Фигура 3.).



Фигура 3. Оценка на свободната от прогресия преживяемост (PFS) при лечение с монотерапия с хипометилиращ агент Aza и при комбинацията Ven/Aza (Kaplan-Meier, log rank test $p = 0.002$).

ОБСЪЖДАНЕ

Лечението на остра миелоидна левкемия при възрастни пациенти, неподходящи за провеждане на интензивна терапия, остава предизвикателство пред лекарския екип, поради напредналата възраст, съпътстващ коморбидитет и влошеното им качество на живот.

Получените резултати от нашето проучване потвърждават публикуваните данни за предимството на комбинацията Ven/Aza пред самостоятелното приложение на Aza^{9,10}. Молекулата на Venetoclax представлява селективен BCL-2 инхибитор, който посредством активиране на апоптични ефектори BAX и BAK, води до митохондриална пермеабилзация на мембраната и програмирана смърт на незрелите левкемични клетки¹¹. Добавянето му към 7-дневна терапия с хипометилиращ медикамент Aza показва благоприятни клинични резултати при болни с ОМЛ с напреднала възраст и наличие на съпътстващи заболявания.

Мултицентрово проучване на изследователски екип не установява значими различия между терапевтичния подход и възрастта, пола на пациентите и типа на ОМЛ подобно на нашите регистрирани резултати¹⁰. При оценка на терапевтичния отговор проведохме имунофенотипно изследване на бластните клетки от костномозъчен аспират. Флоуцитометричният анализ доказва, че при 7 пациента от групата с Ven/Aza се установява ниско ниво на остатъчна болест $\leq 0.1\%$, за разлика от нито един на монотерапия. Описана е връзка между ниското ниво на минимална резидуална болест и по-продължителната обща преживяемост, която достига 34 мес^{10,12}. Pratz и съавтори доказват, че пациентите с неблагоприятен изходен цитогенетичен рисков статус се отличават с по-кратка обща преживяемост. Нашите данни не установиха така-

ва връзка вероятно, заради малката група пациенти, както и липсата на изследване на някои неблагоприятни молекулярни маркери към диагноза. От друга страна публикация на друг авторски колектив доказва връзка между неблагоприятния цитогенетичен профил и рефрактерните ОМЛ, не и при новооткритите случаи¹³.

Редица автори, описват висока честота на CR, както и по-продължителна обща преживяемост при възрастни пациенти лекувани с Ven/Aza. Данните от клинично проучване VIALE-A демонстрират средна OS 14.7 мес., за разлика от 11.1 мес. от нашата Ven/Aza кохорта⁹. Различията в публикуваните стойности вероятно се дължат на нееднакви периоди на наблюдение на пациентите, както и на различната им средна възраст, която обуславя характерна продължителност на живота.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нашите данни показват, че комбинираното приложение на Ven/Aza при възрастни пациенти, неподходящи за интензивна терапия, води до по-продължителна обща и свободна от прогресия преживяемост, както и до по-висока честота на постигнат пълен отговор спрямо монотерапията с Aza. Въпреки това са необходими допълнителни проучвания върху пациентите с ОМЛ и напреднала възраст с цел откриване на допълнителни подходящи терапевтични режими за тази „крехка“ група пациенти.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Мартин Дончев

Специализирана Болница за Активно Лечение на Хематологични Заболявания – гр. София

Бул. „Климент Охридски“ 1

Тел.: 0877 676134

e-mail: martin.donchev@abv.bg

Corresponding address:

Dr. Martin Donchev

Specialized Hospital for Active Treatment of Hematology Diseases - Sofia

Kliment Ohridski Blvd 1A

Tel.: +359 877 676134

e-mail: martin.donchev@abv.bg

БИБЛИОГРАФИЯ:

1. Deschler B, Lübbert M. Acute Myeloid Leukemia: Epidemiology and Etiology. *Acute Leukemias*. 2008;47–56. doi: 10.1007/978-3-540-72304-2_3. PMID: PMC7123906.
2. Jani CT, Ahmed A, Singh H, Mouchati C, Al Omari O, Bhatt PS, Sharma R, Farooq M, Liu W, Shalhoub J, Marshall D, Saliccioli JD, Warner JL, Lam P. Burden of AML, 1990–2019: Estimates From the Global Burden of Disease Study. *JCO Glob Oncol*. 2023 Sep;9:e2300229. doi: 10.1200/GO.23.00229. PMID: 37992271; PMID: PMC10681472.
3. Sasaki K, Ravandi F, Kadia TM, DiNardo CD, Short NJ, Borthakur G, Jabbour E, Kantarjian HM. De novo acute myeloid leukemia: A population-based study of outcome

in the United States based on the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) database, 1980 to 2017. *Cancer*. 2021 Jun 15;127(12):2049–2061. doi: 10.1002/cncr.33458. Epub 2021 Apr 5. PMID: 33818756.

4. Alibhai S.M., Leach M., Minden M.D., Brandwein J. Outcomes and quality of care in acute myeloid leukemia over 40 years. *Cancer*. 2009;115(13):2903–2911.
5. Menzin J., Lang K., Earle C.C., Kerney D., Mallick R. The outcomes and costs of acute myeloid leukemia among the elderly. *Arch. Intern Med*. 2002;162(14):1597–1603.
6. Almeida AM, Ramos F. Acute myeloid leukemia in the older adults. *Leuk Res Rep*. 2016 Jun 16;6:1–7. doi: 10.1016/j.lrr.2016.06.001. PMID: 27408788; PMID: PMC4927655.
7. Shimony S, Stahl M, Stone RM. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol*. 2023 Mar;98(3):502–526. doi: 10.1002/ajh.26822. Epub 2023 Jan 13. PMID: 36594187.
8. Venditti A, Hou J, Fenaux P et al. Outcomes in Chemotherapy-Ineligible Elderly Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia Treated with Venetoclax Plus Azacitidine: A Pooled Analysis. *Blood* 2023; 142 (1): 2886. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2023-182045>
9. DiNardo CD, Jonas BA, Pullarkat V, et al. Azacitidine and Venetoclax in Previously Untreated Acute Myeloid Leukemia. *N Engl J Med*. 2020;383(7):617–629. doi:10.1056/NEJMoa2012971
10. Pratz KW, Jonas BA, Pullarkat V, et al. Long-term follow-up of VIALE-A: Venetoclax and azacitidine in chemotherapy-ineligible untreated acute myeloid leukemia. *Am J Hematol*. 2024;99(4):615–624. doi:10.1002/ajh.27246
11. Guerra VA, DiNardo C, Konopleva M. Venetoclax-based therapies for acute myeloid leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2019 Jun;32(2):145–153. doi: 10.1016/j.beha.2019.05.008. Epub 2019 May 24. PMID: 31203996; PMID: PMC6581210.
12. Pratz KW, Jonas BA, Pullarkat V, et al. Measurable Residual Disease Response and Prognosis in Treatment-Naïve Acute Myeloid Leukemia With Venetoclax and Azacitidine. *J Clin Oncol*. 2022;40(8):855–865. doi:10.1200/JCO.21.01546
13. Garciaz S, Hospital MA, Alary AS, et al. Azacitidine Plus Venetoclax for the Treatment of Relapsed and Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia Patients. *Cancers (Basel)*. 2022;14(8):2025. Published 2022 Apr 16. doi:10.3390/cancers14082025

ЛЕЧЕНИЕ С ВТК ИНХИБИТОРИ - ФИКСИРАНА ИЛИ ПРОДЪЛЖИТЕЛНА ВЪВ ВРЕМЕТО ТЕРАПИЯ

В. Гръкланов¹, Г. Райчева², Е. Спасов¹

Медицински Университет – Медицински Факултет, Пловдив
1 – Първа катедра по вътрешни болести,
2 – Катедра по клинична онкология,
Университетска Болница „Св.Георги“ – ЕАД, Пловдив

TREATMENT WITH BTK INHIBITORS - FIXED OR CONTINUOUS THERAPY

V. Graklanov¹, G. Raycheva², E. Spasov¹

Medical University – Medical Faculty, Plovdiv
1 – First Department of Internal Diseases,
2 – Department of Clinical Oncology
University Hospital „Sv.Georgi“ – EAD, Plovdiv

Резюме. Използването на Bruton тирозинкиназните инхибитори в рутинната клинична практика за лечение на пациентите с хронична лимфоцитна левкемия (ХЛЛ) модифицира ограничената във времето имунохимиотерапия, въвеждайки концепцията за продължително във времето лечение (до прогресия или токсичност). С натрупването на огромно количество клинични данни от това терапевтично поведение постави и нови въпроси свързани с оптималният избор за първа линия терапия при пациентите с новодиагностицирана ХЛЛ. Остава предизвикателство да се намери верният отговор на можеби един от най-важните въпроси: ограничена или продължителна във времето първа линия терапия при пациентите с ХЛЛ.

Ключови думи: хронична лимфоцитна левкемия, фиксирана таргетна терапия, просължителна таргетна терапия, ВТК инхибитори, ибрутиниб

Abstract. The use of Bruton tyrosine kinase inhibitors in routine clinical practice for the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia modified the postulated by immunochemotherapy fixed time treatment, introducing the concept of continuous therapy, until progression or toxicity. With the accumulation of a huge amount of data, including from routine clinical practice, this concept, despite its undeniable success, also raised new questions related to the optimal choice of first-line therapy in patients with newlydiagnosed chronic lymphocytic leukemia. It still remains a challenge to find the right answer to perhaps one of the most important questions, fixed time or continuous therapy first-line therapy in patients with CLL.

Key words: chronic lymphocytic leukemia, fixed target therapy, continuous target therapy, BTK inhibitors, ibrutinib

ВЪВЕДЕНИЕ

Откриването на таргетните инхибитори, в това число Bruton тирозинкиназните инхибитори (ВТКи) доведе до съществена промяна в терапевтичният подход при пациентите с хронична лимфоцитна левкемия (ХЛЛ). В последната декада се натрупа голям обем данни, както от международните рандомизирани клинични проучвания, така и от реалната клинична практика за приложението на ВТК инхибиторите. Данните несъмнено установяват превъзходство на ВТКи както по отношение на преживяемостта без прогресия (СПП), така и по отношение на общата преживяемост (ОП) в сравнение с имунохимиотерапията при лечение като първа линия за пациенти с ХЛЛ независимо от общото им състояние. (1,2,3) Тези данни наложиха широко използване на ВТК инхибиторите

с тази индикация, което измести концепцията за ограниченото във времето лечение, характерно за имунохимиотерапията със продължителното във времето лечение (до прогресия или токсичност). Появиха се нови предизвикателства свързани с продължителното във времето лечение, като придържане към терапията, качество на живот, нежелани лекарствени събития както и финансов товар за задрвноосигурителните системи въпреки неоспоримите ползи от лечението. Така въпреки сериозният напредък в лечението на ХЛЛ все още някои ключови въпроса остават без строго дефиниран отговор, в това число:

1. Ролята на имунохимиотерапията като първа линия лечение;
2. Ролята на генетичните отклонения при избора на таргетна терапия;

3. Комбиниране на таргетната терапия с моноклоналните антитела или триплет терапия;
4. Кой ВТК инхибитор е най-подходящ като първа линия терапия;
5. Ограничено или продължително във времето лечение.

В тази статия ще представим данните за ефикасност и безопасност на ибрутиниб при пациентите с ХЛЛ както при продължително, така и при ограничено във времето лечение на първа линия терапия.

ПРОДЪЛЖИТЕЛНО ВЪВ ВРЕМЕТО ЛЕЧЕНИЕ С ИБРУТИНИБ

RESONATE-2 клинично проучване

Фаза 3 рандомизирано клинично проучване RESONATE-2 сравнява ефикасността и безопасността на две перорални лекарствени средства, ибрутиниб и хлорамбуцил, при новодиагностицирани възрастни пациенти с ХЛЛ или дребноклетъчен лимфоцитен лимфом. В проучването са били включени 269 пациенти: 133 от пациентите са започнали лечение с хлорамбуцил и 136 пациенти на лечение с ибрутиниб. Пациентите са получавали 420 mg ибрутиниб веднъж дневно до прогресия на болестта или до неприемлива токсичност или до 12 цикъла с хлорамбуцил 0,5-0,8 mg/kg на дни 1 и 15 от всеки 28-дневен цикъл. Средната възраст на пациентите е била 73 години. В проучването са включени пациенти с ECOG статус 2 или по-малък и без 17p делеция [del(17p)]. С високорискова ХЛЛ, дефинирана според генетичните отклонения (TP53 мутация, del[11q] и/или немутирали IGHV) са били 53% от всички пациенти. При средно проследяване от 88,5 месеца (диапазон 0,1-96,6) 42% пациентите лекувани с ибрутиниб, са продължили лечението като първа линия терапия. В рамото на пациенти, лекувани с хлорамбуцил само един продължава да бъде проследяван за СПП като 59% от тях впоследствие са преминали на ибрутиниб като втора линия лечение. При проследяване от осем години в рамото с ибрутиниб не е била достигната средната СПП за разлика от рамото с хлорамбуцил където е регистрирана СПП от 15 месеца. На 7-та година, 59% от пациентите лекувани с ибрутиниб са живи и без прогресия срещу само 9% от пациентите, лекувани с хлорамбуцил. В рамото с ибрутиниб е била регистрирана прогресия при 23% от пациентите, 13% са прогресирали по време на активното лечение, а останалите 10% са прогресирали след спиране на лечението с ибрутиниб. Тази значителна полза, свързана с СПП и ОП се отнася и за пациентите с TP53 мутация, del(11q) и/или немутирали IGHV. Ибрутиниб е довел до намаляване с 97% на риска от прогресия или смърт при пациентите с del(11q) и с 81% намаляване за пациентите без del(11q) спрямо пациентите със сходни характеристики, но лекувани с хлорамбуцил. Медианата на ОП не е достигната

при пациентите, лекувани с ибрутиниб. Най-честите нежелани реакции от всякаква степен в рамото с ибрутиниб са били диария (50%), кашлица (37%) и умора (37%). Като цяло, степен 3 предсърдно мъждене е било наблюдавано при само 6% от пациентите и артериална хипертония степен 3 при 12% от пациентите. Кръвоизлив степен 3 е бил регистриран при 7% от пациентите като двама от 10-те пациенти (20%) с тежък кръвоизлив от степен 3 са приемали съпътстваща антикоагулантна терапия. При 31 (23%) пациенти се е наложила редукция на дозата по време на проучването поради нежелани лекарствени събития като при 28 от тези пациенти (90%) е отчетено подобрение на нежеланите лекарствени събития след намаляване на дозата. (4)

ОГРАНИЧЕНО ВЪВ ВРЕМЕТО ЛЕЧЕНИЕ С ИБРУТИНИБ

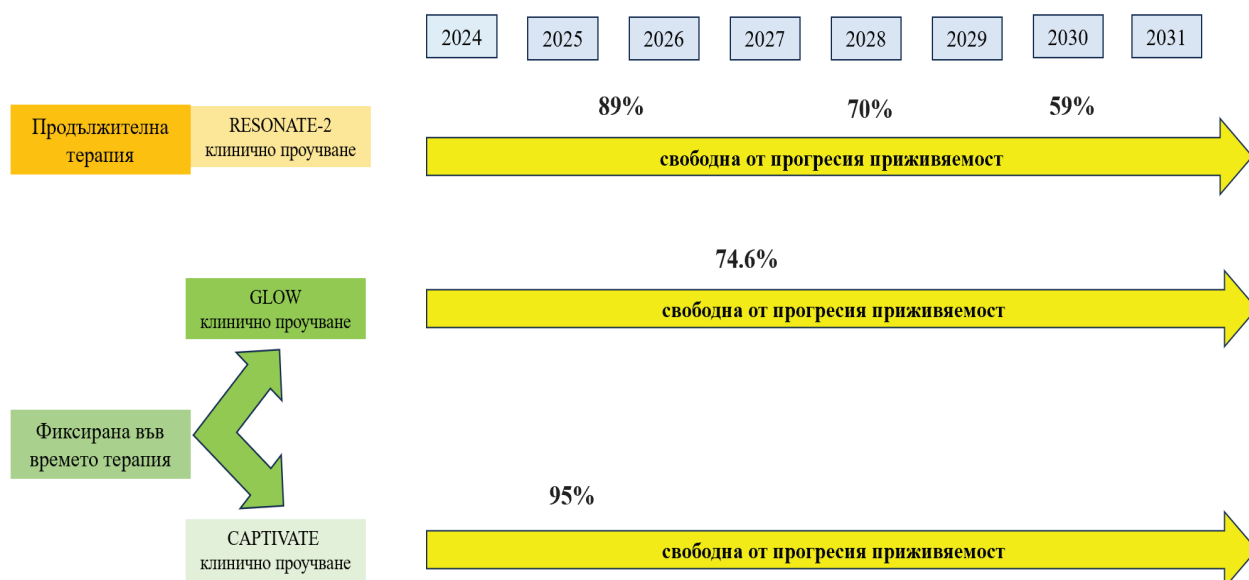
GLOW клинично проучване

Клиничното проучване GLOW е рандомизирано, многоцентрово, фаза 3, проведено в 67 болнични центъра в 14 държави, в периода 4 май 2018 - 5 април 2019 година. В проучването са били включени 211 пациенти на възраст ≥ 65 или 18 до 64 години с новодиагностицирана ХЛЛ, CIRS (Cumulative Illness Rating Scale) score ≥ 6 или креатининов клирънс под 70 ml/min или и двете. Пациентите са били разпределени на случаен принцип (1:1) и стратифицирани според мутационния статус на IGHV и наличието на del11q в две рамена. Едното рамо със 106 пациенти е било лекувано с комбинацията ибрутиниб-венетоклак (три цикъла на монотерапия с ибрутиниб 420 mg/дневно, последвано от 12 цикъла ибрутиниб плюс венетоклак 400 mg/дневно). Другото рамо от 105 пациенти е било лекувано с комбинацията хлорамбуцил-обинутузамаб (шест цикъла на хлорамбуцил 0,5 mg/kg на ден 1 и 15 от всеки цикъл и обинутузамаб, 1000 mg, интравенозно, на ден 1, 8 и 15 от цикъл 1 и ден 1 от цикли 2 до 6). При медиана на проследяване от 46 месеца, СПП е била по-добра за групата на ибрутиниб-венетоклак. Проучването съобщава за 42-месечна СПП от 74,6% за рамото ибрутиниб-венетоклак и 24,8% за пациентите, лекувани с комбинацията хлорамбуцил-обинутузамаб. В групата пациенти, лекувани с ибрутиниб-венетоклак се съобщава за 1 смъртен случай свързан с лечението (сърдечна недостатъчност, пневмония и дисфункция на синусовия възел). В групата пациенти лекувани с хлорамбуцил-обинутузамаб също е докладван 1 смъртен случай, свързан с терапията (пневмония). Докладвани са и 15 смъртни случая в групата на ибрутиниб-венетоклак (от които 3 се дължат на инфекции след лечение) и 30 смъртни случая в групата на хлорамбуцил-обинутузамаб (от които 10 се дължат на инфекции след лечение). При един пациент, лекуван с хлорамбуцил-обинутузамаб е докладвано развитие на миелодиспластичен синдром.(5)

CAPTIVATE клинично проучване

Клиничното проучване CAPTIVATE е многоцентрово, международно, фаза 2 проучване, в което са били включени общо 159 пациенти, 136 пациенти без del(17p). Пациентите са били на възраст между 18 и 70 години, с новодиагностицирана ХЛЛ, ECOG PS до 2 и адекватна чернодробна, бъбречна и костномозъчна функция. Пациентите са били лекувани с комбинацията ибрутиниб-венетоклак (три цикъла на монотерапия с ибрутиниб 420 мг/дневно, последвано от 12 цикъла на ибрутиниб плюс венетоклак 400 мг/дневно първоначално темпериране на дозировката на венетоклакса). От всички включени пациенти 92% са завършили планирания обем терапия. Преди започване на лечението 21% от пациентите са били в категорията с висок туморен товар и риск от синдрома на туморният разпад (TLS) като след първоначалното лечение с ибрутиниб само 1% от пациентите са

останали в тази високорискова категория. Общо за всички пациенти, включени в проучването е постигнат пълен отговор от 55%, с 56% на постигнат пълен отговор за пациентите без del(17p) делеция. При средно проследяване от 27,9 месеца проучването съобщава за 24 месечна СПП при 95% за всички пациенти, 96% за тези без del(17p) и 84% за пациентите с del(17p)/ TP53мутация. Докладваната СПП оценена според мутационният статус на IGHV е била 93% за пациенти с немутирани IGHV срещу 97% за пациенти с мутирани IGHV. Общата преживяемост, оценена на 24-ия месец е била 98% за всички пациенти включени в проучването, с ОП от 98% при пациентите без del(17p) и 96% за пациентите с del(17p)/ TP53мутация. Най-честите нежелани лекарствени събития от степен ≥ 3 са били неутропения и хипертония, регистрирани при съответно 33% и 6% от пациентите. (6)



Фигура 1. Вероятност за СПП съгласно клиничните проучвания при пациенти с ХЛЛ започнали лечение през 2024г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Напредването на познанията, свързани с биологията на малигнените лимфопролиферативни заболявания и в частност на ХЛЛ доведоха до въвеждане в рутинната клинична практика на спектър от нови таргетни инхибитори и моноклонални антитела. Като хематологична общност в днешно време сме изправени пред доста предизвикателства при избора на първа линия терапия за всеки конкретен пациент с ХЛЛ. Изборът на оптималната терапия зависи от множество фактори като ефикасност, поносимост, комплайнс към избраната терапия в контекста на стратифицирането на риска съгласно генетичните изследвания, съпътстващи заболявания на пациента, предпочитанието на па-

циента както и целите на лечението. ВТК инхибиторите са една доказано успешна възможност при избора на лечение както при новодиагностицирани, така и пациенти с реласпирала/рефрактерна ХЛЛ, предлагайки както продължителна, така и ограничена във времето терапевтична възможност.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Васко Гръкланов дм
УМБАЛ "Св.Георги" гр.Пловдив, МУ –Пловдив
Клиника по клинична хематология
mail: dr.grklanov@yahoo.com тел: +359895716528

Corresponding address:

Dr. Vasko Grklanov
University Hospital for Active Treatment "St. George"
Clinic for Clinical Hematology
Medical University – Plovdiv
4000 Plovdiv
Tel: +359 895 716 528
E-mail: dr.grklanov@yahoo.com

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Hillmen P, Pitchford A, Bloor A, Broom A, Young M, Kennedy B, et al. Ibrutinib Plus Rituximab Is Superior to FCR in Previously Untreated CLL: Results of the Phase III NCRF FLAIR Trial. *Blood*. 2021;138(Supplement 1):642–642
2. O'Brien S, Furman RR, Coutre SE, et al. Ibrutinib as initial therapy for elderly patients with chronic lymphocytic leukaemia or small lymphocytic lymphoma: an open-label, multicentre, phase 1b/2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(1):48–58. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70513-8
3. Janssens A, Berneman ZN, Offner F, et al. Effectiveness and Safety of Ibrutinib for Chronic Lymphocytic Leukemia in Routine Clinical Practice: 3-Year Follow-up of the Belgian Ibrutinib Real-World Data (BiRD) Study. *Clin Hematol Int* 4, 133–143 (2022). <https://doi.org/10.1007/s44228-022-00020-8/>
4. Barr PM, Owen C, Robak T, Tedeschi A, Bairey O, Burger JA, Hillmen P, Coutre SE, Dearden C, Grosicki S, McCarthy H, Li JY, Offner F, Moreno C, Zhou C, Hsu E, Szoke A, Kipps TJ, Ghia P. Up to 8-year follow-up from RESONATE-2: first-line ibrutinib treatment for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood Adv*. 2022 Jun 14;6(11):3440–3450. doi: 10.1182/bloodadvances.2021006434. PMID: 35377947; PMCID: PMC9198904
5. Niemann CU, Munir T, Moreno C, Owen C, Follows GA, Benjamini O, Janssens A, Levin MD, Robak T, Simkovic M, Voloshin S, Vorobyev V, Yagci M, Ysebaert L, Qi K, Qi Q, Sinet P, Parisi L, Srinivasan S, Schuier N, Baeten K, Howes A, Caces DB, Kater AP. Fixed-duration ibrutinib-venetoclax versus chlorambucil-obinutuzumab in previously untreated chronic lymphocytic leukaemia (GLOW): 4-year follow-up from a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2023 Dec;24(12):1423–1433. doi: 10.1016/S1470-2045(23)00452-7. Epub 2023 Nov 6. PMID: 37944541
6. Tam CS, Allan JN, Siddiqi T, Kipps TJ, Jacobs R, Opat S, Barr PM, Tedeschi A, Trentin L, Bannerji R, Jackson S, Kuss BJ, Moreno C, Szafer-Glusman E, Russell K, Zhou C, Ni-nomoto J, Dean JP, Wierda WG, Ghia P. Fixed-duration ibrutinib plus venetoclax for first-line treatment of CLL: primary analysis of the CAPTIVATE FD cohort. *Blood*. 2022 Jun 2;139(22):3278–3289. doi: 10.1182/blood.2021014488. PMID: 35196370; PMCID: PMC11022982

ABO И RH КРЪВНОГРУПОВИ СИСТЕМИ ПРИ ОСТРА ЛЕВКЕМИЯ: ЗАЩО, КАКВО И КАК – РЕТРОСПЕКТИВЕН ЕДНОЦЕНТРОВ АНАЛИЗ

Й. Лазарова¹, Е. Алексов², К. Милчева²

1 – Лаборатория по трансфузионна хематология,

2 – Клиника по хематология

Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания – СБАЛХЗ ЕАД

ABO AND RH BLOOD GROUP SYSTEMS IN ACUTE LEUKEMIA: WHY, WHAT AND HOW – RETROSPECTIVE SINGLE CENTER ANALYSIS

Y. Lazarova¹, E. Aleksov², K. Milcheva²

1 – Laboratory of Transfusion Hematology, 2 – Clinic of Hematology,

Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases – SHATHD, Sofia, Bulgaria

Резюме. Понастоящем има 45 кръвногрупови системи, които съдържат 362 кръвногрупови антигена. Генетично системите се детерминират от 50 гена. Официалният регистър на всички кръвни групи се поддържа от работната група по имуногенетика на еритроцити и терминология на кръвни групи към международното дружество по кръвопреливане (WP ISBT). Основна клинична значимост в трансфузионната практика има както ABO, така и Rh кръвногруповата система, която е свързана с процеса на алоимунизация и съответна честота на специфичност на образуваните ало-анти Rh антитела. При редица проучвания е установена най-висока честота на кръвна група А при остра левкемия, но не можем да го използваме като епидемиологичен маркер. Освен това при остра миелоидна левкемия делецията на региона 9q23-31 може да се разшири до 9q34, което да доведе до отслабена експресия на А или В антиген, тъй като ABO гена е локализиран в 9q34. Причината е, че при някои случаи епигенетичната промяна на ABO гена и подтискането му се дължат на левкемичните клетки. Отслабената експресия на ABO антигени може да е резултат от загуба на алел или хиперметиране на ABO промоторен регион. Свързана ли е честотата на вида кръвна група при левкемия с популационната честота, има ли връзка между определен Rh фенотип и вида левкемия, а също как това влияе на трансфузионната практика – все въпроси, на които трудно може да дадем абсолютно категоричен отговор.

Ключови думи: ABO кръвна група, Rh фенотип, остра левкемия

Abstract. There are currently 45 blood group systems that contain 362 blood group antigens. Genetically, systems are determined by 50 genes. The official registry of all blood groups is maintained by the Working Group on red cells Immunogenetics and Blood Group Terminology of the International Society of Blood Transfusion (WP ISBT). Both the ABO and Rh blood group systems are of major clinical significance in transfusion practice, which is associated with the process of alloimmunization and the corresponding frequency of specificity of the allo-anti Rh antibodies formed. A number of studies have found the highest incidence of blood group A in acute leukemia, but we cannot use it as an epidemiological marker. Furthermore, in acute myeloid leukemia, the deletion of the 9q23-31 region can extend to 9q34, resulting in the loss of A or B antigen expression, since the ABO gene is located in 9q34. The reason is that in some cases the epigenetic change of the ABO gene and its suppression is due to the leukemia cells. The decreased expression of ABO antigens may result from loss of an allele or hypermethylation of the ABO promoter region. Is the frequency of the type of blood group in leukemia related to the population frequency, is there a connection between a certain Rh phenotype and the type of leukemia, and also how does this affect the transfusion practice - all questions that are hard to answer in an exact categorical way.

Key words: ABO blood group, Rh phenotype, Acute leukemia

ВЪВЕДЕНИЕ

Експресията на А и В антигени при левкемия може да е намалена от 17% до 37% от случаите в сравнение със здрави лица. Проучвания доказват по-висока честота на кръвна група А при ОМЛ, а на кръвна група О при ОЛЛ. Гарба и др. (2022)

установяват, че ABO антигенната честота при ОМЛ варира в сравнение с честотата при здрави хора без левкемия. Awayi Ghazy Abdulkareem et al. (2020) в проучване при деца доказват, че левкемията няма съществена връзка с кръвна група, възраст, пол или местоживееене.[6] Проучване на Şahin D, Başçı S, Temizel Taşçı A, et al.- Анкара не

открива връзка между ОМЛ и ABO/Rh кръвногруппови системи, като за изясняване на асоциацията левкемия – кръвна група са необходими допълнителни проучвания върху голям брой пациенти. [7] А и В олигозахаридните антигени не са директен продукт на генното действие, а се произвеждат от прекурсора – Н субстанция с помощта на ензими гликозилтрансферази. Идентифицирани са мутациите, които определят експресията на антигена чрез единичен алел. В последните години, с ерата на молекулярната генетика и технологията за секвениране от следващо поколение, се разгаждат механизми на биологични явления, свързани с ABO полиморфизма. Тази информация чертае асоциацията на варианти в ABO гена със заболявания и параметри чрез провеждане на проучвания за асоциация в целия геном.

Клиничната значимост на Rh кръвногруппова система се определя от имуногенността на тези антигени, процеса на алоимунизация и нуждите на конкретния пациент от трансфузионна терапия. Честотата на съответните фенотипи влияе на възможността за съвременна и в достатъчен обем поддържаща трансфузионна терапия при лечението на остра левкемия.

ЦЕЛ

Да се анализира честотата на ABO/D, Rh фенотип при остра левкемия за периода 2019–2022 г.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Анализирани са 212 пациенти (119 мъже, 93 жени, 18–86 г.) с ОМЛ и ОЛЛ. Rh фенотип е изследван при 148/212(69.8%) към момента на диагнозата. Разпределението на пациентите е по диагноза и ABO/Rh фенотип. Имунохематологичната диагностика включва ABO/D и Rh фенотипизиране с моноклонални тест-реагенти – в мануална или колонноаглютинационна техника.

РЕЗУЛТАТИ

От общо 212 пациенти (Фиг.1): 150(70.8%) са с ОМЛ, 62 (29.2%)–с ОЛЛ, като с В-клетъчен фенотип–42/62 (67.7%), с Т-клетъчен–19/62 (30.6%), с В/Т клетъчен фенотип–1/62 (1.6%).

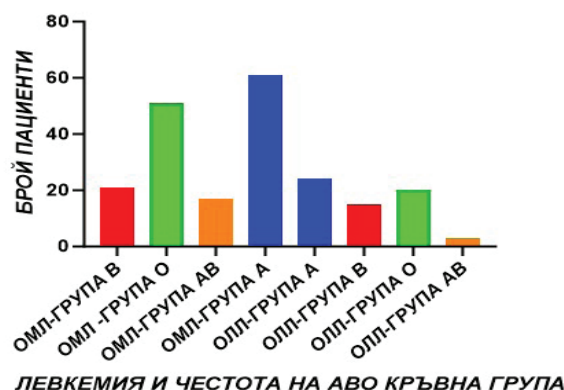


Фигура №1. Разпределение на пациентите по пол и диагноза

Честотата на установените ABO/D кръвни групи е следната (Табл.1 и Фиг.2, 3): група А–в 85/212 (40.1%), група В–36/212 (17%), група О–71/212(33.4%), група АВ–20/212 (9.4%), Rh D (-) отрицателните пациенти са 36/212 (16.98%). Разпределението по диагнози е: при ОМЛ–група А е при 61/150 (40.7%), група В–21/150 (14%), група О–51/150 (34%), група АВ само при 17/150 (11.3%); при ОЛЛ–група А са 24/62 (38.7%), група В–15/62 (24.2%), група О–20/62 (32.2%), група АВ са само 3/62 (4.8%). Rh фенотип е изследван при: 100/150 (67.6%) ОМЛ и 48/62 (77.4%) ОЛЛ.

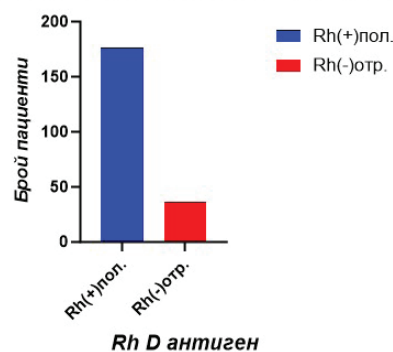
КРЪВНА ГРУПА ABO	n=212	ОМЛ (n=150)	ОЛЛ (n=62)
A	85 (40.1%)	61 (40,7%)	24 (38,7%)
B	36 (17%)	21 (14%)	15 (24,2%)
O	71 (33.4%)	51 (34%)	20 (32,2%)
AB	20 (9.4%)	17 (11.3%)	3 (4,8%)

Таблица №1. Честота на ABO кръвна група



Фигура №2. Левкемия и ABO кръвногруппова система

Rh D положителни и отрицателни пациенти (n=212)



Фигура №3. Rh D (+) положителни и Rh D (-) отрицателни пациенти с ОЛ

Установената честота на Rh фенотипи е следната (Фиг.4):

- CCDee- при 33/148 пациенти (22.3%),
- CcDee–50/148 (33.8%),
- CcDEE–17/148 (11.5%),
- ccDEE/ccDEE–12/148 (8.1%).

Най-висока е честотата на кръвна група А и в двете групи на ОЛ, като :

- при ОМЛ–в 60/150 (40%) от пациентите,

- при ОЛЛ–в 24/62 (38.7%).

Честотата на установения Rh фенотип, разпределена по диагнози е следната:

- при ОМЛ: CcDee (който е и най-често срещания в популацията) е установен при 38/100 (38%),
- при ОЛЛ: CCDee се доказва при 15/48 (31.3%), като при В-ОЛЛ – в 10/15 болни (66.7%), като кръвна група В са 5/10 пациенти (50%).

Rh фенотип	n=148	В-ОЛЛ (n=30)	Т-ОЛЛ (n=18)	ОМЛ (n=100)
Rh (-) отрицателни	36(24,3%)	5(16,7%)	5(27,8%)	26 (26%)
CCDee	33 (22,2%)	10 (33,3%)	5(27,8%)	18 (18%)
CcDee	50 (33,8%)	8 (26,7%)	4 (22,2%)	38 (38%)
CcDEE	17 (11,5%)	5 (16,7%)	2 (11,1%)	10 (10%)
ccDEE/ccDEE	12 (8,1%)	2 (6,7%)	2 (11,1%)	8 (8%)

Таблица №2. Честота на Rh фенотип при ОМЛ и ОЛЛ

По данни от болничната информационна система относно цитогенетичното изследване: при 21 от пациентите с ОЛ и Rh фенотип CCDee е установено наличие на хромозомни аберации в 14/21 пациенти, като 9/13 са при ОМЛ и 5/8 при ОЛЛ, а 4/5 са при В-ОЛЛ (Табл. 3).

ЦИТОГЕНЕТИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ (n=21)–CCDee	ОМЛ (n=13)	В-ОЛЛ (n=5)	Т-ОЛЛ (n=3)
С ХРОМОЗОМНИ АБЕРАЦИИ	9 (69,2%)	4 (80%)	1 (33,3%)
БЕЗ ХРОМОЗОМНИ АБЕРАЦИИ	4 (30,8%)	1 (20%)	2 (66,7%)

Таблица №3. Честота на хромозомни аберации

ОБСЪЖДАНЕ

Данните от последно популационно проучване за честотата на АВО кръвни групи при българското население са от 1977 г. (Н. Дойчинова и сътр.).

По данни на НЦТХ: честотата на разпределение на АВО/D кръвнотрупови системи сред кръводарителите за страната през 2022 г. е следната (Табл. 4):

ABO	общ брой кръводарители	общ брой кръводарявания	%	от тях Rh:	брой дарявания	%
A	54 731	68 192	41,8%	(+)пол.	59 689	41,9%
				(-)отр.	8 503	41,1%
B	26 369	26 697	16,4%	(+)пол.	23 395	16,4%
				(-)отр.	3 302	15,9%
AB	8 512	13 061	8,0%	(+)пол.	11 356	8,0%
				(-)отр.	1 705	8,2%
O	37 087	55 161	33,8%	(+)пол.	47 959	33,7%
				(-)отр.	7 202	34,8%
Общо	126 699	163 111	100,0%	(+)пол.	142 399	100,0%
				(-)отр.	20 712	100,0%

Таблица №4. Честота на АВО и Rh D антигени при кръводарителите в страната за 2022г.

Още през 1965 г. Robert Shirley и R. G. Desai (Stanford University) говорят за връзката между ABO системата и левкемия. Честотата на кръвна група при ОЛ зависи от етнос, раса, популационна честота на разпределение на кръвните групи. Сама по себе си кръвната група трудно би могла да се използва като маркер за заболяването, но в асоциация с определен Rh фенотип е с особена

клинична значимост за трансфузионната терапия при ОЛ относно възможности и алтернативи. Анализите за връзка, прогностични фактори между ABO/Rh и ОЛ продължават.

Rh кръвногруппова система е най-полиморфната система, като включва над 50 антигена (WP ISBT-Табл.5):

Table of blood group systems v11.2 31-JUL-2023

No.	Systemname	System symbol	Genename(s)*	LRG	Number of antigens	Chromosomal location	CD numbers
001	ABO	ABO	ABO	792	4	9q34.2	
002	MNS	MNS	GYPA, GYPB, (GYPE)	793; 794	50	4q31.21	CD235a CD235b
003	P1PK	P1PK	A4GALT	795	3	22q13.2	CD77
004	Rh	RH	RHD, RHCE	796; 797	56	1p36.11	CD240
005	Lutheran	LU	BCAM	798	28	19q13.2	CD239
006	Kell	KEL	KEL	799	38	7q33	CD238
007	Lewis	LE	FUT3	800	6	19p13.3	
008	Duffy	FY	ACKR1	801	5	1q21-q22	CD234
009	Kidd	JK	SLC14A1	802	3	18q11-q12	
010	Diego	DI	SLC4A1	803	23	17q21.31	CD233
011	Yt	YT	ACHE	804	6	7q22	
012	Xg	XG	XG, CD99	805; 1023	2	Xp22.32	CD99+
013	Scianna	SC	ERMAP	806	9	1p34.2	
014	Dombrock	DO	ART4	807	10	12p13-p12	CD297
015	Colton	CO	AQP1	808	4	7p14	
016	Landsteiner-Wiener	LW	ICAM4	809	4	19p13.2	CD242
017	Chido/Rodgers	CH/RG	C4A, C4B	137; 138	9	6p21.3	

Page 1 of 3

Таблица №5. Кръвногруппови системи – брой антигени: WP ISBT 2023.

Протеините от системата Rh, като RhAG (Rh-асоцииран гликопротеин) се кодира от RHAG на хромозома 6p11-p21.1, докато RhCE и Rh D протеини се кодират от RHCE и RHD, които са на хромозома 1p36. Различните варианти на Rh фенотип възникват чрез пренареждане на тандемно подредените RHCE и/или RHD; точкова(и) мутация(и), в който и да е ген, с последваща загуба на епитопи и/или експресия на антиген с ниска честота на разпространение; безсмислени мутации и делеция на нуклеотиди.

ЗАЩО АВО И RH КРЪВНОГРУПОВИ СИСТЕМИ ПРИ ЛЕВКЕМИЯ?

Отслабената експресия на А или В антиген още при кръвногрупповото типизиране може да е маркер за диагноза остра левкемия, като нормалната експресия се възстановява с лечението и при ремисия на заболяването.

При пациенти с остра или хронична миелоидна левкемия или миелофиброза може да има 2 популации от червени кръвни клетки с различен Rh тип. Загубата на Rh антигени е резултат на хромозомни аберации. Още през 1998 г. [12] Baya CHÉrif-Zahar et al. докладват клиничен случай на D-положителна пациентка с ХМЛ, която става D-отрицателна за период от 3 години: 1991-1994 г. В периода е проведена мастектомия и лъчетерапия за рак на гърда. Диагнозата ХМЛ е поставена през 1994 г., когато вече пациентката се типизира като Rh D отрицателна. Открити са: делеция на единична база в екзон 4 на RHD, Bcr-Abl транскрипти, типични за Ph1 хромозома. От молекулярния анализ са установили, че пациентката е хетерозиготна в RH локуса, носещ един хаплоген, в който RHD генът показва единична нуклеотидна делеция (G600). Това е довело до преждевременен стоп кодон, и нормален RHCE ген (алел Ce). Вторият хаплоген е съдържал само RHCE гена (алел ce), който е нормален. От допълнителен анализ, който е извър-

шен върху левкоцити, пречистени неутрофили, EBV-лимфобластна клетъчна линия и култивирани еритробласти са установили, че G600 делецията е ограничена до миелоидната линия. Предполагали са като причина соматична мутация, която вероятно се е появила в общата за миелоидния ред стволова клетка.

ABO и Rh кръвнотрупови системи са на първо място по клинична значимост в трансфузионната практика, което е свързано както с прилагането на алтернатива при липса на ABO идентична кръв, така и с клиничната значимост на Rh алоимунизация при левкемия и прилагане на алогенна стволотоклетъчна трансплантация като метод на лечение.

КАКВО Е ТОЧНО ЗНАЧЕНИЕТО НА ABO И RH СИСТЕМИТЕ В ТРАНСФУЗИОННАТА ТЕРАПИЯ НА ЕДНА ЛЕВКЕМИЯ?

При липсата на ABO и Rh идентична, но съвместима кръв и неотложна нужда от поддържаща трансфузионна терапия възниква въпроса – да се прелива ABO идентична с риск от алоимунизация към Rh антигени или ABO неидентична, но съпадаща с Rh фенотипа на пациента без риск от образуване на ало-анти Rh антитела? Освен това една предшестваща алоимунизация при последваща алогенна стволотоклетъчна трансплантация е свързана с риска от посттрансплантационна хемолитична анемия в случай, че донора притежава антигена, към който е насочено антитялото. Превенцията на алоимунизацията е от съществено значение, защото не при всеки пациент коморбидитета позволява миелоаблативен режим на кондициониране при алогенна трансплантация, за да се избегне развитието на посттрансплантационна алоимунна хемолитична анемия [13]. Трудно е да се предвиди кой пациент е с повишен риск от алоимунизация и кой не, а подобен експеримент е недопустим при онкохематологични заболявания, чието лечение на основното заболяване е трансплантация.

КАК И КАКВИ АЛТЕРНАТИВИ НА ТРАНСФУЗИОННА ТЕРАПИЯ СА ПРИЛОЖИМИ?

Как да се справим в ситуация на недостиг на изотруповна кръв и каква да е нашата трансфузионна стратегия са основни въпроси при неотложна необходимост от поддържаща трансфузионна терапия. Трансфузионният подход с ABO неидентична кръв, но съвместима и идентична с Rh фенотипа на пациента, е гаранция за минимизиране на риска от алоимунизация и посттрансплантационна алоимунна хемолитична анемия. Популационната

честота на ABO кръвна група и съответните фенотипи сред кръводарителите не винаги могат да отговорят на трансфузионните нужди на хематологично болните. Изборът на ясно дефинирана и основана на доказателства алтернативна трансфузионна стратегия е в основата на мениджмънта на хемолитични усложнения при лечение на остра левкемия. Практическите проблеми в трансфузионната практика, свързани с невъзможността за напълно идентична кръв в определени ситуации, налагат използването на алтернативен трансфузионен подход, без който лечението на остра левкемия е невъзможно. Популационната честота на фенотипи сред кръводарителите не винаги ще отговори на трансфузионната нужда от определен Rh фенотип при съответния пациент с левкемия, а редките фенотипи често налагат използването на алтернатива с допустима неидентичност.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Честотата на ABO системата при ОЛ е свързана с популационната честота. При Rh фенотипа възниква въпроса за асоциация с типа ОЛЛ – дали е резултат на възможна връзка с цитогенетичното изследване или е просто случайност? Отговорът се нуждае от допълнителни проучвания върху по-голям брой пациенти, но е предизвикателство за резултата.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Йонка Лазарова

*Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания, София
Лаборатория по трансфузионна хематология
Бул. Климент Охридски № 1А, София, п.к. 1797
E-mail: y.lazarova@hematology.bg*

Address for correspondence:

Dr Yonka Lazarova

*Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases, Sofia
Laboratory of transfusion hematology
1 A Kliment Ohridski Blvd ,1797 Sofia, Bulgaria
E-mail: y.lazarova@hematology.bg*

БИБЛИОГРАФИЯ

1. The International Society of Blood Transfusion (ISBT) Working Party for Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology (ISBT WP); <https://www.isbtweb.org/resource/tableofbloodgroupsystems.html>
2. KOMINATO ET AL. Human ABO gene transcriptional regulation. TRANSFUSION 2020;60:860–869
3. Fumiichiro Yamamoto. Molecular genetics and genomics of the ABO blood group

4. Elzein H O (March 24, 2024) Association of Leukemia With ABO Blood Group Distribution and Discrepancy: A Review Article. *Cureus* 16(3): e56812. doi:10.7759/cureus.56812
5. Alavi S, Ashraf H, Rashidi A, Hosseini N, Abouzari M, Naderifar M. Distribution of ABO blood groups in childhood acute leukemia. *Pediatr Hematol Oncol*. 2006; 1:611–617.
6. Abdulkareem AG, Ali NO, Mahmood CA, Ome WD, Ahmad HM, Ali AK. Socio-demographic and blood group findings in children with acute leukemia: A single cancer center experience. *Govari Zankoi Silemani A Zaniste Sirustiye*. 2020; 22:17–24.
7. Şahin D, Başçı S, Temizel Taşçı A, et al. The relationship between blood groups and acute myeloid leukemia. *J Health Sci Med* 2020; 3(3): 221-224
8. El-Zine MAY, Amer Ali MA and Al-Shamahy HA. The Association of ABO Blood Types with Childhood Leukemia. *Arch Clin Case Stud*. 3(4): 2023. ACCS.MS.ID.000566. DOI: 10.33552/ACCS.2023.03.000566.
9. Şahin D, Başçı S, Temizel Taşçı A, et al. The relationship between blood groups and acute myeloid leukemia. *J Health Sci Med* 2020; 3(3): 221-224.
10. M.C.Z. Novaretti et al. ABO genotyping in leukemia patients reveals new ABO variant alleles. *Genetics and Molecular Research* 7 (1): 87-94 (2008)
11. Neil D. Avent and Marion E. Reid. The Rh blood group system: a review. *Blood* (2000) 95 (2): 375–387.
12. Chérif-Zahar B, Bony V, Steffensen R, et al. Shift from Rh-positive to Rh-negative phenotype caused by a somatic mutation within the RHD gene in a patient with chronic myelocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1998; 102: 1263–1270. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1998.00895.x>
13. Lazarova Y., Milcheva K., Aleksov E, Venkov K. Alloimmunization in onco-hematology-managing the risk with a personalized transfusion approach. *Hematology* 2023; issue 3-4/2023, Vol. LXI, 43-48, ISSN 2367-7864. https://bulgarian-hematology.com/wp-content/uploads/2023/11/Hematology2023_3-4_web.pdf

EV11 СВРЪХЕКСПРЕСИЯ В КОМБИНАЦИЯ С ПРЕНАРЕЖДАНЕ НА KMT2A (MLL) ГЕНА ПРИ ПАЦИЕНТ С ОСТРА МИЕЛОИДНА ЛЕВКЕМИЯ – ЕДНО ВСЕ ОЩЕ ТРУДНО ПРЕОДОЛИМО ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВО

К. Венков¹, К. Милчева¹, Е. Алексов², Г. Балаценко³, Г. Михайлов⁴

1 – Отделение по трансплантация на хемопоеитични стволови клетки,

Клиника по хематология – СБАЛХЗ, София

2 – Второ отделение по клинична хематология, Клиника по хематология – СБАЛХЗ, София

3 – Лаборатория по цитогенетика и молекулярна генетика – СБАЛХЗ, София

4 – Клиника по хематология, СБАЛХЗ, София

EV11 OVEREXPRESSION IN COMBINATION WITH KMT2A (MLL) GENE REARRANGEMENTS IN A PATIENT WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA – STILL A TOUGH CHALLENGE

K. Venkov¹, K. Milcheva¹, E. Aleksov², G. Balatzenko³, G. Mihaylov⁴

1 – Stem cell transplantation unit, Hematology clinic – SHATHD, Sofia

2 – Second Department of Hematology clinic – SHATHD, Sofia

3 – Laboratory for cytogenetics and molecular genetics – SHATHD, Sofia

4 – Hematology clinic – SHATHD, Sofia

Резюме. Острата миелоидна левкемия (ОМЛ) е заболяване с неблагоприятна прогноза, дори и в наши дни. Правилното определяне на риска ни помага да вземем точните терапевтични решения. Транслокациите засягащи KMT2A гена, най-често определят високорисков профил на заболяването и ниска преживяемост, а когато при тези пациенти има и доказана EV11 свръхекспресия допълнително се редуцира шанса за благоприятен изход. Представяме пациент с много рядка транслокация засягаща MLL гена – t(11;17)(q23;q21) и съпътстваща EV11 свръхекспресия, при когото е проведено максимално интензивно лечение, включително и алогенна трансплантация на хемопоеитични стволови клетки. Въпреки ремисионния статус на ОМЛ преди трансплантацията, постигането на пълна донорна химера на първия месец и ранното спиране на имunosupresията, на втория месец се появява отново EV11 свръхекспресия, при цитологична ремисия и 100% донорен химеризъм, а на четвъртия месец при пациента настъпва и морфологичен рецидив. Този случай илюстрира, че е необходимо оптимизиране на настоящите лечебни подходи и при възможност добавяне на нови таргетни молекули, за да подобрим преживяемостта на всички болни с ОМЛ и в частност на тези носещи KMT2A пренареждания и EV11 свръхекспресия.

Ключови думи: Остра миелоидна левкемия, MLL пренареждания, EV11 свръхекспресия

Abstract. Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant disease with an unfavorable prognosis, even nowadays. Accurate risk stratification helps us to make precise treatment decisions. A subset of patients bear KMT2A translocations, most of them classified as high-risk aberrations associated with low survival probability. When in these patients we find simultaneous EV11 overexpression, this is accompanied by a further reduction in survival rate. Our case describes a man with a very rare translocation involving the MLL gene – t(11;17)(q23;q21) and simultaneous EV11 overexpression. He received intensive treatment including allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Despite being in complete remission before transplantation, achieving full donor chimerism on the first month after the procedure, and the early discontinuation of immunosuppression, on the second month after transplantation there was again EV11 overexpression. However, the bone marrow smear did not show increased blasts and the chimerism was 100% at the time. Unfortunately on the fourth month after the transplant, morphological relapse occurred. This case clearly shows that we need to optimize current therapeutic approaches and if it is feasible to add new target molecules, in order to improve the survival rates of all patients with AML and specifically of those bearing KMT2A rearrangements and EV11 overexpression.

Key words: Acute myeloid leukemia, MLL rearrangements, EV11 overexpression

ВЪВЕДЕНИЕ

Острата миелоидна левкемия (ОМЛ) е злокачествено хематологично заболяване, характеризиращо се с неконтролирана пролиферация на незрели миелоидни прекурсори (бласти) в костния мозък (КМ) и/или на екстрамедуларни локализации, като при липса на лечение изходът е винаги фатален. На ОМЛ се дължат около 80% от острите левкемии при пациенти над 18 годишна възраст и дори в 21 век заболяването е с изключително неблагоприятна прогноза [1, 2]. В наши дни, на базата на различни рискови стратификационни системи, които прогнозираят риска от релапс, се определя и терапевтичният подход при конкретния болен [3, 4]. ОМЛ с пренареждания засягащи 11q23 локуса, на който се намира KMT2A (преди mixed lineage leukemia, MLL) гена, определят заболяване с изключително неблагоприятни характеристики и попадат във високорисковата група по ELN, с изключение на t(9;11), която е свързана с междинен риск [3, 4]. Наличието на Ecotropic Viral Integration site 1 (EVI1) свръхекспресия (EVI1(+)) при болни с 11q23 аномалии е свързано с допълнително влошена прогноза и редуциран шанс за преживяемост [5]. Настоящият клиничен случай описва пациент с ОМЛ и много рядка транслокация засягаща KMT2A гена, със съпътстваща EVI1(+).

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ

Пациент на 66 години, октомври 2020 г. се оплаква от изразена астеноадинамия с давност от около 2-3 седмици. При профилактични изследвания установена панцитопения – левкоцити – $1.8 \cdot 10^9/l$, хемоглобин – $105 \cdot 10^9/l$, тромбоцити – $30 \cdot 10^9/l$. Насочен е към СБАЛХЗ, където от проведени костномозъчни изследвания с данни за остра монобластна левкемия, M5a по FAB. Флоуцитометрично изследване на костномозъчния аспират установява 61% миелоидна бластна популация с фенотип – CD45(+висока) CD64(+ниска)/CD33(+) CD117(+)/CD34(+/- 50%)/CD14(-)/CD15(-) и свръхекспресия на CD56(+). Цитогенетичното изследване показва наличие на транслокация t(11;17)(q23;q21) със засягане на района на KMT2A гена в 20 метафази, като преустройството в MLL гена се потвърждава и от проведена флуоресцентна in-situ хибридизация – FISH. Молекулярно-биологичното изследване показва свръхекспресия на EVI1 гена. Точния вид на фузионните транскрипти не се установи, като е изключен най-честият, който се получава при t(11;17)(q23;q12-21) – KMT2A-AF17(MLLT6). Левкемията е стратифицирана като високорискова поради пренареждане на 11q23, с допълнителен лош прогностичен белег – EVI1(+) и въпреки напредналата възраст на болния и съпътстващия коморбидитет – исхемична болест на сърцето, есен-

циална хипертония и неинсулинозависим захарен диабет, е започната интензивна химиотерапия – 7 + 3, цитарабин + идарубицин. Проведена е HLA типизация и е иницирано търсене на родствен и неродствен донор с оглед извършване на алогенна трансплантация на хемопоеетични стволови клетки (ало-ТХСК) при възможност. След проведената индукция е постигната цитологична пълна ремисия, с неизмеримо ниво на минимална резидуална болест (МРБ) определено чрез флоуцитометрично изследване. Цитогенетичното и FISH изследването не откриват пренареждания засягащи KMT2A гена, а молекулярно-биологичният анализ не установява EVI1 свръхекспресия. Проведени са 3 консолидационни курса, всеки от които с по 18 грама (интермедиерни дози) цитарабин, като се запазва пълната цитологична, флоуцитометрична и молекулярна ремисия. Април 2021 г. пациента преболежда тежък COVID-19 с дихателна недостатъчност и последваща фиброзни промени в белия дроб, което отлага трансплантацията с няколко месеца. След възстановяване от инфекцията, август 2021 г. е планиран за провеждане на ало-ТХСК от напълно съвместим неродствен донор (matched unrelated donor, MUD) с налична 1 DPB1 несъвместимост с приемлива имуногенност (11/12). Преди ало-ТХСК, от проведената оценка на заболяването се установява отново пълна ремисия с неизмерима МРБ от мултипараметърна флоуцитометрия. Цитогенетичното и молекулярно-биологичното изследване показват пълен цитогенетичен отговор и липса на EVI1 свръхекспресия, съответно. Предвид възрастта и високия индекс на коморбидитета – 5 т. (HCT-CI) и данните от многоцентрово клинично проучване [6], се прецени пациентът да се кондиционира с треосулфан + флударабин, с редуцирана интензивност (reduced intensity conditioning, RIC) и на 04.08.2021 г. се проведе ало-ТХСК от избрания неродствен съвместим донор. Периода преди прихващането премина без сигнификантни усложнения. На ден +13 се възстанови тромбоцитен, а на ден +19 неутрофилен брой. Посттрансплантационната имunosупресия се състоеше от калциневринов инхибитор (циклоспорин) и антиметаболит (микофенолат мофетил). От костномозъчни изследвания на ден +30 – данни за пълна донорна химера – 99.3% донорен химеризъм, пълна цитологична ремисия, МРБ под измеримото ниво. Цитогенетичното изследване показва нормален кариотип, а молекулярно-биологичното изследване не показва наличие на EVI1(+). Ранния посттрансплантационен период беше усложнен с остра реакция на присадката срещу приемателя (graft versus host disease, GvHD) II стадий със засягане на горен ГИТ и кожа, остро олигурично бъбречно увреждане III стадий по AKIN (Acute Kidney Injury Network) и нискостепенна cytomegalovirus (CMV) виремия, като тези компликации на фона на

комплексна терапия претърпяха обратно развитие. Микофенолатът беше спрян на ден +50. Нови костномозъчни изследвания на +60-ти ден потвърдиха 100% донорен химеризъм, както и цитологична и цитогенетична ремисия. МРБ остана под прага на детекция. Молекулярно-биологичното изследване обаче показва отново наличие EVI1(+). Предвид високорисковата левкемия, въпреки ремисионния статус преди ало-ТХСК, още при осъществяването на трансплантацията се планираше по-ранно спиране на имunosупресивната терапия и провеждане на донорни лимфоцитни инфузии (ДЛИ). Позитивизирането на EVI1(+) направи продължително бързото излизане от циклоспорина, който беше успешно редуциран и спрян на +3-ти месец от ало-ТХСК. Направен беше опит за организиране на ДЛИ, но поради неродствения донор и необходимостта от поне един месец интервал от спиране на имunosупресията, такава инфузия не се осъществи и на 4-тия месец от ало-ТХСК настъпи морфологичен рецидив на заболяването. Химеризма спадна до 78%, левкемията релапсира със същите флуоцитометрични, цитогенетични и молекулярно-биологични характеристики като при диагнозата. Въпреки направените опити за контрол на заболяването и постигането на ремисия, рецидивът не се овладя и пациентът загина.

ДИСКУСИЯ

KMT2A гена кодира хистонов метилтрансфераза – ензим, със способността да метилира лизинови остатъци на хистоновия белтък H3 и по този начин да регулира, най-вече активира транскрипцията на големи групи гени важни за развитието на организма и в частност на хемopoетичната система [7, 8]. Предишното му име – MLL, показва, че засягащите го пренареждания, могат да предизвикат както ОМЛ, така и остра лимфобластна левкемия и остра левкемия със смесен фенотип [9]. Патогенетичните механизми, по които възникват остри левкемии с аберации засягащи KMT2A, включват формиране на мултибелтъчни комплекси с различни протеини, които заедно с абнормалния MLL, водят до свръхактивация на гени контролиращи клетъчния цикъл и баланса между пролиферация и диференциация - HOX групата, MEIS1, CDK6, MYC и други. [8, 10, 11]. Тези онкогенни пътища в крайна сметка водят до трансформация на прекурсорната клетка в левкемична и водят до развитие на ОМЛ.

EVI1 гена кодира транскрипционен фактор, който има фундаментална роля за нормалното развитие на хемopoетичната система, но при свръхактивация (експресия) има основна роля в левкемогенезата свръхактивирайки *cyclin D1*, *ERG*, редуцирайки нивото на *p53* и *PTEN* туморсупресорните гени

и други [12-18].

Точните взаимовръзки между аберациите на KMT2A и EVI1 свръхекспресията не са напълно изяснени. Знае се, че някои MLL пренареждания могат да активират EVI1 директно, други могат да трансформират хемopoетична стволова клетка, която нормално е с високо ниво на EVI1, в левкемична, като и в двата случая, тези две събития – MLL аберациите в комбинация с EVI1(+) резултат в химиорезистентна ОМЛ с изключително неблагоприятна прогноза [15, 19-21].

В най-големия анализ проведен до момента касаещ ОМЛ и KMT2A пренареждания, Грошел и колеги идентифицират 286 (3.7%) болни с MLL аберации от 7728 пациенти с ОМЛ. Авторите доказват, че наличието на EVI1(+) е свързано с допълнително редуцирана обща преживяемост (overall survival, OS), преживяемост свободна от събития (event-free survival, EFS) и преживяемост свободна от рецидив (relapse-free survival, RFS) [5]. Зависимостта се потвърждава при всички групи пациенти – тези с *t(9;11)*, *t(6;11)*, както и *t(v;11q23)*, между които попадат и общо десетимата болни с *t(11;17)(q23;q21)* [5]. Честотата на тази конкретна аномалия е само 0.13%. Всички пациенти с KMT2A пренареждания и EVI1(+) имат полза от провеждането на ало-ТХСК при постигане на ремисия, което им осигурява единствения шанс за дългосрочна преживяемост [5]. Пациентите с *t(9;11)*, които са в междиннорисковата група по ELN, при наличие на EVI1(+) имат под 10% дългосрочна преживяемост [5]. Другото интересно при тях е, че наличието на EVI1(+) е свързано с по-висок левкоцитен брой и по-рядко монобластна морфология в сравнение с EVI1(-) болни с *t(9;11)* [5]. Проучването демонстрира ролята на EVI1(+) като важен прогностичен маркер при пациентите с KMT2A пренареждания и затвърждава ролята на ало-ТХСК като процедура на избор, даваща най-добър шанс за преживяване.

По отношение на конкретната транслокация *t(11;17)(q23;q21)* при пациенти с ОМЛ, данните в литературата са изключително оскъдни [22-26]. Най-често са под формата на отделни клинични случаи, показвайки асоциацията тази генетична аберация с монобластна морфология на левкемичните клетки и неблагоприятна прогноза [22-26].

В настоящия случай, въпреки напредналата възраст и коморбидитета, пациентът беше лекуван с максимално агресивна терапия, постигна се пълна ремисия и се продължи към ало-ТХСК с цел излекуване. За съжаление, високият НСТ-СІ и възрастта на практика изключиха възможността за приложение на интензивен миелоаблативен кондициониращ режим. От една страна това, от друга невъзможността за осъществяване на ДЛИ и от трета самата биология на левкемията, спо-

собстваха за развитието на рецидив на заболяването. Нашият случай ясно показва, че дори при интензивна терапия с провеждане на ало-ТХСК, прогнозата за пациенти с t(11;17) и съпътстваща EVI1(+) е крайно неблагоприятна. Другият любопитен момент е позитивизирането на свръхекспресията на EVI1, което предшества релапса с около 2 месеца, а от същия КМ аспират се покаже за 100% донорна химера и МРБ под прага на детекция чрез мултипараметърна флуоцитометрия. EVI1(+) беше единственият маркер, подсказващ предстоящия рецидив. Данните в литературата не показват, че EVI1(+) може да се използва като надежден маркер за изследване на МРБ [27], но в нашия случай връзката с релапса на ОМЛ е право пропорционална. Единствено бъдещи изследвания в тази насока биха потвърдили или отхвърлили категорично валидността на EVI1(+) по отношение измерване на МРБ след ало-ТХСК. Поуката за нас от настоящия случай е, че при пациенти с доказана EVI1(+) към диагноза, е необходимо да проследяваме нивото на експресия на маркера при постигане на цитологична ремисия, особено след трансплантация, тъй като той би могъл относително рано да позитивира, показвайки ни предстоящ рецидив на заболяването. Това би ни дало възможност да модифицираме терапията и да предотвратим морфологичния релапс на ОМЛ.

Скорошни данни демонстрират ролята на един клас малки молекули, така наречените менинови инхибитори, които блокират възможността на MLL-мултибелтъчните комплекси за свързването им с клетъчната ДНК/хистони и оттам активацията на онкогенната програма способстваща левкемогенезата [28, 29]. Все още са на ранен етап клиничните проучвания по отношение ефективността на тези молекули при пациенти с ОМЛ. Фаза 1 клинично изпитване при пациенти с рефрактерна/рецидивирала (P/P) остра левкемия с пренареждания на MLL, показва честота на пълен отговор и пълен отговор с частично хематологично възстановяване от порядъка на 33% [30]. За съжаление, вече се описани и механизми, по които мутации в MEN1 гена (кодиращ менин), водят до невъзможност за свързване на инхибитора към таргета, но запазват връзката между MLL/менин и ДНК [31]. Друг интересен случай описан в литературата, съобщава как при пациент с t(11;17), поради засягане на регион на 17-та хромозома много близко разположен до гена на алфа рецептора за ретинова киселина (RAR-α), авторите in-vitro изследват ролята на ATRA върху лекевичните клетки [22]. Не доказват възможност на ATRA да индуцира диференциация на бластите при този тип ОМЛ, както при остра промиелоцитна левкемия, а ефекта върху клетките се изразява в забавяне на диференциацията и увеличаване на експресията на CD38 и CD117 [22]. Интересно е, че и при болни

с P/P EVI1(+) ОМЛ съществуват, макар и оскъдни данни изследващи ролята на ATRA в комбинация с нискодозова химиотерапия [32]. Честота на пълна ремисия от 53.8% е докладвана от авторите, което имайки предвид кохортата болни е обнадеждаващо [32].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представеният клиничен случай показва предизвикателствата, пред които сме изправени опитвайки се да лекуваме пациентите с ОМЛ. За съжаление, при наличие на MLL аберации и EVI1(+) в повечето случаи резултатите не са задоволителни, въпреки правилния терапевтичен подход. Необходимо са ни и нови лостове в лечението на тези болни. Само времето ще покаже как да използваме и модифицираме познатите ни вече лечебни модули, за да подобрим изхода за пациентите. Дали пък новите молекули, които се задават на хоризонта няма да променят хода на събитията? Все още обаче пациентите с KMT2A пренареждания и/или EVI1 свръхекспресия остават терапевтично предизвикателство и налагат провеждането на изследвания и анализи, вследствие на които да се оптимизира лечението, за да се подобри преживяемостта на тези болни.

Адрес за кореспонденция:

Красен Венков

Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания – СБАЛХЗ

гр. София, бул. Климент Охридски №1А

тел: 0883/319-312

E-mail: k.venkov@hematology.bg

Correspondence:

Krasen Venkov

Specialized hospital for active treatment of hematological diseases – SHATHD

Sofia, 1A Kliment Ohridski blvd.

Phone: 0883/319-312

E-mail: k.venkov@hematology.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391-2405. *Blood*, 2016. 128(3): p. 462-463.
2. National Cancer Institute, D., Surveillance Research Program, released September 2022. Underlying mortality data provided by NCHS (www.cdc.gov/nchs), Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program (www.seer.cancer.gov) SEER*Stat Database: Mortality - All COD, Aggregated With State, Total U.S. (1969-2020) 2023.
3. Döhner, H., et al., Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*, 2017. 129(4): p. 424-447.
4. Döhner, H., et al., Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*, 2022. 140(12): p. 1345-1377.
5. Gröschel, S., et al., Deregulated expression of EVI1 defines a poor prognostic subset

of MLL-rearranged acute myeloid leukemias: a study of the German-Austrian Acute Myeloid Leukemia Study Group and the Dutch-Belgian-Swiss HOVON/SAKK Cooperative Group. *J Clin Oncol*, 2013. 31(1): p. 95-103.

6. Beelen, D.W., et al., Treosulfan or busulfan plus fludarabine as conditioning treatment before allogeneic haemopoietic stem cell transplantation for older patients with acute myeloid leukaemia or myelodysplastic syndrome (MC-FludT.14/L): a randomised, non-inferiority, phase 3 trial. *Lancet Haematol*, 2020. 7(1): p. e28-e39.
7. Krivtsov, A.V., et al., H3K79 methylation profiles define murine and human MLL-AF4 leukemias. *Cancer Cell*, 2008. 14(5): p. 355-68.
8. Yu, B.D., et al., Altered Hox expression and segmental identity in Mll-mutant mice. *Nature*, 1995. 378(6556): p. 505-8.
9. Iacobucci, I. and C.G. Mullighan, KMT2A-rearranged leukemia: the shapeshifter. *Blood*, 2022. 140(17): p. 1833-1835.
10. Marschalek, R., Systematic Classification of Mixed-Lineage Leukemia Fusion Partners Predicts Additional Cancer Pathways. *Ann Lab Med*, 2016. 36(2): p. 85-100.
11. Chen, S.L., et al., The Role of the HOXA Gene Family in Acute Myeloid Leukemia. *Genes (Basel)*, 2019. 10(8).
12. Masamoto, Y., et al., EVI1 exerts distinct roles in AML via ERG and cyclin D1 promoting a chemoresistant and immune-suppressive environment. *Blood Adv*, 2023. 7(8): p. 1577-1593.
13. Schmoellerl, J., et al., EVI1 drives leukemogenesis through aberrant ERG activation. *Blood*, 2023. 141(5): p. 453-466.
14. Yoshimi, A., et al., Evi1 represses PTEN expression and activates PI3K/AKT/mTOR via interactions with polycomb proteins. *Blood*, 2011. 117(13): p. 3617-28.
15. Cai, S.F., et al., Leukemia Cell of Origin Influences Apoptotic Priming and Sensitivity to LSD1 Inhibition. *Cancer Discov*, 2020. 10(10): p. 1500-1513.
16. Calvanese, V., et al., Mapping human haematopoietic stem cells from haemogenic endothelium to birth. *Nature*, 2022. 604(7906): p. 534-540.
17. Goyama, S., et al., Evi-1 is a critical regulator for hematopoietic stem cells and transformed leukemic cells. *Cell Stem Cell*, 2008. 3(2): p. 207-20.
18. Laricchia-Robbio, L. and G. Nucifora, Significant increase of self-renewal in hematopoietic cells after forced expression of EVI1. *Blood Cells Mol Dis*, 2008. 40(2): p. 141-7.
19. Krivtsov, A.V., et al., Cell of origin determines clinically relevant subtypes of MLL-rearranged AML. *Leukemia*, 2013. 27(4): p. 852-60.
20. Arai, S., et al., Evi-1 is a transcriptional target of mixed-lineage leukemia oncoproteins in hematopoietic stem cells. *Blood*, 2011. 117(23): p. 6304-14.
21. Krivtsov, A.V., et al., Transformation from committed progenitor to leukaemia stem cell initiated by MLL-AF9. *Nature*, 2006. 442(7104): p. 818-22.
22. Classen, C.F., et al., AML bearing the translocation t(11;17)(q23;q21): involvement of MLL and a region close to RARA, with no differentiation response to retinoic acid. *Ann Hematol*, 2005. 84(12): p. 774-80.
23. Reeves, B.R., et al., A case of acute monocytic leukemia with t(11;17) involving a rearrangement of MLL-1 and a region proximal to the RARA gene. *Cancer Genet Cytogenet*, 1994. 74(1): p. 50-3.
24. Dubé, S., et al., Rearrangement of the MLL gene and a region proximal to the RARalpha gene in a case of acute myelocytic leukemia M5 with a t(11;17)(q23;q21). *Cancer Genet Cytogenet*, 2003. 145(1): p. 54-9.
25. Lee, S.G., et al., De novo acute myeloid leukemia associated with t(11;17)(q23;q25) and MLL-SEPT9 rearrangement in an elderly patient: a case study and review of the literature. *Acta Haematol*, 2011. 126(4): p. 195-8.
26. Park, C.-G., et al., Acute Monoblastic Leukemia with t(11;17)(q23;q21): Fusion of the KMT2A(MLL) and MLLT6(AF17) Genes. *Imo*, 2019. 9(4): p. 258-262.
27. Smol, T., et al., Quantification of EVI1 transcript levels in acute myeloid leukemia by RT-qPCR analysis: A study by the ALFA Group. *Leuk Res*, 2015. 39(12): p. 1443-7.
28. Yokoyama, A., et al., The menin tumor suppressor protein is an essential oncogenic cofactor for MLL-associated leukemogenesis. *Cell*, 2005. 123(2): p. 207-18.
29. Swaminathan, M., et al., Menin Inhibitors in Acute Myeloid Leukemia-What Does the Future Hold? *Cancer J*, 2022. 28(1): p. 62-66.
30. Issa, G.C., et al., The menin inhibitor revumenib in KMT2A-rearranged or NPM1-mutant leukaemia. *Nature*, 2023. 615(7954): p. 920-924.
31. Perner, F., et al., MEN1 mutations mediate clinical resistance to menin inhibition. *Nature*, 2023. 615(7954): p. 913-919.
32. Paubelle, E., et al., Efficacy of All-Trans-Retinoic Acid in High-Risk Acute Myeloid Leukemia with Overexpression of EVI1. *Oncol Ther*, 2019. 7(2): p. 121-130.

СВРЪХЕКСПРЕСИЯ НА ВААЛС ГЕНА СЛЕД ТЕРАПИЯ С АЗАЦИТИДИН, ПРИ ПАЦИЕНТКА С РЕГИСТРИРАНИ ЧЕТИРИ ОТДЕЛНИ НЕОПЛАСТИЧНИ ПРОЦЕСА В РАМКИТЕ НА 38 ГОДИШЕН ПЕРИОД НА НАБЛЮДЕНИЕ – МЕДИЦИНСКИ СЛУЧАЙ

Е. Алексов, Й. Лазарова, М. Генова, Г. Михайлов, Г. Балаценко

Национална специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания, София

BAALC GENE OVEREXPRESSION AFTER AZACITIDINE TREATMENT IN A FEMALE PATIENT WITH REGISTERED FOUR DIFFERENT NEOPLASTIC PROCESSES IN 38-YEARS FOLLOW-UP PERIOD - A CASE REPORT

E. Aleksov, Y. Lazarova, M. Genova, G. Mihaylov, G. Balatzenko

National Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases – Sofia

Резюме. Преживяемостта при пациентки диагностицирани с рак на гърдата, непрекъснато се увеличава. За съжаление с нарастването на преживяемостта, нараства и рискът от развитие на вторична неоплазия, свързана с терапията. Представяме случай на пациентка, диагностицирана двукратно с рак на гърдата през 1984 г. и повторно на контралатералната гърда през 2011 г. През 2019 година развива терапевтично свързан миелодиспластичен синдром (МДС), като в хода на провежданата терапия, е диагностицирана с четвърта неоплазия – В-едроклетъчен лимфом. При поставяне на диагнозата МДС не е установен абнормен молекулярно-генетичен маркер, но при последващо изследване след терапия с Азациитидин е установена свръхекспресия на ВААЛС гена. Обсъжда се честотата на възникване на множествени първични неоплазии и възможното влияние на дисрегулацията на ВААЛС върху тях.

Ключови думи: ВААЛС, МДС, В-едроклетъчен лимфом, множествени първични неоплазии, рак на гърдата, Азациитидин

Abstract. The survival rate for patients diagnosed with breast cancer is constantly increasing in the years. Unfortunately, the risk of developing secondary neoplasia related to therapy also is rising. We present a case of a female patient diagnosed twice with breast cancer in 1984 and again in the contralateral breast in 2011, who in 2019 developed therapeutically related MDS, and in the course of the ongoing therapy, a fourth neoplasia - B-large cell lymphoma - was diagnosed. No abnormal molecular genetic marker was found at diagnosis of MDS, but overexpression of the BAALC gene was found at follow-up after Azacitidine therapy. The frequency of occurrence of multiple primary neoplasms and the possible influence of BAALC dysregulation on them are discussed.

Key words: BAALC, MDS, LBCL, breast cancer; multiple primary cancers; Azacitidine

ВЪВЕДЕНИЕ

Навлизането на нови диагностични процедури и терапевтични подходи, в областта на онкология и хематология, неизменно води до положителна промяна на един от най-важните показатели за ефективността на терапията в медицината – преживяемостта [4]. Един от най-показателните примери в това отношение е карциномът на млечната жлеза [6, 7]. За съжаление с нарастването на преживяемостта, нараства и риска от развитие на вторична неоплазия, свързана с терапията [2,3,8,9,10,11]. При анализ на 16 705 жени, диагностицирани с рак на гърдата и преминали през химиотерапия, лъчетерапия и/или хормонотерапия, Kirova et al., определят възрастово стандартизирани отношения на заболяемост (standardized

incidence ratios (SIRs)) за вторично възникнали неопластични заболявания. Най-висок е SIR от 1.6 (1.27–2.04) за възникване на левкемия, като нарастването на риска е свързано сигнификантно с предходно провежданата химиотерапия [2]. Редица автори свързват нарастването на риска от развитие на остра левкемия или миелодиспластичен синдром след провеждане на химиотерапия и/или лъчетерапия [12–18].

Химиотерапията се прилага системно и по този начин представлява потенциален сериозен генотоксичен риск за всяка немалигнена клетка на човешкото тяло. Мутационното въздействие на противораковите терапии върху здравите стволови клетки е важно, тъй като те са дълго живеещи, отговорни за обновяването на тъканите и са въз-

можен източник на произход на друго злокачествено заболяване [19,20,21]. Генотоксичният ефект на различните агенти е различен [19,21,22].

ПРЕДСТАВЯНЕ НА СЛУЧАЯ

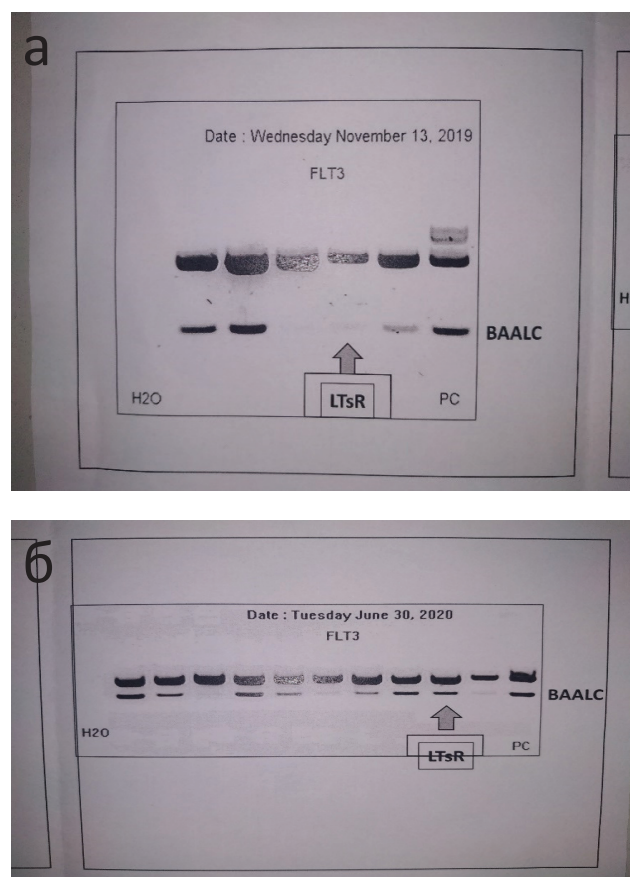
Представяме случай на пациентка на 77 години, с анамнестични данни за проведена през 1984 г. мастектомия по повод на диагностициран карцином на лява млечна жлеза (инвазивен дуктален карцином-T1N0M0), която е последвана от полихимиотерапия и лъчетерапия, направена е овариектомия и двустранна аднексектомия. През 1998 г. е извършена тотална хистеректомия по повод миома, а през 2011 г., 27 години след диагнозата на карцинома, е оперирана отново по повод на карцином на контралатералната, дясна млечна жлеза. Хистологичната диагноза е инвазивен дуктален карцином HER2 (-), и повторно е проведена полихимиотерапия. От тогава до началото на настоящите оплаквания през октомври 2019 г., е проследявана редовно от онколог – без данни за наличие на рецидив или метастатично заболяване.

През октомври 2019 г., по повод на отпадналост, лесна уморяемост, загуба на апетит, болки в корема посещава своя личен лекар. От амбулаторно направени изследвания са установени: хемоглобин 91 Г/л, Левкоцити 1.6 Г/л, гранулоцити 0.1 Г/л, Тромбоцити 224 Г/л. Консултирана е от гастроентеролог, като не са открити патологични отклонения. Личния лекар насочва пациентката към специализирано хематологично звено, където през месец ноември 2019 г., са проведени костномозъчни изследвания.

Резултатите от направената миелограма и цитогенетично изследване са нерепрезентативни. От флуоцитометричното изследване се идентифицира популация от миелоидни прекурсори - 0,5% от всички клетки в аспирата. При молекулярно-генетичното изследване не се установяват молекулярни маркери с клинична значимост при ОМЛ/МДС. Имуноморфологичната находка от костномозъчната биопсия съответства на вторична миелоидна неоплазия по типа на миелодиспластичен синдром - екセス на бласти 2. На базата на резултатите е поставена диагнозата Миелодиспластичен синдром с екセス на бласти 2, свързан с предходна терапия. Започната е терапия с Azacitidine, като са проведени общо два курса.

След втория курс, през месец февруари 2020 г., поради персистираща цитопения и оплаквания от отпадналост, е направена преоценка. От миелограмата се установяват 6% бласти, на фона на много разрушени клетки, а флуоцитометрично - наличие на 2,3% миелоидни прекурсори. Хистологичното изследване дава заключението, че имуноморфологичната находка съответства на ангажиране на костния мозък от лимфом, по типа на

Дифузен В-едроклетъчен с богатство на Т-клетки и хистиоцити, като не може да се изключи съчетание със съпътстваща вторична миелоидна неоплазия по типа на миелодиспластичен синдром. Клинично отсъстват признаци на лимфаденомегалия. Проведен е КАТ на цяло тяло, като не се откриват данни за лимфаденомегалия и паренхимна дисеминация, но при последващо проведено PET/CT изследване е установен солитарен, метаболитно активен лимфен възел, на нивото на 1-во, 2-ро ребро вдясно, както и поне единична костна лезия в дясната скапула, без да могат да се изключат напълно и други. Лезиите са със скор Deauville 5. Предполага се, че е възможно дифузно лимфомно ангажиране на костния мозък, но в диференциално диагностичен план не се изключва активиране на костния мозък, след проведената терапия с Azacitidine. През месец юни 2020 г. е направена повторна преоценка на костния мозък. От миелограмата данните са за бластна инфилтрация 1.8%. От флуоцитометричното изследване 0,2% от всички клетки в аспирата са миелоидни прекурсори. Цитогенетичното изследване показва нормален женски кариотип, а от молекулярно генетичното изследване се установява повишена експресия на BAALC гена, която при предишното изследване при диагностицирането на МДС е отсъствала (Фиг. 1).



Фигура 1. RT-PCR изследване за повишена експресия на BAALC гена: а) преди терапията с Azacitidine; б) след проведена терапия с Azacitidine.

Проведено е повторно PET/CT изследване през октомври 2020, като заключението е за наличие на активен лимфопролиферативен процес с наличие на наддиафрагмални метаболитно активни лимфни възли, формиращи конгломерати с Deauville score 5. Решено е терапията с Azacitidine да се спре окончателно. През последващия период от октомври 2020 до септември 2022 г., при пациентката са проведени няколко секвенциални линии терапия (4 курса R-CNOP (Rituximab; Endoxane; Mitoxantrone; Vincristine; Prednisolon); 4 курса R-CVP (Rituximab; Endoxane; Vincristine; Prednisolon); „R-Bendamustine“ (Rituximab; Bendamustine); 3 курса „R-Gemcitabin“; „R – Bendamustine + Polatuzumab“ (Rituximab; Polatuzumab; Bendamustine) без постигане на пълен отговор. Междувременно пациентката преминава през две COVID-19 инфекции. След последния химиотерапевтичен курс през септември 2022 год., пациентката се възстановява успешно от последвалата цитопения, но в хода на домашното лечение се появяват данни за дихателна инфекция, която налага хоспитализация. На фона на започналото възстановяване се появяват стенокардни оплаквания, тахикардия и реполяризационни нарушения, придружени от нарастване стойностите на тропонина десетократно над нормата и на следващия ден е регистриран летален изход в условията на хоспитализация.

ДИСКУСИЯ

Позовавайки се на базата данни на SEER, можем да отчетем нарастване на наблюдаваната относителна 5-годишна преживяемост при рака на гърдата от 76.31% през 1975 г. до впечатляващите 92.83% през 2015 г. [5]. Честотата на пациентите, които живеят след диагностициране на неопластично заболяване, продължава да нараства поради няколко причини: нарастващата честота на самите заболявания, както и подобрената преживяемост на пациентите, благодарение на напредъка в диагностиката и лечението. Рискът от последващи първични ракови заболявания също се увеличава поради нарастващия брой преживели диагнозата и терапията, дългосрочните странични ефекти от химиотерапията и/или лъчетерапията, и продължаващите ефекти на генетични и поведенчески рискови фактори. Наличието на повече от едно първично раково заболяване се определя като повече от един синхронни (последователно във времето) или метакронни (застъпващи се във времето) тумори (множествени първични неоплазии) при един и същи индивид [34]. Общата докладвана честота на повече от едно първични ракови заболявания варира между 2,4% и 17% [23, 27].

Според Schoenberg индивиди с една злокачествена неоплазия са изложени на 1,29 пъти по-голям риск от развитие на нов независим тумор в срав-

нение с индивиди, които никога не са имали рак (P по-малко от 0,01) [25]. Жените, диагностицирани с първичен рак на гърдата, логично са изложени също на по-висок риск от възникване втора неоплазия [24]. В свое изследване върху 16004 жени диагностицирани с рак на гърдата Ramin et al. докладват при средно проследяване от 6,2 години, за 1562 жени развили втора неоплазия. Преживелите рак на гърдата са имали 70% по-висок риск от всякакъв вид неоплазии (95% CI = 1,62-1,79) и 45% по-висок риск от рак извън гърдата (95% CI = 1,37-1,54) в сравнение с общата популация. Авторите съобщават за 10-годишна кумулативна честота от 10,8% за всеки втори вид раково заболяване, 7,5% за неоплазия извън гърдата (вкл. остра миелоидна левкемия/МДС и лимфоми) и 3,4% за контралатерален рак на гърдата, в сравнение с общата популация, използвайки стандартизирано съотношение на честотата (standardized incidence ratios (SIRs) за оценка на риска от възникване. [6].

По данни на Amer et al. между 2005 г. и 2012 г. от проследени 1873 пациенти с рак, 322 са развили второ злокачествено заболяване; от които второ независимо огнище (n=284) и три или повече независими (n=38). Четиридесет и седем пациенти са имали синхронни независими локализации, а 275 са имали метакронни независими локализации [26].

При изследване на Alhamadh et al. върху 321 пациенти със второ злокачествено заболяване (не-хематологично), само 4% от случаите трета неоплазия [28].

Съобщенията в научната литература, за налична четвърта и повече неоплазии, са редки и са описани като отделни медицински случаи [29,30,31,32,33].

Както се изтъкна по-горе, причините за поява на множествените първични неоплазии, са много и най-вероятно мултифакторни, като начин на живот, околна среда, провеждани предходни терапии и др. Мултифакторната обусловеност прави труден отговора на въпроса - доколко са свързани четирите последователни неоплазии при конкретния случай. Несъмнено обаче ролята на генетичните аберации и влиянието им върху сигналните пътища в клетката е основна и ключова [35]. Понастоящем е възприета концепцията, че развитието на неоплазии е свързано с последователно натрупване на генетични нарушения, водещи до малигнена трансформация на съответната родоначална клетки. В описания от нас случай единствената доказана генетична аномалия е нарушената експресия на BAALC гена, която е установена само при диагностицирането на лимфома. Няколко са вероятните хипотези за участието на BAALC в конкретния случай:

- Налична дисрегулация на експресията, още от времето на началната поява на неоплазия, която по различни причини не е детектирана при първото изследване
- Резултат от провежданата в миналото терапия за рака на гърдата
- Резултат от хипометилиращото действие на Azacitidine

- Новопоявила се в хода на развитие на лимфома.

BAALC е ген, който участва в контрола на пролиферацията, диференциацията и оцеляването на левкемичните клетки. Доказано е, че се свръхекспресира и при други видове неоплазии. Експресията и потенциалната роля на BAALC при рака на гърдата не са широко изследвани. Birgersson et al. в проучване върху клетъчна линия от рак на гърдата показват, че свръхекспресията на BAALC увеличава пролиферацията, независимия от външни фактори растеж, инвазията и капацитета за миграция на тези клетки. Те идентифицират, че тази свръзана с BAALC миграция и инвазия се медира от фокална адхезионна киназа (FAK)-зависима сигнализация и е придружена от повишаване на матриксната металопротеиназа (MMP)-9, но не и активността на MMP-2 *in vitro*. Тези данни демонстрират нова функция на BAALC в контрола върху метастазите при рака на гърдата [37]. Данни на Li et al. показват, че BAALC улеснява клетъчната пролиферация, инвазията и процесите на епително-мезенхимния преход на туморните клетки от рак на гърда, но подтиска клетъчната апоптоза в тях, чрез интеракция с малките некодиращи РНК молекули miR-380-3p и LRR75A-AS1 [38].

Отсъствието на свръхекспресия на BAALC преди терапията с Azacitidine може да бъде свързано с горните резултати и това е възможно обяснение за липсата на метастатично заболяване при налични два последователни тумора на гърдата. Тези данни отхвърлят или по-скоро правят малко вероятна първата хипотеза за наличието на дисрегулация на BAALC още при появата на първата неоплазия.

Втората хипотеза за свръхекспресия на BAALC в резултат от провежданата в миналото терапия за рака на гърдата, също е малко вероятна с оглед на дългия период между развитието на отделните заболявания.

Вероятността за действието на хипометилиращия агент за дисрегулацията на BAALC, остава неясна и неподкрепена с конкретни доказателства, но в литературата има съобщения за въздействието на хипометилираща терапия върху т. нар. „silent“ мутации и генни аберации [41].

Данни от проучвания на различни автори могат да дадат вероятно обяснение за връзката между появата на свръхекспресията на BAALC и развитието на четвъртата неоплазия. Baldus et al. предлагат хипотезата, че подобно на ERG (v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog), BAALC експресията може да има прогностично значение при остра Т-лимфобластна левкемия (T-ALL), тъй като експресията на гените ERG и BAALC показва сходство по време на хемопоезата. Те правят проучване, базирано на тази хипотеза, при което проучват експресията на двата гена при болни с Т-ОЛЛ, като резултатите са, че високата експресия на BAALC корелира с по-висока честота на ранна Т-ALL, CD34 позитивитет, коекспресия на миелоидни маркери и висока експресия на ERG [39]. В друго проучване (на Zhang et al.), авторите демонстрират аберантна експресия на

ERG в подгрупа на DLBCL, свързана с down-регулация на miR-4638-5p. И предлагат провеждането на допълнителни функционални изследвания на ERG-свързани miРНК и пътища, които да предоставят нов поглед върху патогенезата на DLBCL [40].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Случаите на три и повече множествени първични неоплазии са рядкост в медицинската практика, но ранното им идентифициране е от решаващо значение за стадирането на тумора и последващия избор на лечение.

Доколко свръхекспресията на BAALC гена има участие във възникването на някои от тях и дали терапията с Азациитидин има връзка с появилата се свръхекспресия са отворени въпроси, решаването на които ще изисква бъдещи, целенасочени анализи по проблема.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Емил Алексов
Национална специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания
Бул. „Климент Охридски“ № 1А
София, п.к. 1756
e.aleksov@hematology.bg

Corresponding address:

Dr. Emil Aleksov
Specialized Hospital for Active Treatment of Hematology Diseases - Sofia
Kliment Ohridski Bldv 1A
1A Kliment Ohridski Blvd.
1756 Sofia
E-Mail: e.aleksov@hematology.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Miller, K. D. et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2019. *CA Cancer J. Clin.* 69, 363–385. <https://doi.org/10.3322/caac.21565> (2019).
2. Ramin, C., Veiga, L.H.S., Vo, J.B. et al. Risk of second primary cancer among women in the Kaiser Permanente Breast Cancer Survivors Cohort. *Breast Cancer Res* 25, 50 (2023). <https://doi.org/10.1186/s13058-023-01647-y>
3. American Cancer Society. Cancer treatment & survivorship facts & figures 2019–2021. Atlanta, American Cancer Society, 2019.
4. Kirova YM, De Rycke Y, Gambotti L, Pierga JY, Asselain B, Fourquet A; Institut Curie Breast Cancer Study Group. Second malignancies after breast cancer: the impact of different treatment modalities. *Br J Cancer.* 2008 Mar 11;98(5):870–4. doi: 10.1038/sj.bjc.6604241. Epub 2008 Feb 12. PMID: 18268495; PMCID: PMC2266852.
5. Xu XS, Ding H, Zhang X, Liao Y, Li H, Liu QY, Liu JZ, Zhang L, Huang J, Gong YP, Ma HB, Xiang B, Dai Y, Hou L, Shuai X, Niu T, Wu Y. [Clinical characteristics and prognosis of patients with therapy-related myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia arising from malignant tumors]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2023 Sep 14;44(9):742–748. Chinese. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.09.007. PMID: 38049318; PMCID: PMC10630571.
6. Sung H, Freedman RA, Siegel RL, Hyun N, DeSantis CE, Ruddy KJ, et al. Risks of subsequent primary cancers among breast cancer survivors according to hormone receptor status. *Cancer.* 2021;127(18):3310–24.
7. Møllerkjær L, Christensen J, Frederiksen K, Pukkala E, Weiderpass E, Bray F, et al. Risk of primary non-breast cancer after female breast cancer by age at diagnosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2011;20(8):1784–92.
8. Molina-Montes E, Requena M, Sánchez-Cantalejo E, Fernández MF, Arroyo-Morales M, Espín J, et al. Risk of second cancers after a first primary breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol.* 2015;136(1):158–71.

9. Ricceri F, Fasanelli F, Giraudo MT, Sieri S, Tumino R, Mattiello A, et al. Risk of second primary malignancies in women with breast cancer: results from the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer*. 2015;137(4):940–8.
10. Schaapveld M, Visser O, Louwman MJ, Vries EGE, Willemse PHB, Otter R, et al. Risk of new primary nonbreast cancers after breast cancer treatment: a dutch population-based study. *J Clin Oncol*. 2008;26(8):1239–46.
11. Fisher B, Rockette H, Fisher ER, Wickerham DL, Redmond C, Brown A. Leukemia in breast cancer patients following adjuvant chemotherapy or postoperative radiation: the NSABP experience. *J Clin Oncol*. 1985;3(12):1640–58.
12. Kuijk E, Kranenburg O, Cuppen E, et al. Common anti-cancer therapies induce somatic mutations in stem cells of healthy tissue. *Nat Commun* 13, 5915 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33663-5>
13. Pich O, Muiños F, Lolkema MP, Steeghs N, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N. The mutational footprints of cancer therapies. *Nat Genet*. 2019 Dec;51(12):1732–1740. doi: 10.1038/s41588-019-0525-5. Epub 2019 Nov 18. PMID: 31740835; PMCID: PMC6887544.
14. Kocakavuk E, Anderson KJ, Varn FS, et al. Radiotherapy is associated with a deletion signature that contributes to poor outcomes in patients with cancer. *Nat Genet* 53, 1088–1096 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41588-021-00874-3>
15. Behjati S, Gundem G, Wedge D, et al. Mutational signatures of ionizing radiation in second malignancies. *Nat Commun* 7, 12605 (2016). <https://doi.org/10.1038/ncomms12605>
16. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/breast.html> - accessed on 02.01.2024
17. Tanjak P, Sukitipat B, Vorasan N, Juengwiwatanakitti P, Thiengrong B, Songjang C, Therasakvichya S, Laiteerapong S, Chinswangwatanakul V. Risks and cancer associations of metachronous and synchronous multiple primary cancers: a 25-year retrospective study. *BMC Cancer*. 2021 Sep 23;21(1):1045. doi: 10.1186/s12885-021-08766-9. PMID: 34556087; PMCID: PMC8461969.
18. Copur MS, Manapuram S. Multiple Primary Tumors Over a Lifetime. *Oncology (Williston Park)*. 2019 Jul 16;33(7):629384. PMID: 31365752.
19. Vogt A, Schmid S, Heinemann K, Frick H, Hermann C, Cerny T, Omlin A. Multiple primary tumours: challenges and approaches, a review. *ESMO Open*. 2017 May 2;2(2):e000172. doi: 10.1136/esmoopen-2017-000172. PMID: 28761745; PMCID: PMC5519797.
20. Schoenberg BS. Multiple primary malignant neoplasms. The Connecticut experience, 1935–1964. *Recent Results Cancer Res*. 1977;58:1–173. PMID: 331419.
21. Howe HL, Weinstein R, Alvi R, Kohler B, Ellison JH. Women with multiple primary breast cancers diagnosed within a five year period, 1994–1998. *Breast Cancer Res Treat*. 2005 Apr;90(3):223–32. doi: 10.1007/s10549-004-4258-4. PMID: 15830135.
22. Amer MH. Multiple neoplasms, single primaries, and patient survival. *Cancer Manag Res*. 2014 Mar 5;6:119–34. doi: 10.2147/CMAR.S57378. PMID: 24623992; PMCID: PMC3949559.
23. Alhamadh MS, Alanazi RB, Algarni ST, Alhantushi AAR, Alshehri MQ, Chachar YS, Alkaiyat M, Sabatin F. A Descriptive Study of the Types and Survival Patterns of Saudi Patients with Multiple Primary Solid Malignancies: A 30-Year Tertiary Care Center Experience. *Curr Oncol*. 2022 Jul 13;29(7):4941–4955. doi: 10.3390/curroncol29070393. PMID: 35877253; PMCID: PMC9315520.
24. Nguyen DT, Nguyen LM, Phan TL, Bui QV. One Patient With 4 Different Primary Cancers: A Case Report. *Clin Med Insights Case Rep*. 2023 Jan 26;16:11795476221150597. doi: 10.1177/11795476221150597. PMID: 36726425; PMCID: PMC9885030.
25. Jiao F, Hu H, Wang LW. Quadruple primary malignancy patient with survival time more than 20 years. *World J Gastroenterol*. 2013 Mar 7;19(9):1498–501. doi: 10.3748/wjg.v19.i9.1498. PMID: 23538731; PMCID: PMC3602513.
26. Hankins EA, Miller AC. Quadruple Primary Malignancies. *JAMA*. 1962;179(11):896–898. doi:10.1001/jama.1962.03050110064020
27. Feridun Yumrukçıl, Yalin Dirik, Arda Çınar, Levent Eralp, “Fourth Primary Malignant Tumor in a Patient with Possible Li-Fraumeni Syndrome: Synchronous Diagnosis of Postirradiation Sarcoma, Cutaneous Relapse of a Previous Soft Tissue Sarcoma, and Lung Adenocarcinoma”, *Case Reports in Orthopedics*, vol. 2014, Article ID 597207, 6 pages, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/597207>
28. Cao Y. A case of rare metachronous four primary carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 149, 7471–7477 (2023). <https://doi.org/10.1007/s00432-023-04692-4>
29. Lu M, Zhang X, Chu Q, Chen Y, Zhang P. Susceptibility Genes Associated with Multiple Primary Cancers. *Cancers (Basel)*. 2023 Dec 10;15(24):5788. doi: 10.3390/cancers15245788. PMID: 38136334; PMCID: PMC10741435.
30. Birgersson M, Chi M, Miller C, Brzozowski JS, Brown J, Schofield L, Taylor OG, Pearsall EA, Hewitt J, Gedye C, Lincz LF, Skelding KA. A Novel Role for Brain and Acute Leukemia Cytoplasmic (BAALC) in Human Breast Cancer Metastasis. *Front Oncol*. 2021 Apr 22;11:656120. doi: 10.3389/fonc.2021.656120. PMID: 33968759; PMCID: PMC8101327.
31. Li S, Wu D, Jia H, Zhang Z. Long non-coding RNA LRRC75A-AS1 facilitates triple negative breast cancer cell proliferation and invasion via functioning as a ceRNA to modulate BAALC. *Cell Death Dis*. 2020 Aug 18;11(8):643. doi: 10.1038/s41419-020-02821-2. PMID: 32811810; PMCID: PMC7434919.
32. Jaenisch R, Schnieke A, Harbers K. Treatment of mice with 5-azacytidine efficiently activates silent retroviral genomes in different tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985 Mar;82(5):1451–5. doi: 10.1073/pnas.82.5.1451. PMID: 2579397; PMCID: PMC397280.
33. Baldus CD, Martus P, Burmeister T, Schwartz S, Gökbuget N, Bloomfield CD, Hoelzer D, Thiel E, Hofmann WK. Low ERG and BAALC expression identifies a new subgroup of adult acute T-lymphoblastic leukemia with a highly favorable outcome. *J Clin Oncol*. 2007 Aug 20;25(24):3739–45. doi: 10.1200/JCO.2007.11.5253. Epub 2007 Jul 23. PMID: 17646667.
34. Zhang S, Wang L, Cheng L. Aberrant ERG expression associates with downregulation of miR-4638-5p and selected genomic alterations in a subset of diffuse large B-cell lymphoma. *Molecular Carcinogenesis*. 2019; 58: 1846–1854. <https://doi.org/10.1002/mc.23074>

УСПЕШНО СЪХРАНЕНИЕ НА ФЕРТИЛИТЕТА ПРИ ПАЦИЕНТКИ С ОСТРА ЛИМФОБЛАСТНА ЛЕВКЕМИЯ

К. Милчева¹, М. Кайрякова², Г. Стаменов²

1 – Клиника по Хематология, СБАЛХЗ

2 – МБАЛ „Надежда“

SUCCESSFUL FERTILITY PRESERVATION IN PATIENTS WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

К. Milcheva¹, М. Kayryakova², G. Stamenov²

1 – Clinic of Hematology, SHATHD

2 – MBAL „Nadezhda“

Резюме. Успешното лечение на редица хематологични заболявания при млади пациенти поставя въпроса какви са възможностите за съхранение на фертилитета. Цитотоксичната терапия, вкл. лъчетерапията, както и реакция на графта срещу гостоприемника (graft versus host disease, GvHD) след аlogenна трансплантация на хемопетични стволови клетки (АЛОТХСК) могат да намалят репродуктивния потенциал на пациента и да причинят необратимо безплодие. Степента на увреждане на яйчниците при жените зависи от вида и дозите на използваните химиотерапевтици и/или лъчетерапия, изходния яйчников резерв и възрастта им. Целта на настоящето съобщение е да представим възможностите и предизвикателствата относно съхранението на фертилитета при пациентки с остра лимфобластна левкемия (ОЛЛ), които са в репродуктивна възраст, едновременно, в хода на тяхното диагностициране и лечение, извършени от мултидисциплинарен екип от медицински специалисти на Специализирана болница за активно лечение на хематологични заболявания - СБАЛХЗ и МБАЛ „Надежда“. Независимо от всички съпътстващи усложнения и необходимостта от бързо започване на противотуморна терапия, адекватната трансфузионна терапия, антиинфекциозна профилактика, своевременно консултация с репродуктивен специалист и инициране на контролирана овариална стимулация (КОС), дават този шанс. Ключова роля за цялостното реализиране на процеса имат добрата комуникация и сътрудничество между лекуващия хематолог, репродуктивния специалист и пациента. Съхранението на фертилитета при пациенти с онкохематологични заболявания е процедура, финансирана от ЦАР (Център за асистирана репродукция), основан през 2009 г., под името Фонд за асистирана репродукция.

Ключови думи: фертилитет, съхранение на яйцеклетки, остра лимфобластна левкемия, цитотоксична терапия, трансплантация

Abstract. The successful treatment of a number of hematological diseases in young patients raises the question concerning the possibility of fertility preservation. Cytotoxic therapy, incl. radiotherapy and graft-versus-host disease (GvHD) after allogeneic stem cell transplantation (AlloSCT), can reduce the patient's reproductive potential and cause irreversible infertility. The degree of ovarian damage in women depends on the type and the doses of chemotherapy and radiotherapy used and the baseline initial / starting point of the ovarian reserve. The aim of our report is to present the opportunities and challenges about preserving fertility in patients with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in reproductive age during the course of their diagnosis and treatment by a multidisciplinary team of medical specialists at the Specialized Hospital for Active Treatment of Hematological Diseases - SHATHD and MBAL „Nadezhda“. Regardless of all the concomitant complications and the need for urgent initiation of antitumor therapy, adequate transfusion therapy, anti-infective prophylaxis, timely consultation with a reproductive specialist and the initiation of controlled ovarian stimulation (COS), gives this chance. The key role of for the overall realization of this process, plays the good communication and cooperation between the hematologist, the reproductive specialist and the patient. Fertility preservation in patients with oncohematological diseases is a procedure funded by the CAR (Center for Assisted Reproduction), established in 2009 under the name of the Assisted Reproduction Fund.

Key words: fertility, ovocyte preservation, acute lymphoblastic leukemia, cytotoxic therapy, transplantation,

ВЪВЕДЕНИЕ

Успешното лечение и подобрена преживяемост при редица хематологични заболявания поставят въпроса относно възможностите за съхранение на фертилитета. По данни на Националните институти по здравеопазване (National Institutes of Health, NIH) пет годишна преживяемост на пациентите при хронична миелоидна левкемия (ХМЛ) е 70%, 72% при остра лимфобластна левкемия (ОЛЛ) и 88,9 % при лимфом на Ходжкин (ЛХ). Подобрят се резултатите и значимо намалява смъртността и сред младите възрастни [1]. Отбелязва се значим ръст на алогенните трансплантации на хемопоеични стволови клетки (АлoТХСК) през последните 10 години по данни на CIBMRT[2], като приблизително 500 000 ще бъдат преживелите АлoТХСК до 2030 г. [3]. Сред най-уязвимите системи от увреждащо въздействие на злокачествените заболявания и тяхното лечение е именно репродуктивната. Цитотоксичната терапия, вкл. лъчетерапията, а също така и GvHD след АлoТХСК, могат да намалят репродуктивния потенциал на пациентите и да причинят необратимо безплодие. Влияние оказва и свръхнатрупването на желязо при трансфузионно зависимите пациенти. Вероятността жена преживяла рак да успее да роди е с 18% по-ниска спрямо стандартната популация, а шансът за забременяване след АлoТХСК е 36 пъти по-малък [4,5]. Редица механизми стоят в основата на цитотоксичното увреждане на половата система и фертилитета. Степента на засягане на яйчниците и тяхната функция при жените зависи както от самото на онкохематологично заболяване, от вида и дозите на използваните химиотерапевтици и лъчетерапия, така и от възрастта на пациентката и изходния яйчников резерв. Същевременно трябва да отбележим и някои особености в онтогенетичното развитие на женската репродуктивна система. Жените се раждат с константен брой яйцеклетки, достигащ най-голям брой в 20 г.с. от развитието на женския плод, приблизително 7 милиона. Овариалните фоликули претърпяват стабилен процес на атрезия и броят им намалява до около 1 милион при раждането и продължава да се редуцира до менопаузата, когато „запасите“ от яйцеклетки са изчерпани [6,7]. Така броят на яйцеклетки при жените остава фиксиран за разлика от практически неограничения брой сперматозоиди, произведени от мъжете (при условие, че присъстват сперматогониални стволови клетки).

Това допълва предизвикателствата и проблемите пред лекуващия екип при съхранението на репродуктивния потенциал при жените в сравнение с противоположния пол.

ЦЕЛ

Да представим възможностите и предизвикателствата за съхранение на фертилитета при две пациентки с ОЛЛ в репродуктивна възраст, едновременно, в хода тяхното диагностициране и лечение, извършени от мултидисциплинарен екип от медицински специалисти на СБАЛХЗ и МБАЛ „Надежда“.

КЛИНИЧНИ СЛУЧАИ

Клиничен случай 1

32-годишна пациентка, която от начало на месец февруари 2022 г. е със ставно-мускулни болки, фебрилитет и обща отпадналост. Амбулаторно е изследвана ПКК, от която е с данни за лека анемия с Hb -118 g/L, левкоцитоза - 28 $10^9/l$ и нормален брой тромбоцити. Насочена е за консултация с хематолог в СБАЛХЗ. От лабораторните изследвания без чувствителна динамика в ПКК и е с нормални биохимия и хемостаза. Извършени са допълнителни изследвания: аспирация на костен мозък за цитологично, имунофлуориметрично (ИФТ) и генетични изследвания.

Заклучението от миелограмата е наличие на 78.6 % негранулирани бласти при нормо- до хиперцелуларен костен мозък. Популацията е фенотипизирана количествено и качествено като се установява 73% бластна популация с аберантен В-клетъчен фенотип, с коекспресия на миелоидни маркери CD13 и CD33. От генетичния анализ не установява наличие на най-честите молекулярни аномалии с клинична значимост при ОЛЛ. Материалът, обаче е недостатъчен за класически цитогенетичен анализ.

Приета е окончателна диагноза – остра В-лимфобластна левкемия, стандартен риск [8]. Започнато е лечение по протокол GMALL 07/2003 [9]. След оценка и проследяване на хематологичния риск, консултация с репродуктивен специалист и получено писмено информирано съгласие за инициране на процедура по асистирана репродукция от страна на пациентката, е иницирана КОС. За КОС е използван към протокол [10], базиран на GnRH антагонист, с продължителност 9 дни, при изходно ниво на антимюлеров хормон (anti-Muller hormone, AMH)- 1.63 ng/ml. След регулярно мониториране на хормоналния статус и фоликулното развитие чрез трансвагинална сонография, при пациентката е реализирана успешна аспирация на 7 яйцеклетки, от които годни за съхранение чрез витрификация бяха 4.

На фигура 1 е представен схематично и проследен в динамика цялостния процес, който интегрира диагностициране, противотуморна терапия, включваща префаза с кортикостероид, КОС и съхранение на замразени ооцити. През този период лабораторните показатели на пациентката остават стабилни, като стойностите са: Hb – 110 $10^9/l$, WBC – 29.9 $10^9/l$, PLT – 154 $10^9/l$ в деня на пункцията.

Към днешната дата пациентката продължава поддържащото си лечение, съгласно GMALL 03/2007, в добро общо състояние и пълна ремисия.

Клиничен случай 2

33-годишна пациентка, която през месец юли 2022 г., по повод на поява на преходни скотоми пред двете очи, е консултирана с офталмолог. Установяват се двустранно лек едем в двете макули, наличие на точковидни и петнисти хеморагии. Амбулаторно е изследвана ПКК, от която са установени: WBC - 164 $10^9/l$, Ly - 111.5 $10^9/l$, Hb – 131 $10^9/l$, PLT - 206 $10^9/l$. Насочена е за консултация с хематолог в СБАЛХЗ. От лабораторните изследвания е без клинично значима динамика в ПКК, а също така и с нормални биохимия и хемостаза. Извършени са допълнителни изследвания: аспирация на костен мозък за цитологично, ИФТ и генетично изследване.

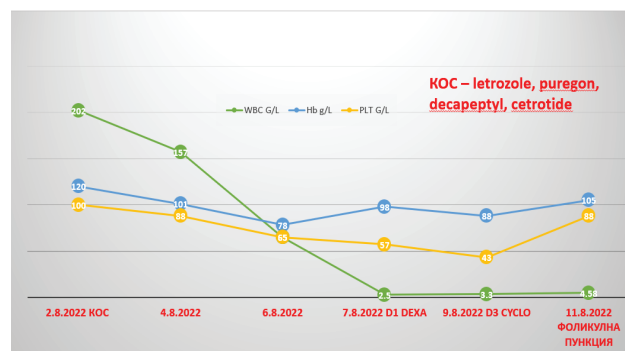
Заключението от миелограмата е остра лимфобластна левкемия с наличие на над 90 % негранулирани бласти при хиперцелуларен костен мозък. Популацията е фенотипизирана количествено и качествено като се установява 90% бластна популация с аберантен В -клетъчен фенотип. Генетичният анализ открива във всички анализирани метафазни пластини рекурентна за остра В-лимфобластна левкемия транслокация - t(4;11) (q21;q23). Молекулярно генетичното изследване потвърждава носителство на молекулярни еквиваленти на t(4;11) - MLL-AF4 (KMT2A-AFF1) транскрипти. Приета е окончателна диагноза – остра В-лимфобластна левкемия, висок риск. Започнато е лечение по протокол GMALL 07/2003 и са инициирани процедури за включване в трансплантационна програма. След оценка и проследяване на хематологичния риск, консултация с репродуктивен специалист и получено писмено информирано съгласие за инициране на процедура по асистирана репродукция от страна на пациентките, е стартирана КОС по къс протокол, с продължителност 9 дни, при изходно ниво на AMH – 6.79 ng/ml. След регулярно мониториране на хормоналния статус и фоликулното развитие чрез трансвагинална сонография, при пациентката беше реализирана успешна аспирация на 15 яйцеклетки, от които годни за съхранение чрез витрификация - 12.

На фигура 2 е представен схематично цялостния процес, интегриращ началото на КОС, профилактика на тумор лизис синдром, начало на противотуморна терапия, включваща префаза с кортикостероид, съхранение на замразени ооцити и проследени в динамика основните хематологични показатели. В деня на пункцията Hb – 105 $10^9/l$ след преливане на еритроцитен концентрат, поради спад до стойност от 78 $10^9/l$, WBC – 4.58 $10^9/l$, PLT – 88 $10^9/l$ след трансфузия на аферезен тромбоцитен концентрат, за да се осигури стойност на тромбоцитите над 50 $10^9/l$ в деня на пункцията, поради спадането им до 43 $10^9/l$.

Към днешната дата пациентката е в МРД +/- ремисия след реализирана АлоСКТ и продължава своето проследяване в отделението за трансплантация на хемопоеични стволови клетки към СБАЛХЗ.



Фигура 1. Успешно съхранение на фертилитета при пациентка с ОЛЛ, клиничен случай 1.



Фигура 2. Съхранение на фертилитета при пациентка с ОЛЛ, клиничен случай 2.

ДИСКУСИЯ

ОЛЛ е най-честото малигнено заболяване при деца и представлява 74% от случаите на педиатрична левкемия [11]. Средната възраст на диагностициране е 17 години, като около 17% от пациентите над 18 години са в репродуктивна възраст [12]. Лечението на ОЛЛ преминава през три фази – иднукция, консолидация и поддържане. Крайната оценка на риска, вкл. статус на минимална резидуална болест (МРД) се извършва след при-

ключване на идукционната фаза [13]. Младите пациенти със стандартен риск и/или МРД +/-, са показани за лечение с първа линия химиотерапия, вкл. краниална радиопрофилактика, базирана на комбинация от антиметаболит и винка алкалоид, които са с ниска гонадодоксичност.

Първият клиничен случай представя пациентка със стандартен риск ОЛЛ, лекувана по протокол

GMALL 07/2003 [9].

Редица механизми стоят в основата на химиотерапевтично (ХТ)-индуцираното увреждане на половата система. Най-силна токсичност имат алкилиращите цитостатици [14]. Рискът от гонадотоксичност на най-често използваната химиотерапевтици е показана в таблица 1 [15].

Заболяване	Често използвано лечение	Гонадотоксичен риск
Остра лимфобластна левкемия	Vincristine Corticosteroids Asparaginase Anthracycline	Нисък
Остра миелоидна левкемия	Cytarabine Anthracycline Fludarabine	Нисък
Хронична лимфоцитна левкемия	Fludarabine Cyclophosphamide Rituximab (anti-CD20 антитяло)	Нисък
Хронична миелоидна левкемия	Tyrosine kinase inhibitors	Нисък, но потенциално тератогенен
Класически лимфом на Ходжкин	ABVD (doxorubicin, bleomycin, vinblastine, dacarbazine) ± BEACOPP (bleomycin, etoposide, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, procarbazine, prednisolone) OEPA (vincristine, etoposide, prednisolone, and doxorubicin) COPDAC (cyclophosphamide, Vincristine, dacarbazine, prednisolone)	Нисък за ABVD, но висок за BEACOPP Нисък за OEPA и COPDAC
Неходжкинови лимфоми	CHOP (cyclophosphamide, hydroxydanuorubicin, oncovin, prednisolone) ± rituximab	Нисък
Сърповидно клетъчно заболяване	Hydroxyurea	Нисък, но потенциално тератогенен
Други доброкачествени и злокачествен хематологични заболявания	Трансплантация на хемопоеични стволови клетки с високо дозово кондициониране или целотелесно облъчване	Висок

Таблица 1. Терапевтично индуциран гонадотоксичен риск при лечение на хематологичните заболявания [15].

Добре известен факт е, че ХТ атакува преимуществено бързо делящите се клетки, каквито са именно клетките на зреещите фоликули. Най-уязвими са гранулозните клетки, които подхранват растящия фоликул, което води до смърт на яйцеклетката в него. Наблюдават се също апоптоза на примордиалния фоликул, атрофията на яйчниците и кортикалната фиброза [16-19]. Парadoxално, яйцеклетките в състояние на покой в примордиалните фоликули, се изчерпват с ускорено темпо, когато са изложени на химиотерапия. Примордиалните фоликули се активират по време на ХТ, преминават в по-уязвимо състояние на първиче или вторичен фоликул, което ги прави податливи на цитотоксично увреждане [20]. Няколко пътища, включително фосфатидилинозитол 3-киназа/PTEN/Akt, участват в активирането на примордиалния фоликул, предизвиквайки необратима и еднопосочна матурация до зрял фоликул, което при нормални обстоятелства води до овулация или атрезия. В миши модел циклофосфамидът задейства фосфатидилинозитол 3-киназния/PTEN/Akt път, индуциращ апоптоза на зреещи фоликули [21]. Съпътстващото намаляване на инхибиторните фактори, освобождавани от зреещите фоликули, причинява повишено активиране на примордиалните фоликули, с последващото им изчерпване [22].

Решението пациентката да бъде консултирана с репродуктивен специалист и последващото инициране на процедура за съхранение на яйцеклетки, се основаваше на следните съображения: продължителността на терапията – 104 седмици и рискът след приключване на лечението при постигане на дългосрочна ремисия, яйчниковият резерв на пациентката да бъде изчерпан и това да я лиши от възможността за създаване на потомство със собствен генетичен материал по естествен път или чрез асистирана репродукция.

Надеждната оценката на плодовитостта при жените е труден процес. Един от значимите проблеми, не само за жените след химо/лъчетерапия, е настъпването на преждевременната овариална недостатъчност (premature ovarian insufficiency, POF). POF може да се наблюдава дори при възстановен след ХТ менструален цикъл, поради деплеция на примордиалните фоликули [23-25]. Важно е да отбележим, че аменореята не е еквивалент на безплодие, и обратно, жени, които възобновяват менструалния цикъл може да имат компрометиран фертилитет. Често срещано и погрешно схващане е, че ако пациентката възстанови нормален менструален цикъл след ХТ, нейният яйчников резерв е непокътнат

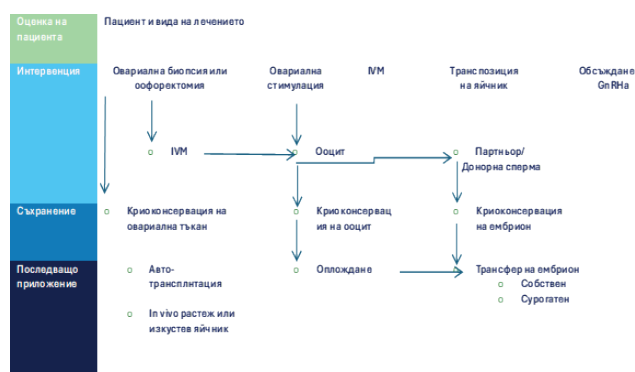
Именно състоянието на яйчниковия резерв, оценен чрез количеството фоликули, съдържащи ооцити, дава достоверна информация на фертилитет. По отношение на хормоналния статус, се смята, че нивата на АМН и броят на антралните фоликули, установен чрез трансвагинален ултразвук, дават по-точна информация в сравнение с нивата на естрадиол, фоликулостимулиращ хормон, лутеинизиращ хормон и цикличността на месечния цикъл при оценка на женската плодовитост. Голямо проучване сред онкологични пациентки, лекувани в детска възраст, с възстановен менструален цикъл до 21-годишна възраст, показва, че рискът от менопауза до 25-годишна възраст се увеличава 3,6 пъти, след абдоминална ЛТ, 9,2 пъти след ХТ, съдържаща алкилиращ агент и 27 пъти при тези получили комбинация от двете [26].

При пациентката в първия клиничен случай е реализирана КОС по къс протокол, базиран на GnRH, който се препоръчва при необходимост от инициране на спешна стимулация за кратко време и от съображения за безопасност [10].

Последвана е от фоликулна пункция с аспирация и съхранение на криоконсервирани ооцити, поради липсата на партньор, чрез ветрификация. Ветрификацията е предпочитан метод за криоконсервация с по-добри резултати по отношение преживяемост на ооцитите и ембрионите, оплождането и честотата на бременности [27].

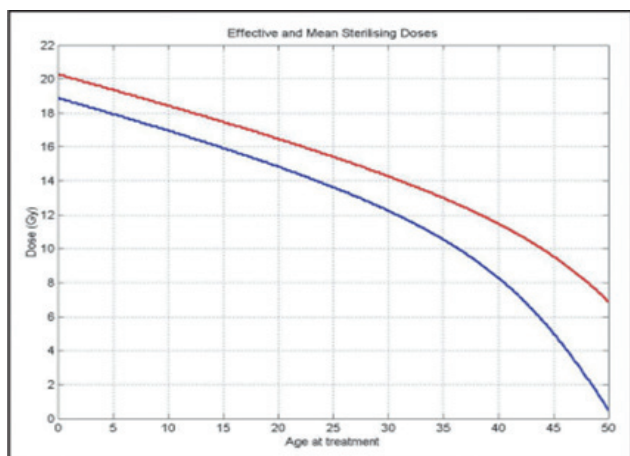
Комплексната оценка на риска, позволява процедурата да бъде реализирана при минимален риск, а префазата с кортикостероид предоставят свободен от химиотерапия прозорец, което допълнително улеснява иницирането на КОС.

Схематичен преглед на възможностите за запазване на женския фертилитет са представени на фигура 4, адаптирано от (Anderson et al., Lancet Diabetes Endocrinol 2015;3: 556-567.)



*IVM – in vitro съзряване

Фигура 4. Схематичен преглед на възможностите за запазване фертилитета.



Фигура 5. Ефективната (червена) и средната (синя) стерилизираща доза радиация за пациентки по възраст на лечението [34].

Криоконсервация на ооцит/ембрион

Златният стандарт за запазване на фертилитета при жените е криоконсервация на ооцити или ембриони след КОС с продължителност 10-14 дни. Често пъти лимитиран от критични за живота фактори, свързани със спецификата на остри хематологични неоплазии като: необходимостта от започване на противотуморна терапия в спешен порядък, тежки цитопении и нарушения в коагулацията, които правят отлагането на лечението и аспирирането на яйцеклетки рискови. Методът е неподходящ за момичета в предпубертетна възраст. Успеваемостта на процедурата зависи от възрастта на жената (честотата на анеуплоидия нараства с възрастта), метода на криоконсервация (бавно замразяване или ветрификация) и съпътстващата ендокринна или гинекологична патология. Проучване в САЩ демонстрира сходни кумулативни нива на бременност след трансфер - 37% при онкологични пациентки срещу 43% в контролите, съответстващи на възраст [29]. Честота на бременност след криоконсервация на ембриони при жени е сравнима с тези, които са подложени на лечение за безплодие при други индикации. Криоконсервацията на ооцити е подходяща при жени без партньор и в държави, които имат законови рестрикции за съхранението на ембриони. Повечето данни за бременности със замразен ооцит са при онкологични пациентки след използване на донорни яйцеклетки. Те показват сравнима честота на живораждаемост сравнени с бременности от свежи яйцеклетки, но мета анализ показва 25% по-ниска честота на бременност при използването на замразени [15]. Въпреки малкото публикувани данни, едноцентрово проучване демонстрира 44% честота на живи раждания при пациентки (на възраст 28-40 г.) със замразени яйцеклетки преди началото на онкологичната терапия [30].

Криоконсервация на яйчникова тъкан

Криоконсервацията на яйчникова тъкан може да бъде единствената опция за някои жени с хематологично заболяване. Процедурата може да си извърши веднага, без хормонална стимулация. Препоръчва се при пациентки, подложени на гонадотоксично лечение с умерен/висок риск, когато ооцит/ембрион криоконсервацията не е осъществима или по предпочитанията на пациентката. Чрез нея се съхранява не само фертилитетът, но и хормоналната секреция с положителните ефекти върху сърдечно-съдовата система, костната система и половата функция. Предизвикателствата пред тази техника са рискът от инфекция и кървене и възможността за замърсяване на тъканта със злокачествени клетки. Криоконсервацията на яйчникова тъкан не е подходяща при пациентки с нисък яйчников резерв ($AMH < 0.5 \text{ ng/ml}$ и $AFC < 5$) или в напреднала възраст, под въпрос е ефективността на процедурата при жени над 36-годишна възраст [10]. Докладвани са над 100 случая на автотрансплантация на яйчникова тъкан при пациентки с лимфом на Ходжкин, без нито един случай на рецидив [15]. Съобщенията при неходжкинов лимфом са по-ограничени. Първото родено бебе след трансплантация на криоконсервирана яйчникова тъкан при пациентка с левкемия е през 2018 г. [31]. Това е единствената възможност за запазване на фертилитета при предпубертетни момичета.

Агонисти на гонадотропин-освобождаващ хормон (Gonadotropin-Releasing Hormonal Agonist, GnRHa)

GnRHa осигуряват защита на яйчника по време на химиотерапията чрез потискане на яйчниковата функция. Механизмът на действие на GnRHa е неясен, а ефектът остава спорен. Положителният ефект на агонистите е доказан при пациентки с рак на гърдата. Повечето проучвания, оценяващи протективната роля на GnRHa, включват пациентки с хетерогенни характеристики, дефинират различни крайни точки, използват различен тип, доза и режим на приложението на медикаментите.

Скорошен мета анализ показва, че степента на персистираща аменорея е по-ниска при едновременно временна употреба на GnRHa с химиотерапия ($RR\ 0.60$, $95\% \text{ CI } 0.45-0.79$). Защитният ефект е по-силно изразен при ниско/средно интензивна ХТ. Подгруповият анализ на жени с лимфом разкрива, че едновременната употреба на GnRHa не е довела намаляване на вероятността от POF/аменорея ($RR\ 0.70$; $95\% \text{ CI } 0.45-0.79$) или спонтанна бременност ($RR\ 1.13$, $95\% \text{ CI } 0.66-1.93$) [32]. Cochrane анализ от 2019 г. съобщава подобни резултати като идентифицира по-висока честота на възстановяване на менструацията при проследя-

ване на пациентките за период до 12 месеца (RR 1,60, 95% CI 1.14–2.24) [33]. Под въпрос остава и дали лечението трябва да започне седмици преди химиотерапия, за да се гарантира, че е постигнато потискане на яйчниците, което е на практика е трудно. Освен това GnRHа не е подходяща опция при момичета преди пубертета. Приложението на GnRHа остава недоказан метод за защита на фертилитета при пациентки със злокачествени хематологични заболявания [15]. GnRH агонисти не трябва да се предлага рутинно като опция за защита на функцията на яйчниците и еквивалент или алтернатива за запазване на плодовитостта. Те могат да бъдат предложени след осъществяване на техники за криоконсервация или когато те не са възможни [10].

Безопасност на реимплантацията на яйчниковата тъкан

Основният проблем при този метод е рискът от контаминиране на яйчниковата тъкан с туморни клетки при злокачествените заболявания с хематологична дисеминация. Най-висок е рискът при пациентки с левкемия, следван от неходжкинови лимфоми, и чувствително по-нисък при солидни тумори и лимфом на Ходжкин. Според някои автори, събирането на яйчниковата тъкан за реимплантация изисква пациентката да е в състояние на доказана ремисия на злокачественото заболяване, включително МРД $-/-$, с достъпните методи за оценка – цитологично изследване, хистологично изследване с имунохистохимия, флуоцитометрия, NGS, RT-PCR. Скорошен обзор показва, че 61,0% от криоконсервираните овариални тъкани при пациентки с левкемия са PCR положителни. Дори в проби, събрани след химиотерапия, 52,2% от криоконсервираните овариални тъкани са PCR положителни, при чувствителност на метода до $\log 10^{-5}$ [15].

Бъдещи перспективи

Изоляция на фоликули с ин витро растеж (in vitro growing, IVG) и ин витро съзряване (in vitro maturation, IVM) може да осигури метод за възстановяване на плодовитостта без туморна контаминация в бъдеще, въпреки че няма да осигури хормоналното възстановяване, което е положителна черта на трансплантацията на яйчници. Друга бъдеща технология е 3D-принтиране [15].

Вторият клиничен случай представя пациентка във фертилна възраст с високо рискова ОЛЛ още към поставяне на диагнозата, преминала АлоТСК. При нея е реализирана КОС по къс протокол, поради липсата на партньор са съхранени криоконсервирани ооцити. Адекватната трансфузионна и

симптоматична терапия позволиха процедурата да бъде осъществена при минимален риск от усложнения.

Високо рисковите и/или МРД $+/-$ ОЛЛ, са показани за консолидация с АлоТСК, фигура 3. Мieloаблативното кондициониране (myeloablative conditioning, MAC) и възможните последствия от АлоСКТ, носят много висок рискът от безплодие. Целотелесното облъчване, което все още е златен стандарт в кондиционирането при ОЛЛ, също има стерилизиращ потенциал. Прогнозната медiana летална доза радиация за човешкия ооцит е по-малко от 2 Gy [34]. Ефективната стерилизираща доза (ESD) намалява с нарастване на възрастта и докато се оценява на 18,4 Gy при 10-годишна възраст, ESD е приблизително 14,3 Gy на 30-годишна възраст и само 6 Gy за жени над 40 години [34]. Това обяснява и наблюдението, че POF при жени, подложени на MAC кондициониране, е почти универсално, фигура 4.

Кондиционирането с намалена интензивност (reduced intensity conditioning, RIC) предлага само теоретична полза по отношение на запазването на фертилитета. Изборът на оптимална терапия трябва да се прецени внимателно, имайки предвид преимуществото на MAC при лечението на остри левкемии [35].

ИЗВОДИ

- ✓ Рискът от гонадотоксичност трябва да бъде оценен при всяка пациентка, на която и предстои гонадотоксична терапия.
- ✓ Всяка пациентка със злокачествено хематологично заболяване трябва да бъде консултирана с репродуктивен специалист.
- ✓ Съхранението на фертилитета при пациентки със хематологични неоплазии е възможно след внимателна преценка на риск/полза.
- ✓ Златен стандарт за съхранение на фертилитета при онкохематологични пациентки е криоконсервацията на ооцит/ембрион след провеждане на КОС с къс протокол.
- ✓ Криоконсервацията на яйчниковата тъкан е възможна, но при определени условия.
- ✓ Приложението на GnRHа остава недоказан метод за защита на фертилитета при пациентки със злокачествени хематологични заболявания. GnRH агонисти не трябва да се предлага рутинно като опция за защита на функцията на яйчниците и еквивалент или алтернатива за запазване на плодовитостта. Те могат да бъдат предложени след осъществяване на техники за криоконсервация или когато те не са възможни.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Въздействието на хематологичните неоплазии върху фертилитета е вариабилно и зависим от редици фактори. Водещо значение имат естеството на заболяването, режима и дозировката на приложените химиотерапевтични медикаменти, възрастта на пациентката и нивата на АМН. Гонадотоксичният риск трябва да бъде оценен при всяка пациентка, на която и предстои гонадотоксично лечение. Постиганията в областта на онкофертилитета правят възможно съхранението на репродуктивния потенциал при пациентките със злокачествени хематологични заболявания като ОЛЛ. Независимо от всички съпътстващи усложнения и необходимостта от бързо започване на противотуморна терапия, адекватната заместителна терапия, антиинфекциозна профилактика, своевременно консултация с репродуктивен специалист и инициране на КОС, дават този шанс. Ключова роля за цялостното реализиране на процеса имат добрата комуникация и сътрудничество между лекуващия хематолог, репродуктивния специалист и пациента. За съжаление 68% пациентите съобщават за липсата на разговор с лекуващия лекар относно проблемите, засягащи фертилитета [28].

Съхранението на фертилитета при пациенти с онкохематологични заболявания е процедура, финансирана от ЦАР (Център за асистирана репродукция), основан през 2009 г. под името Фонд за асистирана репродукция.

Благодарности

Благодарим на всички медицински специалисти и диагностични лаборатории от СБАЛХЗ и МБАЛ „Надежда“ за активното участие, подкрепата и грижа за пациентите за успешното реализирането на това начинание.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Камелия Милчева
СБАЛХЗ
Бул. „Климент Охридски“ 1А
1797 София, България
E-Mail: k.simeonova@hematology.bg

Corresponding author:

Dr. Kameliya Milcheva,
SBALHZ
1A Kliment Ohridski Blvd.
1797 Sofia, Bulgaria
E-Mail: k.simeonova@hematology.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Leukemia and Lymphoma Society. Facts 2018-2019. 2019 [updated 31/3/2019]. https://www.lls.org/sites/default/files/file_assets/PS80_Facts_Book_2018-19_FINAL.pdf
2. Cusatis R, Litovich C, Feng Z, Allbee-Johnson M, Shaw BE. Current Uses and Outcomes of Cellular Therapies: CIBMTR Summary Slides, 2023.
3. Saunders, Ila & Tan, Marisela & Koura, Divya & Young, Rebecca. (2020). Long Term Follow Up of Hematopoietic Stem Cell Transplant Survivors: A Focus on Screening, Monitoring, and Therapeutics. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 40. 10.1002/phar.2443.
4. EJ Chow, KL Stratton, WM Leisenring, et al. Pregnancy after chemotherapy in male and female survivors of childhood cancer treated between 1970 and 1999: a report from the Childhood Cancer Survivor Study cohort. *Lancet Oncol*, 17 (5) (2016), pp. 567-576
5. A Carter, LL Robison, L Francisco, et al. Prevalence of conception and pregnancy outcomes after hematopoietic cell transplantation: report from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Bone Marrow Transplant*, 37 (11) (2006), pp. 1023-1029
6. MJ Faddy, RG Gosden, A Gougeon, SJ Richardson, JF Nelson. Accelerated disappearance of ovarian follicles in mid-life: implications for forecasting menopause. *Hum Reprod*, 7 (10) (1992), pp. 1342-1346
7. D Meirrow, H Biederman, RA Anderson, WH Wallace. Toxicity of chemotherapy and radiation on female reproduction. *Clin Obstet Gynecol*, 53 (4) (2010), pp. 727-739. *Cancer Stat Facts: Leukemia — Acute Lymphocytic Leukemia (ALL)*. National Institutes of Health. Available at <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/allyl.html>. Accessed: April 13, 2023.
8. Carobolante F, Chiaretti S, Skert C, Bassan R. Practical guidance for the management of acute lymphoblastic leukemia in the adolescent and young adult population. *Therapeutic Advances in Hematology*. 2020;11. doi:10.1177/2040620720903531
9. Nicola Gökbüget, Renate Arnold, Angelika Böhme, Rainer Fietkau, Mathias Freund, Arnold Ganser, Michael Kneba, Thomas Lipp, Wolf-Dieter Ludwig, Georg Maschmeyer, Dorle Messerer, Harald Rieder, Eckard Thiel, Dieter Hoelzer; Improved Outcome in High Risk and Very High Risk ALL by Risk Adapted SCT and in Standard Risk ALL by Intensive Chemotherapy in 713 Adult ALL Patients Treated According to the Prospective GMAALL Study 07/2003. *Blood* 2007; 110 (11): 12. doi: <https://doi.org/10.1182/blood.V110.11.12.12>
10. The ESHRE Guideline Group on Female Fertility Preservation, Richard A Anderson, Frédéric Amant, Didi Braat, Arianna D'Angelo, Susana M Chuva de Sousa Lopes, Isabelle Demeestere, Sandra Dwek, Lucy Frith, Matteo Lambertini, Caroline Maslin, Mariana Moura-Ramos, Daniela Nogueira, Kenny Rodriguez-Wallberg, Nathalie Vermeulen, ESHRE guideline: female fertility preservation, *Human Reproduction Open*, Volume 2020, Issue 4, 2020, hoaa052, <https://doi.org/10.1093/hropen/hoaa052>
11. D. Hoelzer, R. Bassan, H. Dombret, A. Fielding, J. M. Ribera and C. Buske ESMO Clinical Practice Guideline – Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Ann Oncol* (2016) 27 (suppl 5): v69-v82. eUpdate 11 October 2023: ESMO Clinical Practice Guideline interim update on the use of targeted therapy in acute lymphoblastic leukaemia
12. Chapman RM, Sutcliffe SB, Malpas JS. Cytotoxic-induced ovarian failure in women with Hodgkin's disease. I. Hormone function. *JAMA*. 1979;242(17):1877-81.
13. Lui, Mw., Wallace, W.H.B., Anderson, R.A. (2022). Fertility Preservation Considerations in Female Patients with Benign and Malignant Hematologic Disease. In: Grynberg, M., Patrizio, P. (eds) *Female and Male Fertility Preservation*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-47767-7_17
14. Fasano G, Dechene J, Antonacci R, Biramane J, Vannin AS, Van Langendonck A, et al. Outcomes of immature oocytes collected from ovarian tissue for cryopreservation in adult and prepubertal patients. *Reprod Biomed Online*. 2017;34(6):575-82.
15. Salama M, Woodruff TK. New advances in ovarian autotransplantation to restore fertility in cancer patients. *Cancer Metastasis Rev*. 2015;34(4):807-22.
16. Amorim CA, Shikanov A. The artificial ovary: current status and future perspectives. *Future Oncol*. 2016;12(20):2323-32.
17. Chiti MC, Dolmans MM, Mortiaux L, Zhuge F, Ouni E, Shahri PAK, et al. A novel fibrin-based artificial ovary prototype resembling human ovarian tissue in terms of architecture and rigidity. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(1):41-8.
18. Shimoji S, Hashimoto D, Tsujigawa H, Miyawaki K, Kato K, Takahashi S, et al. Graft-versus-host disease targets ovary and causes female infertility in mice. *Blood*. 2017;129(9):1216-25.
19. Chiti MC, Dolmans MM, Orellana R, Soares M, Paulini F, Donnez J, et al. Influence of follicle stage on artificial ovary outcome using fibrin as a matrix. *Hum Reprod*. 2016;31(2):427-35.
20. Laronda MM, Rutz AL, Xiao S, Whelan KA, Duncan FE, Roth EW, et al. A bioprosthetic ovary created using 3D printed microporous scaffolds restores ovarian function in sterilized mice. *Nat Commun*. 2017;8:15261.
21. Short NJ, Jabbour E. Minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia: how to recognize and treat it. *Curr Oncol Rep*. 2017;19(1):6.
22. Soares M, Saussoy P, Maskens M, Reul H, Amorim CA, Donnez J, et al. Eliminating malignant cells from M.-w. Lui et al. 237 cryopreserved ovarian tissue is possible in leukaemia patients. *Br J Haematol*. 2017;178(2):231-9
23. Amiot C, Angelot-Delettre F, Zver T, Alvergnas-Vieille M, Saas P, Garnache-Ottou F, et al. Minimal residual disease detection of leukemic cells in ovarian cortex by eight-color flow cytometry. *Hum Reprod*. 2013;28(8):2157-67.

24. Anderson RA, Remedios R, Kirkwood AA, Patrick P, Stevens L, Clifton-Hadley L, et al. Determinants of ovarian function after response-adapted therapy in patients with advanced Hodgkin's lymphoma (RATHL): a secondary analysis of a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2018;19(10):1328–37.
25. Andre MPE, Girinsky T, Federico M, Reman O, Fortpied C, Gotti M, et al. Early positron emission tomography response-adapted treatment in stage I and II Hodgkin lymphoma: final results of the randomized EORTC/LYSA/FIL H10 trial. *J Clin Oncol.* 2017;35(16):1786–94.
26. Gallamini A, Tarella C, Viviani S, Rossi A, Patti C, Mule A, et al. Early chemotherapy intensification with escalated BEACOPP in patients with advancedstage Hodgkin lymphoma with a positive interim positron emission tomography/computed tomography scan after two ABVD cycles: long-term results of the GITIL/FIL HD 0607 trial. *J Clin Oncol.* 2018;36(5):454–62.
27. Alison Wakoff Loren, Suneeta Senapati, Fertility preservation in patients with hematologic malignancies and recipients of hematopoietic cell transplants, *Blood*, Volume 134, Issue 9, 2019, Pages 746–760, ISSN 0006-4971, <https://doi.org/10.1182/blood.2018846790>.
28. L Rienzi, C Gracia, R Maggiulli, et al. Oocyte, embryo and blastocyst cryopreservation in ART: systematic review and meta-analysis comparing slow-freezing versus vitrification to produce evidence for the development of global guidance. *Hum Reprod Update.* 23 (2) (2017), pp. 139–155.
29. WH Wallace, AB Thomson, F Saran, TW Kelsey, Predicting age of ovarian failure after radiation to a field that includes the ovaries. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 62 (3) (2005), pp. 738–744
30. Loren AW, Senapati S. Fertility preservation in patients with hematologic malignancies and recipients of hematopoietic cell transplants. *Blood.* 2019 Aug 29;134(9):746–760. doi: 10.1182/blood.2018846790. Epub 2019 Jul 10. PMID: 31292116.
31. Shapira M, Raanani H, Barshack I, Amariglio N, Derech-Haim S, Marciano MN, et al. First delivery in a leukemia survivor after transplantation of cryopreserved ovarian tissue, evaluated for leukemia cells contamination. *Fertil Steril.* 2018;109(1):48–53.
32. Senra JC, Roque M, Talim MCT, Reis FM, Tavares RLC. Gonadotropin-releasing hormone agonists for ovarian protection during cancer chemotherapy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;51(1):77–86.
33. Chen H, Xiao L, Li J, Cui L, Huang W. Adjuvant gonadotropin-releasing hormone analogues for the prevention of chemotherapy-induced premature ovarian failure in premenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019;(3):Cd008018.
34. A Panasiuk, S Nussey, P Veys, et al. Gonadal function and fertility after stem cell transplantation in childhood: comparison of a reduced intensity conditioning regimen containing melphalan with a myeloablative regimen containing busulfan. *Br J Haematol.* 170 (5) (2015), pp. 719–726
35. BL Scott, MC Pasquini, BR Logan, et al. Myeloablative versus reduced-intensity hematopoietic cell transplantation for acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol.* 35 (11) (2017), pp. 1154–1161

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ НА ДЕТЕ С ТЕЖКА ФОРМА НА АВТОИМУННА ХЕМОЛИТИЧНА АНЕМИЯ–ДИАГНОСТИЧНО И ТЕРАПЕВТИЧНО ПРЕДИЗВИКАТЕЛСТВО ЗА ТРАНСФУЗИОННАТА ТЕРАПИЯ

Й. Лазарова¹, М. Йорданова², Н. Юркова–Цакова², Е.Шурлиева¹

1 – Лаборатория по трансфузионна хематология, УМБАЛСМ „Н. И. Пирогов“, София, Медицински университет, София

2 – Клиника по детска клинична хематология и онкология, УМБАЛ “Ц. Йоанна–ИСУЛ“, София, Медицински университет, София

CLINICAL CASE OF A CHILD WITH SEVERE FORM OF AUTOIMMUNE HEMOLYTIC ANEMIA–DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC CHALLENGE FOR TRANSFUSION THERAPY

Y. Lazarova¹, M. Yordanova², N. Yurukova - Tsakova², E. Shurlieva¹

1 – Laboratory of transfusion hematology in University Hospital «N. I. Pirogov», Medical University, Sofia

2 – Paediatric Haematology and Oncology Department, University Hospital „Tzaritza Yoanna – ISUL“, Medical University, Sofia

Резюме. Автоимунната хемолитична анемия (АИХА) е рядко заболяване в детска възраст, като нейната честота при деца под 18 години е оценена на 0,81/100 000 годишно [1,3]. Италианската педиатрична асоциация по онкохематология съобщава за честота 0,2 случая/1 000 000 във възрастова група 4–8 години [2]. Може да е първична – свързана с инфекции, без подлежащо заболяване или вторична – асоциирана със заболявания с имунологичен или онкологичен характер. Според температурния оптимум на действие на авто-антиеритроцитните антитела и имуноглобулиновата им характеристика, АИХА се разделя на топъл, студов тип, пароксизмална студова хемоглобинурия и смесен тип. Не трябва да се забравят и атипичните форми на АИХА – Кумбс негативните форми и “топлата” Ig M АИХА. Имунохематологичната диагностика е основа за терапевтичното поведение и трансфузионна терапия. Панреактивните автоантитела, особено при широк температурен диапазон на действие, изискват ясно дефинирана диагностична и трансфузионна стратегия. Тежките форми на АИХА са предизвикателство както за имунохематолога, така и за клиничния хематолог при определяне на потенциалната необходимост, вида, обработката и ефекта от субституиращо кръвопреливане.

Ключови думи: автоимунна хемолитична анемия, детска възраст, имунохематологична диагностика, трансфузионна стратегия

Abstract. Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is a rare disease in childhood, with its incidence in children under 18 years estimate at 0.81/100,000 per year. The Italian Pediatric Association of Oncology and Hematology reports an incidence of 0.2 cases/1,000,000 in the age group 4–8 years. AIHA can be primary – associated with infections, without underlying disease - or secondary, associated with immunological or oncological disorders. Based on the thermal optimum of action of auto-antierythrocyte antibodies and their immunoglobulin characteristics, AIHA is classified into warm, cold type, paroxysmal cold hemoglobinuria, and mixed type. Atypical forms of AIHA, such as Coombs-negative forms and „warm“ IgM AIHA, should also be considered. Immunohematological diagnostics are fundamental for therapeutic management and transfusion therapy. Panreactive autoantibodies, especially those with a wide thermal range of action, require a well-defined diagnostic and transfusion strategy. Severe forms of AIHA present a challenge for both the immunohematologist and the clinical hematologist in determining the potential need, type, processing, and effect of substitutive blood transfusion.

Key words: autoimmune hemolytic anemia, childhood, immunohematology diagnosis, transfusion strategy

ВЪВЕДЕНИЕ

Диагнозата автоимунна хемолитична анемия (АИХА) е комплексна и включва набор от клинични, серологични и лабораторни показатели. От имунохематологичната диагностика директният

(ДАГТ) и диференцираният директен антиглобулинов тест (ДДАГТ) са определящи за имуноглобулиновата характеристика на фиксираните върху еритроцитната мембрана автоантитела. Свободните авто-антиеритроцитни антитела в серума, тяхната степен на активност, температурен диа-

пазон на действие, със или без специфичност, са индикатори за тежестта на хемолизата. Наличието или липсата на комплемент е една от насоките за избора на терапевтичен подход. Панреактивните автоантитела с максимална степен на активност се наблюдават при тежка форма на АИХА. Серологичният резултат и лабораторните изследвания, като брой левкоцити, морфология на еритроцити в периферна кръв, брой ретикулоцити, основните лабораторни индикатори за хемолитичен процес – хаптоглобин, индиректен билирубин и лактатдеhidрогеназа (LDH), са водещи за разграничаване на интравазална от екстравазална хемолиза. При топлия тип АИХА имунохематологичният резултат показва положителен ДАГТ за сметка на имуноглобулинов клас IgG (със или без участие на комплемент - C3d). При студовия тип се установява положителен ДАГТ за сметка на C3d-фракцията на комплемента като IgM автоантителата са комплемент фиксиращи антитела. При смесения тип АИХА положителният ДАГТ включва IgG/C3d, като титърът на студови автоантитела е 1:64 и по-висок. Не винаги тежестта на реакциите „in vitro“ корелира с тежестта на реакциите „in vivo“. Ретикулоцитозата отразява компенсаторно повишена еритропоеза, но не е изключено да се наблюдава ретикулоцитопения, свързана с антиеритроцитни антитела срещу прогенитори в костния мозък. Хемоглобинурията е индикатор за интравазална хемолиза. Изследване на костен мозък е необходимо при персистираща ретикулоцитопения, белези на миелодиспластичен синдром или съмнение за неопластичен процес. АИХА може да е свързана с други автоимунни заболявания, бактериални и вирусни инфекции, както и индуцирана от медикаменти.

Необходимостта от трансфузионна терапия се определя от клиничното състояние на пациента, тежестта на хемолизата, а при смесена имунизация (авто– с ало–антитела) се има предвид и специфичността на алоантителата.

В трансфузионната медицина определението за спешност за кръвопреливане се дефинира като:

- Извънредно спешно: в рамките на 10-15 мин.
- Много спешно: в рамките на 1 час
- Спешно: в рамките на 3 часа
- В рамките на същия ден
- По предварително определена дата и час (планово).

Необходимият претрансфузионен скрининг се определя от степента на спешност (Табл. 1):

Спешност	Претрансфузионен скрининг
<10 мин	Никакъв–прелива се O Rh D (-) отрицателен ЕК, ПЗП от група АВ
>10 мин	ABO, Rh(D) типизиране–преливат се кръвнорупово идентични ПЗП и ЕК без тест за съвместимост
>30 мин	Директна съвместимост или spin tube test (бърз епруветъчен тест)
> 45 мин	Стандартни тестове за съвместимост
> 60 min	Скрининг за антиеритроцитни антитела

Таблица 1. Претрансфузионен скрининг в условия на спешност

ЕК – еритроцитен концентрат; ПЗП – прясно замразена плазма

В условия на спешност е допустимо да се преливат АВО съвместими кръвни съставки с положителен резултат от разширените тестове за съвместимост. В случаите на неизвестна кръвна група на пациента се препоръчва преливане на еритроцитен концентрат от кръвна група O/Rh D отрицателна [4].

В случаите на тежка АИХА с максимална степен на активност на фиксирани и свободни в серума авто-антиеритроцитни антитела, технологичното време за изработване на пълния панел от: кръвна група, Rh фенотип, скрининг за антиеритроцитни антитела–ДАГТ (директен Coombs), ИАГТ (индиректен Coombs), аглутинационен и ензимен метод в авто- и ало–система, може да отнеме няколко часа. В тези случаи не е възможно да се даде резултат от имунохематологично изследване в рамките на 60 минути.

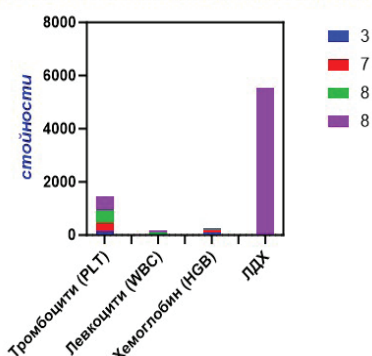
Представяме случай с тежка АИХА при дете, като илюстрация на трудностите при диагностиката на серологията и избора на трансфузионна стратегия.

КЛИНИЧЕН СЛУЧАЙ

Касает се за момиче на 4–годишна възраст, родено от втора, патологично протекла бременност, в състояние на тежка асфиксия. От 3-месечна възраст е с епилептични пристъпи. Диагностицирана е детска церебрална парализа (ДЦП) – квадрипаретичен синдром и симптоматична епилепсия. Прилага се терапия с Convulex и Repitend. През март 2021 г. е прекарала Ковид-19 инфекция, предизвикала епилептичен статус. През юни 2022 г. е про-

ведена корекция на сухожилия. Преди настоящето заболяване е установен фебрилитет от 38 °C, като 6 часа след него получава епилептичен пристъп. При хоспитализацията се установяват данни за респираторна инфекция и е започнато антибиотично и симптоматично лечение. Пациентката е изследвана за вируси – с отрицателен резултат за Грп А и В, за Адено-, RSV, SARS CoV-2 Ag. В хода на лечението, кръвната картина показва бързо нарастване в левкоцитния брой - от $3.38 \cdot 10^9/L$ до $76.81 \cdot 10^9/L$, паралелно със спад в стойностите на хемоглобина от 105 g/L до 23 g/L. Промените са свързани и със стръмно повишаване в стойностите на лактатдехидрогеназата - 5 500 U/L и клинично установима десатурация до 60% (Фиг.1).

Динамиката в изследванията на 3,7 и 8 ден(8 ден-двукратно)



Критично ниски стойности на хемоглобина и четирицифрена ЛДХ

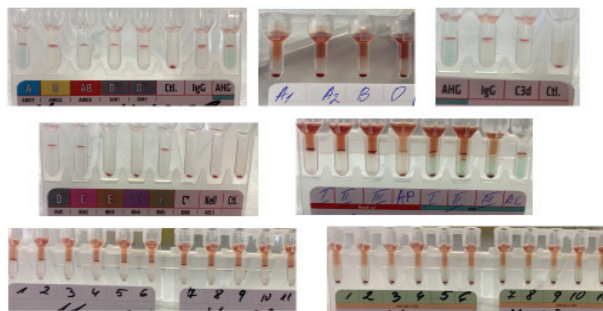
Фигура 1. Динамика в лабораторните показатели

Изпратена е кръвна проба за определяне на кръвна група, като официален резултат за кръвна група ABO/D не е даден, поради наличие на изявена панаглутинация. Положителният ДАГТ създава трудност при кръвноруповото типизиране. В еволюция клиничната картина се доминира от продължаващ спад на хемоглобина, влошаване на общото състояние, генерализирана бледост и иктер. Поради наличие на нетипични клетки при мануално диференциално броене, периферна натривка е изпратена за оценка от хематолог с подозрение за бласти. От кръвната натривка е установена левкоцитоза с екстремно олевяване до миелоцит, анизоцитоза, сфероцитоза, ядрени еритроцитни (Егу) елементи, наличие на еритробласти, вкл. много млади еритроидни форми и в единични полета Егу фрагменти и полета с аглутинация на Егу – т. нар. „монетни стълбове“. Допълнително се описва наличие на гигантски тромбоцити - активна тромбоцитогенеза. Картината е на левкоеритробластоза - активна компенсаторна реакция на хемопоезата при изявена деструкция на кръвни елементи. Не са открити патологични клетки, но са

открити единични лимфоцитни елементи с белези на активация. Препоръчано е да се преустанови препаратът Конвулекс, като възможна причина за тригериране на АИХА и са дадени препоръки за лечение на тежката автоимунна реакция.

От имунохематологичното изследване на кръвната проба от пациента при постъпване в Лаборатория по трансфузионна хематология към УМБАЛСМ „Н. И. Пирогов“ се установява следното:

- още с кръвноруповото типизиране (в мануална техника) се установи панаглутинация;
- ДАГТ е силно положителен, с максимална степен на активност от 4+;
- поради микроколичествата серум и еритроцити от пациента, за да се определи ABO/D кръвна група, се извърши десеткратно промиване на еритроцитите с физиологичен разтвор (за топен до температура 37 °C), като всяко трикратно измиване се контролираше до получаване на отрицателен резултат в авто-система по аглутинационен метод;
- от диференцирания ДАГТ с моноспецифичен антиглобулинов серум се установиха фиксирани авто-антиеритроцитни антитела за сметка на имуноглобулинов клас Ig G и участие на комплемент (C3d), като степента на активност беше 4+ (максимална степен на активност)
- освен това се доказаха и свободни авто-антиеритроцитни антитела в серума, силно активни по ензимен метод на 37 °C, с неопределена специфичност (панреактивни - реагират с целия панел тест-еритроцити). От направените скрининг и идентификация се установи отрицателен ИАГТ – не се доказаха свободни в серума авто-антиеритроцитни антитела, активни по ИАГТ.
- Кръвната група се определи като AB/Rh D(+) положителен с Rh фенотип CCDee Kell(-)отрицателен. Технологичното време, необходимо за имунохематологичната диагностика беше 1 час и 50 минути



Фигура №2. Имунохематологична диагностика – резултат:

- Кръвна група (AB/Rh D положителен), *диагностицирана* в колонноаглутинационна техника и ДДАГТ – силно положителен за сметка на Ig G+C3d
- Rh фенотип и скрининг за свободни в серума антиеритроцитни антитела – ензимен метод на 37 °C и ИАГТ – панреактивни авто-антиеритроцитни антитела в серума по ензимен метод и силно положителен ДАГТ с полиспецифичен антиглобулинов серум
- идентификация – доказателство за панреактивност на антителата по ензимен метод и от ново отрицателен ИАГТ

ОБСЪЖДАНЕ

Имунохематологичната диагностика на АИХА се основава на наличието на фиксирани върху еритроцитната мембрана авто-антиеритроцитни антитела - положителен ДАГТ и наличие на свободни в серума автоантитела, активни по ензимен метод, които в 34% от случаите са активни и по ИАГТ. Ако серум или елуат са отрицателни при ИАГТ, се търси предизвикана от медикаменти АИХА [2]. В повечето случаи откритият комплекс при ДАГТ е свързан със скрити Ig M антитела [3]. Освен това, Ig M автоантителата могат да имат широк температурен диапазон на действие - до 37 °C („топли“ Ig M), което се асоциира с тежка до фатално протичаща АИХА. Етиологията на АИХА може да е свързана с инфекции или медикаменти. Лекарствено индуцираната АИХА може да е резултат от различни механизми – хапенов, механизми на адсорбция, имунен/троен комплекс или механизъм на автоантитела.

Поддържащата трансфузионна терапия, независимо от причината за АИХА, е с фундаментално клинично значение. При панреактивност на автоантителата е невъзможно да се осигури съвместима кръв, но особено важно е да се изключи наличието на алоантитела. При пациенти без предшестващо кръвопреливане и при жени без предшестваща бременност рискът от наличие на алоантитела е нулев, което позволява да се преливат ABO и Rh D –идентични еритроцитни концентрати. В критични случаи кръвопреливането не трябва да се отлага поради несигурност в съвместимостта реципиент/донор [3]. Ако състоянието не позволява да се изчака резултата от имунохематологичната диагностика, по-добре е да се прелива O Rh D (-) отрицателен нискотитърен еритроцитен концентрат. Такова поведение е оправдано при дилемата приемане на риска от алоимунизация по отношение на Rh кръвнорупова система (както в нашия случай детето е с фенотип CCDee) пред риска от фатален изход при дълго изчакване на резултат от имунохематологичната диагностика и търсене на съвместима кръв. В случая бе не-

възможно осигуряването на напълно съвместима кръв по всички имунохематологични методи, поради панреактивността на автоантителата. Рискът от алоимунизация не е съпоставим с риска от неблагоприятен (фатален) клиничен изход за пациента. В подобни ситуации, когато е невъзможно да се получи резултат от имунохематологичната диагностика в продължение на часовете, необходими за изработване на пробите, е съществена ролята на трансфузионния хематолог, неговото заключение и препоръка за вида и спецификата на трансфузионната терапия. Понякога, въпреки поддържащата трансфузионна терапия, изходът от заболяването при тежки форми на АИХА може да е фатален, в резултат на фулминантния ход на хемолизата.

Част от страничните ефекти на някои медикаменти при лекарствено индуцирани АИХА могат да предизвикат усложнения, свързани с тежка токсичност на костния мозък [5,6]. Над 130 медикамента могат да са причина за лекарствено-индуцирана хемолитична анемия. За периода 2012-2018 г., във Франция е доказана асоциацията на имунна хемолитична анемия с още 59 медикамента от окончателния списък със 112 лекарства, които се предлагат на френския пазар [7].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тежките форми на АИХА както при деца, така и при възрастни, продължават да представляват проблем както за имунохематолога по отношение на диагностиката и избора на трансфузионна стратегия, така и за клинициста, който определя необходимостта и спешността на евентуалното кръвопреливане. В случаите на тежка хемолiza, кръвопреливането по витални индикации е наложително, като ролята на имунохематолога е да прецени риска от алоимунизация и съкращаване на времето, необходимо за осигуряване на приемлива единица кръв. Задължително е да не се губи време за намиране на съвместима кръв, което на практика е невъзможно при наличие на панреактивни авто-антиеритроцитни антитела, чиято специфичност не подлежи на определяне. Имунохематологичната диагностика и интерпретацията на имунохематологичния резултат са от решаващо значение за безопасността и ефективността на трансфузионната терапия, съответно за благоприятния изход при тежките АИХА.

Благодарности

Благодарности към Клиника по пневмология с отделение за интензивно лечение, СБАЛ по детски болести “Проф. Иван Митев”, София, Медицински университет–София за предоставените клинични и лабораторни данни.

Адрес за кореспонденция:

Д-р Йонка Лазарова, дм
Университетската Многопрофилна Болница
за Активно Лечение и Спешна Медицина „Н.И.
Пирогов“, София
Лаборатория по трансфузионна хематология
Бул. Тотлебен № 21, София, п.к. 1606
E-mail: jonka_kostadinova@abv.bg

Address for correspondence:

Dr Yonka Lazarova, PhD
University Hospital Active Treatment and Emergency
Medicine «N. I. Pirogov», Sofia
Laboratory of transfusion hematology
21 Tottleben Blvd 1606 Sofia, Bulgaria
E-mail: jonka_kostasinova@abv.bg

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Aladjidi N, Jutand MA, Beaubois C, Fernandes H, Jeanpetit J, Coureau G, et al. Reliable assessment of the incidence of childhood autoimmune hemolytic anemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2017; 64. [http://refhub.elsevier.com/S0268-960X\(19\)30162-6/rf0015](http://refhub.elsevier.com/S0268-960X(19)30162-6/rf0015)
2. Ladogana S et al. Diagnosis and management of newly diagnosed childhood autoimmune haemolytic anaemia. Recommendations from the Red Cell Study Group of the Paediatric Haemato-Oncology Italian Association. *Blood Transfus* 2017; 15: 259-67 DOI 10.2450/2016.0072-16
3. U. Jäger, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Reviews*, <https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.100648>
4. The Royal Children's Hospital Melbourne - Emergency Blood Release; https://www.rch.org.au/bloodtrans/blood_provision/Emergency_Blood_Release/#top:~:text=within%20these%20times.,Reference%2C%20BB%2DP%2D025,-Clinician%20Responsibilities
5. Kaczorowska-Hac B, Matheisel A, Maciejka-Kapuscinska L, Wisniewski J, Alska A, Adamkiewicz-Drozynska E, Balcerska A, Reszczyńska I. Anemia secondary to valproic acid therapy in a 13-year-old boy: a case report. *J Med Case Rep*. 2012 Aug 10; 6: 239. doi: 10.1186/1752-1947-6-239. PMID: 22883745; PMCID: PMC3469403.
6. Rahman A, Mican LM, Fischer C, Campbell AH. Evaluating the incidence of leukopenia and neutropenia with valproate, quetiapine, or the combination in children and adolescents. *Ann Pharmacother*. 2009; 43: 822–830. doi: 10.1345/aph.1L617.
7. Maquet J. et al. Drug-induced immune hemolytic anemia: detection of new signals and risk assessment in a nationwide cohort study. *Blood Adv* (2024) 8 (3): 817–826. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2023009801>
8. Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Provan D, Hill A, et al. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune, haemolytic anaemia. *Br J Haematol*. 2017; 177:208–20
9. Aladjidi N, Jutand MA, Beaubois C, Fernandes H, Jeanpetit J, Coureau G, et al. Reliable assessment of the incidence of childhood autoimmune hemolytic anemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64
10. Sokol RJ, Hewitt S, Stamps BK. Autoimmune haemolysis: an 18-year study of 865 cases referred to a regional transfusion centre. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1981; 282:2023–7
11. Arndt PA, Garratty G. The changing spectrum of drug-induced immune hemolytic anemia. *Semin Hematol*. 2005;42: 137–44.
12. Garratty G. Immune hemolytic anemia caused by drugs. *Expert Opin Drug Saf*. 2012; 11:635–42
13. Petz LD. "Least incompatible" units for transfusion in autoimmune hemolytic anemia: should we eliminate this meaningless term? A commentary for clinicians and transfusion medicine professionals. *Transfusion*. 2003; 43:1503–7.
14. Meny G. Review: transfusing incompatible RBCs—clinical aspects. *Immunohematology*. 2004; 20:161–6.
15. Michel M. Classification and therapeutic approaches in autoimmune hemolytic anemia: an update. *Expert Rev Hematol*. 2011; 4:607–18.
16. Zeerleder S. Autoimmune haemolytic anaemia - a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. *Neth J Med*. 2011; 69:177–84.
17. Meulenbroek EM, Wouters D, Zeerleder SS. Lyse or not to lyse: clinical significance of red blood cell autoantibodies. *Blood Rev*. 2015; 29:369–76.
18. Arndt PA, Leger RM, Garratty G. Serologic findings in autoimmune hemolytic anemia associated with immunoglobulin M warm autoantibodies. *Transfusion*. 2009; 49:235–42

ИЗИСКВАНИЯ КЪМ АВТОРИТЕ

актуализация 2024 г.

Редакционната колегия на списание ХЕМАТОЛОГИЯ се обръща към всички, които биха предложили материали за публикуване в списанието на дружеството, да спазват следните изисквания:

1. Ръкописите се представят и изпращат в електронен формат, написани на стандартни машинописни страници (около 30 реда, около 60-66 знака на ред, Times New Roman)
2. Имената на авторите (разположени под заглавието) са в порядъка: фамилия (изцяло изписана), собствено (съкратено с една буква и точка) и следвани от местоработата, **всичко изписано** на български и английски език.
3. Материалите не трябва да превишават следните размери:
 - **За Оригинални статии**, включително илюстрации и библиография (20-40 източника) без резюметата – 8-10 страници.
 - **За Обзори** – 10-15 страници (до 50 източника)
 - **За раздел “Казуистика”** (лечебни, диагностични методи и др.) – 3-5 страници (до 20 източника).
4. Всяка оригинална статия се представя на български и английски език и трябва да съдържа следните раздели: **резюме, ключови думи, увод, цел и задачи, материал и методи, резултати, обсъждане, заключение, библиография.**
5. Източниците се подреждат според реда на използването им в текста (не по азбучен ред). Цитиране на статии: Освен всички автори се приема и съкратено изписване на първите трима, последвано от “et al”, наименование на списанието в съкратен вид според Index Medicus, годишна на публикуване, том, месец, брой, страници. Цитиране на книги и монографии: Автори, заглавие, място на издаване, издателство, година на издаване, страници
6. Резюмето се представя на български и на английски език **в обем до 300 думи**. Резюмето трябва да съдържа имената на авторите, мес-

торабота, заглавието, както и ключови думи, всичко представено на български и английски език.

7. Всички картинки, таблици или схеми се изпращат по електронен път и се предоставят като отделни файлове във формат .jpeg, .bmp, png или .tiff, в **максимално добра** като качество резолюция, като имената на файловете на всяка картинка се изписват по адекватен начин, отговарящ на типа картинка и пореден номер – fig 1, tabl 1 или друго. Картинките трябва да са интегрирани и в текстовия файл на статията, за да се знае точното им местоположение. Моля да се има предвид, че всички картинки, таблици или схеми се отпечатват черно-бели. Електронният вариант на списанието, който се публикува в сайта на БМСХ (www.bulgarian-hematology.com) е в цветен вариант, считано от 2020 г.
8. В края на статията или на отделен файл се посочват трите имена на водещия автор и адресът за кореспонденция, електронен адрес и телефон за връзка.
9. Всички материали се изпращат на електронните адреси на главния редактор проф. Стефан Горанов: stefangoranov@yahoo.com или на научния секретар проф. Веселина Горанова – Маринова: veselina_goranova@yahoo.com

Напомняме на всички, че списание ХЕМАТОЛОГИЯ се реферира в международния обмен, с което можете да изпълните съответните изисквания за Вашата бъдеща или предстояща хабилизация.

УДЪЛЖАВАНЕ НА КРИВАТА НА ПРЕЖИВЯЕМОСТТА

с **IMBRUVICA**®

+ **venetoclax**^{2,3}

Защото животът е абсолютната крайна точка⁴⁻⁷

Първата изцяло перорална, таргетна терапия с фиксирана продължителност на първа линия при CLL.^{2,3}

IMBRUVICA[®] 140 mg TBPAAT1 Kancymt AKnltbHO BEWECTBO. BpKa TBbpaA Kancyna CbAbpKa 140 mg 1bpy11Hb6 (brutinib). 80R3-411m1bafaraneTKa CbAbpKa 140 mg, 280 mg, 420 mg, 560 mg, 700 mg, 840 mg, 980 mg, 1120 mg, 1260 mg, 1400 mg, 1540 mg, 1680 mg, 1820 mg, 1960 mg, 2100 mg, 2240 mg, 2380 mg, 2520 mg, 2660 mg, 2800 mg, 2940 mg, 3080 mg, 3220 mg, 3360 mg, 3500 mg, 3640 mg, 3780 mg, 3920 mg, 4060 mg, 4200 mg, 4340 mg, 4480 mg, 4620 mg, 4760 mg, 4900 mg, 5040 mg, 5180 mg, 5320 mg, 5460 mg, 5600 mg, 5740 mg, 5880 mg, 6020 mg, 6160 mg, 6300 mg, 6440 mg, 6580 mg, 6720 mg, 6860 mg, 7000 mg, 7140 mg, 7280 mg, 7420 mg, 7560 mg, 7700 mg, 7840 mg, 7980 mg, 8120 mg, 8260 mg, 8400 mg, 8540 mg, 8680 mg, 8820 mg, 8960 mg, 9100 mg, 9240 mg, 9380 mg, 9520 mg, 9660 mg, 9800 mg, 9940 mg, 10080 mg, 10220 mg, 10360 mg, 10500 mg, 10640 mg, 10780 mg, 10920 mg, 11060 mg, 11200 mg, 11340 mg, 11480 mg, 11620 mg, 11760 mg, 11900 mg, 12040 mg, 12180 mg, 12320 mg, 12460 mg, 12600 mg, 12740 mg, 12880 mg, 13020 mg, 13160 mg, 13300 mg, 13440 mg, 13580 mg, 13720 mg, 13860 mg, 14000 mg, 14140 mg, 14280 mg, 14420 mg, 14560 mg, 14700 mg, 14840 mg, 14980 mg, 15120 mg, 15260 mg, 15400 mg, 15540 mg, 15680 mg, 15820 mg, 15960 mg, 16100 mg, 16240 mg, 16380 mg, 16520 mg, 16660 mg, 16800 mg, 16940 mg, 17080 mg, 17220 mg, 17360 mg, 17500 mg, 17640 mg, 17780 mg, 17920 mg, 18060 mg, 18200 mg, 18340 mg, 18480 mg, 18620 mg, 18760 mg, 18900 mg, 19040 mg, 19180 mg, 19320 mg, 19460 mg, 19600 mg, 19740 mg, 19880 mg, 20020 mg, 20160 mg, 20300 mg, 20440 mg, 20580 mg, 20720 mg, 20860 mg, 21000 mg, 21140 mg, 21280 mg, 21420 mg, 21560 mg, 21700 mg, 21840 mg, 21980 mg, 22120 mg, 22260 mg, 22400 mg, 22540 mg, 22680 mg, 22820 mg, 22960 mg, 23100 mg, 23240 mg, 23380 mg, 23520 mg, 23660 mg, 23800 mg, 23940 mg, 24080 mg, 24220 mg, 24360 mg, 24500 mg, 24640 mg, 24780 mg, 24920 mg, 25060 mg, 25200 mg, 25340 mg, 25480 mg, 25620 mg, 25760 mg, 25900 mg, 26040 mg, 26180 mg, 26320 mg, 26460 mg, 26600 mg, 26740 mg, 26880 mg, 27020 mg, 27160 mg, 27300 mg, 27440 mg, 27580 mg, 27720 mg, 27860 mg, 28000 mg, 28140 mg, 28280 mg, 28420 mg, 28560 mg, 28700 mg, 28840 mg, 28980 mg, 29120 mg, 29260 mg, 29400 mg, 29540 mg, 29680 mg, 29820 mg, 29960 mg, 30100 mg, 30240 mg, 30380 mg, 30520 mg, 30660 mg, 30800 mg, 30940 mg, 31080 mg, 31220 mg, 31360 mg, 31500 mg, 31640 mg, 31780 mg, 31920 mg, 32060 mg, 32200 mg, 32340 mg, 32480 mg, 32620 mg, 32760 mg, 32900 mg, 33040 mg, 33180 mg, 33320 mg, 33460 mg, 33600 mg, 33740 mg, 33880 mg, 34020 mg, 34160 mg, 34300 mg, 34440 mg, 34580 mg, 34720 mg, 34860 mg, 35000 mg, 35140 mg, 35280 mg, 35420 mg, 35560 mg, 35700 mg, 35840 mg, 35980 mg, 36120 mg, 36260 mg, 36400 mg, 36540 mg, 36680 mg, 36820 mg, 36960 mg, 37100 mg, 37240 mg, 37380 mg, 37520 mg, 37660 mg, 37800 mg, 37940 mg, 38080 mg, 38220 mg, 38360 mg, 38500 mg, 38640 mg, 38780 mg, 38920 mg, 39060 mg, 39200 mg, 39340 mg, 39480 mg, 39620 mg, 39760 mg, 39900 mg, 40040 mg, 40180 mg, 40320 mg, 40460 mg, 40600 mg, 40740 mg, 40880 mg, 41020 mg, 41160 mg, 41300 mg, 41440 mg, 41580 mg, 41720 mg, 41860 mg, 42000 mg, 42140 mg, 42280 mg, 42420 mg, 42560 mg, 42700 mg, 42840 mg, 42980 mg, 43120 mg, 43260 mg, 43400 mg, 43540 mg, 43680 mg, 43820 mg, 43960 mg, 44100 mg, 44240 mg, 44380 mg, 44520 mg, 44660 mg, 44800 mg, 44940 mg, 45080 mg, 45220 mg, 45360 mg, 45500 mg, 45640 mg, 45780 mg, 45920 mg, 46060 mg, 46200 mg, 46340 mg, 46480 mg, 46620 mg, 46760 mg, 46900 mg, 47040 mg, 47180 mg, 47320 mg, 47460 mg, 47600 mg, 47740 mg, 47880 mg, 48020 mg, 48160 mg, 48300 mg, 48440 mg, 48580 mg, 48720 mg, 48860 mg, 49000 mg, 49140 mg, 49280 mg, 49420 mg, 49560 mg, 49700 mg, 49840 mg, 49980 mg, 50120 mg, 50260 mg, 50400 mg, 50540 mg, 50680 mg, 50820 mg, 50960 mg, 51100 mg, 51240 mg, 51380 mg, 51520 mg, 51660 mg, 51800 mg, 51940 mg, 52080 mg, 52220 mg, 52360 mg, 52500 mg, 52640 mg, 52780 mg, 52920 mg, 53060 mg, 53200 mg, 53340 mg, 53480 mg, 53620 mg, 53760 mg, 53900 mg, 54040 mg, 54180 mg, 54320 mg, 54460 mg, 54600 mg, 54740 mg, 54880 mg, 55020 mg, 55160 mg, 55300 mg, 55440 mg, 55580 mg, 55720 mg, 55860 mg, 56000 mg, 56140 mg, 56280 mg, 56420 mg, 56560 mg, 56700 mg, 56840 mg, 56980 mg, 57120 mg, 57260 mg, 57400 mg, 57540 mg, 57680 mg, 57820 mg, 57960 mg, 58100 mg, 58240 mg, 58380 mg, 58520 mg, 58660 mg, 58800 mg, 58940 mg, 59080 mg, 59220 mg, 59360 mg, 59500 mg, 59640 mg, 59780 mg, 59920 mg, 60060 mg, 60200 mg, 60340 mg, 60480 mg, 60620 mg, 60760 mg, 60900 mg, 61040 mg, 61180 mg, 61320 mg, 61460 mg, 61600 mg, 61740 mg, 61880 mg, 62020 mg, 62160 mg, 62300 mg, 62440 mg, 62580 mg, 62720 mg, 62860 mg, 63000 mg, 63140 mg, 63280 mg, 63420 mg, 63560 mg, 63700 mg, 63840 mg, 63980 mg, 64120 mg, 64260 mg, 64400 mg, 64540 mg, 64680 mg, 64820 mg, 64960 mg, 65100 mg, 65240 mg, 65380 mg, 65520 mg, 65660 mg, 65800 mg, 65940 mg, 66080 mg, 66220 mg, 66360 mg, 66500 mg, 66640 mg, 66780 mg, 66920 mg, 67060 mg, 67200 mg, 67340 mg, 67480 mg, 67620 mg, 67760 mg, 67900 mg, 68040 mg, 68180 mg, 68320 mg, 68460 mg, 68600 mg, 68740 mg, 68880 mg, 69020 mg, 69160 mg, 69300 mg, 69440 mg, 69580 mg, 69720 mg, 69860 mg, 70000 mg, 70140 mg, 70280 mg, 70420 mg, 70560 mg, 70700 mg, 70840 mg, 70980 mg, 71120 mg, 71260 mg, 71400 mg, 71540 mg, 71680 mg, 71820 mg, 71960 mg, 72100 mg, 72240 mg, 72380 mg, 72520 mg, 72660 mg, 72800 mg, 72940 mg, 73080 mg, 73220 mg, 73360 mg, 73500 mg, 73640 mg, 73780 mg, 73920 mg, 74060 mg, 74200 mg, 74340 mg, 74480 mg, 74620 mg, 74760 mg, 74900 mg, 75040 mg, 75180 mg, 75320 mg, 75460 mg, 75600 mg, 75740 mg, 75880 mg, 76020 mg, 76160 mg, 76300 mg, 76440 mg, 76580 mg, 76720 mg, 76860 mg, 77000 mg, 77140 mg, 77280 mg, 77420 mg, 77560 mg, 77700 mg, 77840 mg, 77980 mg, 78120 mg, 78260 mg, 78400 mg, 78540 mg, 78680 mg, 78820 mg, 78960 mg, 79100 mg, 79240 mg, 79380 mg, 79520 mg, 79660 mg, 79800 mg, 79940 mg, 80080 mg, 80220 mg, 80360 mg, 80500 mg, 80640 mg, 80780 mg, 80920 mg, 81060 mg, 81200 mg, 81340 mg, 81480 mg, 81620 mg, 81760 mg, 81900 mg, 82040 mg, 82180 mg, 82320 mg, 82460 mg, 82600 mg, 82740 mg, 82880 mg, 83020 mg, 83160 mg, 83300 mg, 83440 mg, 83580 mg, 83720 mg, 83860 mg, 84000 mg, 84140 mg, 84280 mg, 84420 mg, 84560 mg, 84700 mg, 84840 mg, 84980 mg, 85120 mg, 85260 mg, 85400 mg, 85540 mg, 85680 mg, 85820 mg, 85960 mg, 86100 mg, 86240 mg, 86380 mg, 86520 mg, 86660 mg, 86800 mg, 86940 mg, 87080 mg, 87220 mg, 87360 mg, 87500 mg, 87640 mg, 87780 mg, 87920 mg, 88060 mg, 88200 mg, 88340 mg, 88480 mg, 88620 mg, 88760 mg, 88900 mg, 89040 mg, 89180 mg, 89320 mg, 89460 mg, 89600 mg, 89740 mg, 89880 mg, 90020 mg, 90160 mg, 90300 mg, 90440 mg, 90580 mg, 90720 mg, 90860 mg, 91000 mg, 91140 mg, 91280 mg, 91420 mg, 91560 mg, 91700 mg, 91840 mg, 91980 mg, 92120 mg, 92260 mg, 92400 mg, 92540 mg, 92680 mg, 92820 mg, 92960 mg, 93100 mg, 93240 mg, 93380 mg, 93520 mg, 93660 mg, 93800 mg, 93940 mg, 94080 mg, 94220 mg, 94360 mg, 94500 mg, 94640 mg, 94780 mg, 94920 mg, 95060 mg, 95200 mg, 95340 mg, 95480 mg, 95620 mg, 95760 mg, 95900 mg, 96040 mg, 96180 mg, 96320 mg, 96460 mg, 96600 mg, 96740 mg, 96880 mg, 97020 mg, 97160 mg, 97300 mg, 97440 mg, 97580 mg, 97720 mg, 97860 mg, 98000 mg, 98140 mg, 98280 mg, 98420 mg, 98560 mg, 98700 mg, 98840 mg, 98980 mg, 99120 mg, 99260 mg, 99400 mg, 99540 mg, 99680 mg, 99820 mg, 99960 mg, 100000 mg, 100040 mg, 100080 mg, 100120 mg, 100160 mg, 100200 mg, 100240 mg, 100280 mg, 100320 mg, 100360 mg, 100400 mg, 100440 mg, 100480 mg, 100520 mg, 100560 mg, 100600 mg, 100640 mg, 100680 mg, 100720 mg, 100760 mg, 100800 mg, 100840 mg, 100880 mg, 100920 mg, 100960 mg, 101000 mg, 101040 mg, 101080 mg, 101120 mg, 101160 mg, 101200 mg, 101240 mg, 101280 mg, 101320 mg, 101360 mg, 101400 mg, 101440 mg, 101480 mg, 101520 mg, 101560 mg, 101600 mg, 101640 mg, 101680 mg, 101720 mg, 101760 mg, 101800 mg, 101840 mg, 101880 mg, 101920 mg, 101960 mg, 102000 mg, 102040 mg, 102080 mg, 102120 mg, 102160 mg, 102200 mg, 102240 mg, 102280 mg, 102320 mg, 102360 mg, 102400 mg, 102440 mg, 102480 mg, 102520 mg, 102560 mg, 102600 mg, 102640 mg, 102680 mg, 102720 mg, 102760 mg, 102800 mg, 102840 mg, 102880 mg, 102920 mg, 102960 mg, 103000 mg, 103040 mg, 103080 mg, 103120 mg, 103160 mg, 103200 mg, 103240 mg, 103280 mg, 103320 mg, 103360 mg, 103400 mg, 103440 mg, 103480 mg, 103520 mg, 103560 mg, 103600 mg, 103640 mg, 103680 mg, 103720 mg, 103760 mg, 103800 mg, 103840 mg, 103880 mg, 103920 mg, 103960 mg, 104000 mg, 104040 mg, 104080 mg, 104120 mg, 104160 mg, 104200 mg, 104240 mg, 104280 mg, 104320 mg, 104360 mg, 104400 mg, 104440 mg, 104480 mg, 104520 mg, 104560 mg, 104600 mg, 104640 mg, 104680 mg, 104720 mg, 104760 mg, 104800 mg, 104840 mg, 104880 mg, 104920 mg, 104960 mg, 105000 mg, 105040 mg, 105080 mg, 105120 mg, 105160 mg, 105200 mg, 105240 mg, 105280 mg, 105320 mg, 105360 mg, 105400 mg, 105440 mg, 105480 mg, 105520 mg, 105560 mg, 105600 mg, 105640 mg, 105680 mg, 105720 mg, 105760 mg, 105800 mg, 105840 mg, 105880 mg, 105920 mg, 105960 mg, 106000 mg, 106040 mg, 106080 mg, 106120 mg, 106160 mg, 106200 mg, 106240 mg, 106280 mg, 106320 mg, 106360 mg, 106400 mg, 106440 mg, 106480 mg, 106520 mg, 106560 mg, 106600 mg, 106640 mg, 106680 mg, 106720 mg, 106760 mg, 106800 mg, 106840 mg, 106880 mg, 106920 mg, 106960 mg, 107000 mg, 107040 mg, 107080 mg, 107120 mg, 107160 mg, 107200 mg, 107240 mg, 107280 mg, 107320 mg, 107360 mg, 107400 mg, 107440 mg, 107480 mg, 107520 mg, 107560 mg, 107600 mg, 107640 mg, 107680 mg, 107720 mg, 107760 mg, 107800 mg, 107840 mg, 107880 mg, 107920 mg, 107960 mg, 108000 mg, 108040 mg, 108080 mg, 108120 mg, 108160 mg, 108200 mg, 108240 mg, 108280 mg, 108320 mg, 108360 mg, 108400 mg, 108440 mg, 108480 mg, 108520 mg, 108560 mg, 108600 mg, 108640 mg, 108680 mg, 108720 mg, 108760 mg, 108800 mg, 108840 mg, 108880 mg, 108920 mg, 108960 mg, 109000 mg, 109040 mg, 109080 mg, 109120 mg, 109160 mg, 109200 mg, 109240 mg, 109280 mg, 109320 mg, 109360 mg, 109400 mg, 109440 mg, 109480 mg, 109520 mg, 109560 mg, 109600 mg, 109640 mg, 109680 mg, 109720 mg, 109760 mg, 109800 mg, 109840 mg, 109880 mg, 109920 mg, 109960 mg, 110000 mg, 110040 mg, 110080 mg, 110120 mg, 110160 mg, 110200 mg, 110240 mg, 110280 mg, 110320 mg, 110360 mg, 110400 mg, 110440 mg, 110480 mg, 110520 mg, 110560 mg, 110600 mg, 110640 mg, 110680 mg, 110720 mg, 110760 mg, 110800 mg, 110840 mg, 110880 mg, 110920 mg, 110960 mg, 111000 mg, 111040 mg, 111080 mg, 111120 mg, 111160 mg, 111200 mg, 111240 mg, 111280 mg, 111320 mg, 111360 mg, 111400 mg, 111440 mg, 111480 mg, 111520 mg, 111560 mg, 111600 mg, 111640 mg, 111680 mg, 111720 mg, 111760 mg, 111800 mg, 111840 mg, 111880 mg, 111920 mg, 111960 mg, 112000 mg, 112040 mg, 112080 mg, 112120 mg, 112160 mg, 112200 mg, 112240 mg, 112280 mg, 112320 mg, 112360 mg, 112400 mg, 112440 mg, 112480 mg, 112520 mg, 112560 mg, 112600 mg, 112640 mg, 112680 mg, 112720 mg, 112760 mg, 112800 mg, 112840 mg, 112880 mg, 112920 mg, 112960 mg, 113000 mg, 113040 mg, 113080 mg, 113120 mg, 113160 mg, 113200 mg, 113240 mg, 113280 mg, 113320 mg, 113360 mg, 113400 mg, 113440 mg, 113480 mg, 113520 mg, 113560 mg, 113600 mg, 113640 mg, 113680 mg, 113720 mg, 113760 mg, 113800 mg, 113840 mg, 113880 mg, 113920 mg, 113960 mg, 114000 mg, 114040 mg, 114080 mg, 114120 mg, 114160 mg, 114200 mg, 114240 mg, 114280 mg, 114320 mg, 114360 mg, 114400 mg, 114440 mg, 114480 mg, 114520 mg, 114560 mg, 114600 mg, 114640 mg, 114680 mg, 114720 mg, 114760 mg, 114800 mg, 114840 mg, 114880 mg, 114920 mg, 114960 mg, 115000 mg, 115040 mg, 115080 mg, 115120 mg, 115160 mg, 115200 mg, 115240 mg, 115280 mg, 115320 mg, 115360 mg, 115400 mg, 115440 mg, 115480 mg, 115520 mg, 115560 mg, 115600 mg, 115640 mg, 115680 mg, 115720 mg, 115760 mg, 115800 mg, 115840 mg, 115880 mg, 115920 mg, 115960 mg, 116000 mg, 116040 mg, 116080 mg, 116120 mg, 116160 mg, 116200 mg, 116240 mg, 116280 mg, 116320 mg, 116360 mg, 116400 mg, 116440 mg, 116480 mg, 116520 mg, 116560 mg, 116600 mg, 116640 mg, 116680 mg, 116720 mg, 116760 mg, 116800 mg, 116840 mg, 116880 mg, 116920 mg, 116960 mg, 117000 mg, 117040 mg, 117080 mg, 117120 mg, 117160 mg, 117200 mg, 117240 mg, 117280 mg, 117320 mg, 117360 mg, 117400 mg, 117440 mg, 117480 mg, 117520 mg, 117560 mg, 117600 mg, 117640 mg, 117680 mg, 117720 mg, 117760 mg, 117800 mg, 117840 mg, 117880 mg, 117920 mg, 117960 mg, 118000 mg, 118040 mg, 118080 mg, 118120 mg, 118160 mg, 118200 mg, 118240 mg, 118280 mg, 118320 mg, 118360 mg, 118400 mg, 118440 mg, 118480 mg, 118520 mg, 118560 mg, 118600 mg, 118640 mg, 118680 mg, 118720 mg, 118760 mg, 118800 mg, 118840 mg, 118880 mg, 118920 mg, 118960 mg, 119000 mg, 119040 mg, 119080 mg, 119120 mg, 119160 mg, 119200 mg, 119240 mg, 119280 mg, 119320 mg, 119360 mg, 119400 mg, 119440 mg, 119480 mg, 119520 mg, 119560 mg, 119600 mg, 119640 mg, 119680 mg, 119720 mg, 119760 mg, 119800 mg, 119840 mg, 119880 mg, 119920 mg, 119960 mg, 120000 mg, 120040 mg, 120080 mg, 120120 mg, 120160 mg, 120200 mg, 120240 mg, 120280 mg, 120320 mg, 120360 mg, 120400 mg, 120440 mg, 120480 mg, 120520 mg, 120560 mg, 120600 mg, 120640 mg, 120680 mg, 120720 mg, 120760 mg, 120800 mg, 120840 mg, 120880 mg, 120920 mg, 120960 mg, 121000 mg, 121040 mg, 121080 mg, 121120 mg, 121160 mg, 121200 mg, 121240 mg, 121280 mg, 121320 mg, 121360 mg, 121400 mg, 121440 mg, 121480 mg, 121520 mg, 121560 mg, 121600 mg, 121640 mg, 121680 mg, 121720 mg, 121760 mg, 121800 mg, 121840 mg, 121880 mg, 121920 mg, 121960 mg, 122000 mg, 122040 mg, 122080 mg, 122120 mg, 122160 mg, 122200 mg, 122240 mg, 122280 mg, 122320 mg, 122360 mg, 122400 mg, 122440 mg, 122480 mg, 122520 mg, 122560 mg, 122600 mg, 122640 mg, 122680 mg, 122720 mg, 122760 mg, 122800 mg, 122840 mg, 122880 mg, 122920 mg, 122960 mg, 123000 mg, 123040 mg, 123080 mg, 123120 mg, 123160 mg, 123200 mg, 123240 mg, 123280 mg, 123320 mg, 123360 mg, 123400 mg, 123440 mg, 123480 mg, 123520 mg, 123560 mg, 123600 mg, 123640 mg, 123680 mg, 123720 mg, 123760 mg, 123800 mg, 123840 mg, 123880 mg, 123920 mg, 123960 mg, 124000 mg, 124040 mg, 124080 mg, 124120 mg, 124160 mg, 124200 mg, 124240 mg, 124280 mg, 124320 mg, 124360 mg, 124400 mg, 124440 mg, 124480 mg, 124520 mg, 124560 mg, 124600 mg, 124640 mg, 124680 mg, 124720 mg, 124760 mg, 124800 mg, 124840 mg, 124880 mg, 124920 mg, 124960 mg, 125000 mg, 125040 mg, 125080 mg, 125120 mg, 125160 mg, 125200 mg, 125240 mg, 125280 mg, 125320 mg, 125360 mg, 125400 mg, 125440 mg, 125480 mg, 125520 mg, 125560 mg, 125600 mg, 125640 mg, 125680 mg, 125720 mg, 125760 mg, 125800 mg, 125840 mg, 125880 mg, 125920 mg, 125960 mg, 126000 mg, 126040 mg, 126080 mg, 126120 mg, 126160 mg, 126200 mg, 126240 mg, 126280 mg, 126320 mg, 126360 mg, 126400 mg, 126440 mg, 126480 mg, 126520 mg, 126560 mg, 126600 mg, 126640 mg, 126680 mg, 126720 mg, 126760 mg, 126800 mg, 126840 mg, 126880 mg, 126920 mg, 126960 mg, 127000 mg, 127040 mg, 127080 mg, 127120 mg, 127160 mg, 127200 mg, 127240 mg, 127280 mg, 127320 mg, 127360 mg, 127400 mg, 127440 mg, 127480 mg, 127520 mg,

ЕФИКАСНОСТ, КОЯТО СЕ ОТЛИЧАВА

при лечението на рецидивиращ и рефрактерен множествен миелом

Добавянето на SARCLISA¹ към Pd или Kd удължава mPFS спрямо съответно Pd или Kd самостоятелно (HR=0,596²; HR=0,58³)



След първия рецидив

IKEMA: SARCLISA + Kd vs Kd (N=302)

mPFS 35,7 м
Спрямо 19,2 м с Kd
HR=0.58
(95,4% CI: 0,42, 0,79)

44% CR
Спрямо 28% с Kd
26% MRD- и CR
Спрямо 12% с Kd



Удължава
PFS^{2,3}



Задълбочава
отговора^{2,3}

След втория рецидив

ICARIA-MM: SARCLISA + Pd vs Pd (N=307)

mPFS 11,53 м
Спрямо 6,47 м с Pd
HR=0,596
(95% CI: 0,44, 0,81; P=0,001)

32% ≥VGPR
Спрямо 8,5% с Pd
5% MRD-
Спрямо 0% с Pd

Pd- pomalidomide/dexamethasone; Kd- carfilzomib/dexamethasone; HR- Hazard ratio; mPFS- медиана на свободна от прогресия преживяемост; PFS- свободна от прогресия преживяемост; CR- пълен отговор; VGPR- много добър частичен отговор; MRD- минимална резидуална болест

Лекарствен продукт по лекарско предписание. Съдържа isatuximab.

За повече информация вижте актуалната Кратка характеристика на продукта на официалния сайт на Европейската Агенция по Лекарства (https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/sarclisa-epar-product-information_bg.pdf) или се свържете със Суикс Биофарма ЕООД София 1505, бул. Ситняково 48, Сердика център, ет. 10, тел: + 359 (2) 4942-480, e-mail: medinfo.bulgaria@swixxbiopharma.com

SARCLISA е показан:

- в комбинация с помалидомид и дексаметазон за лечение на възрастни пациенти с рецидивиращ и рефрактерен множествен миелом, които са преминали най-малко две предшествващи терапии, включително леналидомид и протеазомен инхибитор, и са показали прогресия на заболяването по време на последната терапия.
- в комбинация с карфилзомиб и дексаметазон за лечение на възрастни пациенти с множествен миелом, които са получили най-малко една предшествваща терапия.

▼ Този лекарствен продукт подлежи на допълнително наблюдение. Това ще позволи бързото установяване на нова информация относно безопасността. От медицинските специалисти се изисква да съобщават всяка подозирана нежелана реакция.

Референции:

1. KKP SARCLISA : https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/sarclisa-epar-product-information_bg.pdf

2. Richardson PG, et al. Lancet Oncol 2022;S1470-2045(22)00019-5

3. Moreau P, Dimopoulos MA, Mikhael J, et al. VP5-2022: updated progression-free survival (PFS) and depth of response in IKEMA, a randomized phase III trial of isatuximab, carfilzomib and dexamethasone (Isa-Kd) vs Kd in relapsed multiple myeloma (MM). Ann Oncol. 2022;33(6):664-665

PM-BG-2023-7-3420 IAT: 29970/13-07-2023

