Кафедра гематологии, трансфузиологии, трансплантологии им.Б.В.Афанасьева

ПСПбГМУ им.академика И.П.Павлова

Острые лейкозы и МДС/МПЗ у детей

Детские болезни. Гематология детского возраста.

2021

Вопрос 1: какое злокачественное заболевание занимает первое место в структуре детской онкологической заболеваемости у пациентов от 0 до 14 лет?

- Лимфомы
- Лейкозы
- Опухоли ЦНС
- Опухоли костей
- Рак желудка

Вопрос 2. какие факторы предрасполагают к возникновению острого лейкоза у детей?

- Наследственные заболевания
- Отягощенный семейный анамнез
- Вредные факторы внешней среды
- Частые ОРВИ

Вопрос 3: жалобы , которые предъявляет ребенок с ОЛ?

- Слабость
- Боль в ногах
- Отсутствие жалоб
- Лихорадка
- Затруднение дыхания
- Кровоточивость

Вопрос 4: клинические проявления ОЛ, выявляемые при осмотре

- Высыпания на коже
- Увеличение л/у, селезенки, печени,
- Хрипы в легких
- Гиперплазия десен
- Увеличение яичек
- Отсутствие клинических проявлений

Вопрос 5: прогноз для жизни у детей с ОЛ

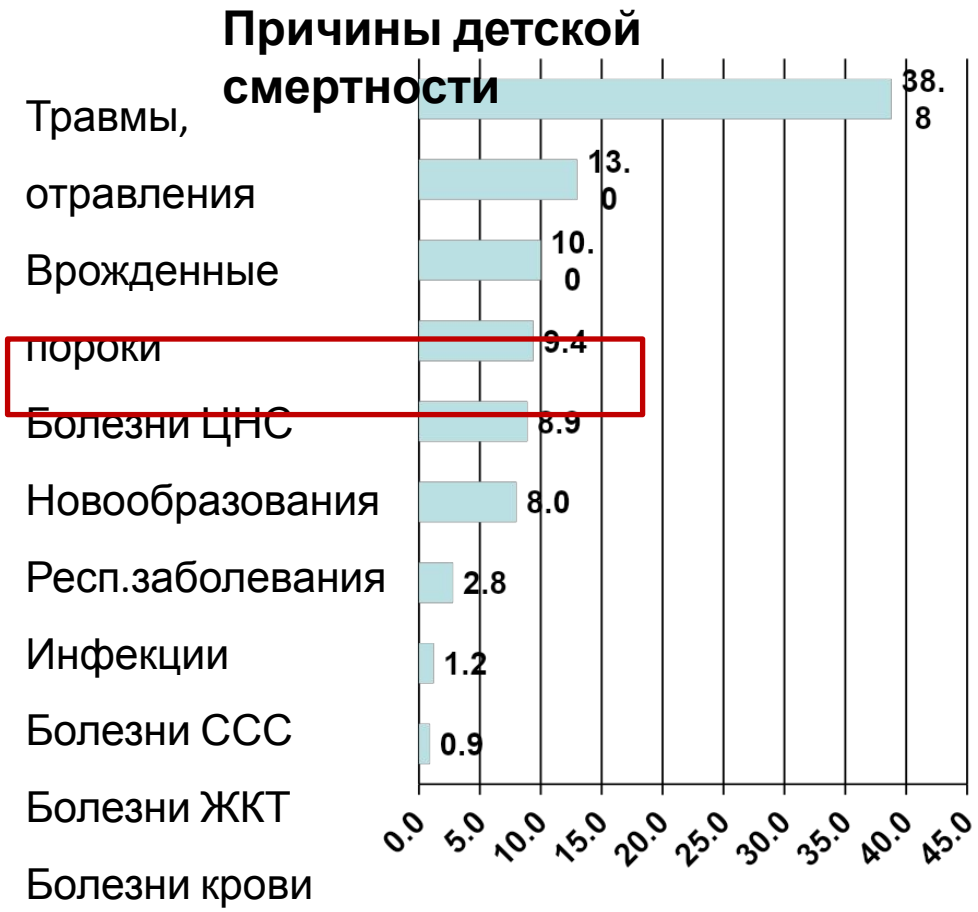
Эпидемиология

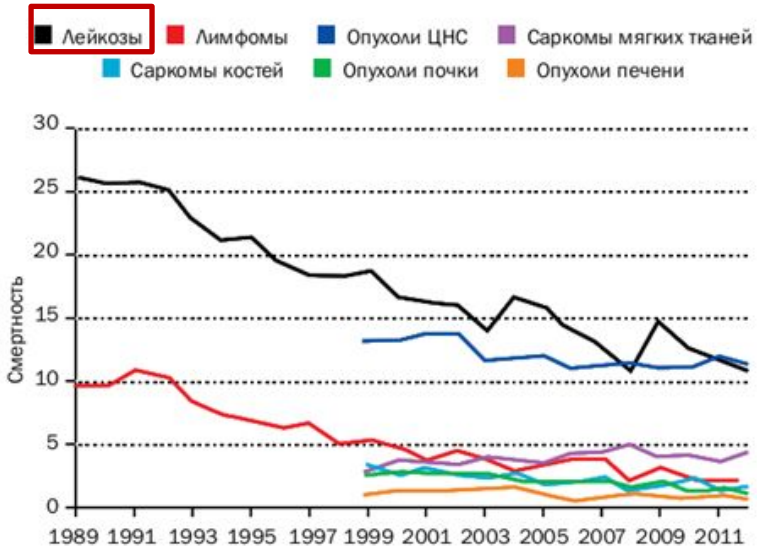
WORLD HEALTH ORGANIZATION
EUROPE

- Более 25% от всех опухолей
- 45-50 случаев на 1 млн. населения в год
- Пик заболеваемости в возрасте 2-5 лет
- Чаще болеют мальчики
- Тенденция к росту заболеваемости

www.euro.who.int/ENHIS

Смертность





- Четвертая по частоте причина смерти у детей
- Острые лейкозы – самая частая причина смерти от новообразования

Данные Министерства Здравоохранения РФ (2015)

Мень Т.Х. и соавт. Онкопедиатрия. № 1 (2014)

Лейкозогенез (история изучения)

Генетические причины:

1896 Hartenstien Врожденный лейкоз у коров
1931 Особенность наследования ОЛ мышей
1937 Videbaek Семейные исследования
1964 MacMahon and Levy Близнецовые исследования
1957 Krivit and Good Трисомия 21
1960 Nowell and Hungerford Ph+ хромосома
1973 Rowley t9:22

Инфекционные причины

1951 Gross Вирус, вызывающий лейкоз у млекопитающих
1964 Epstein ЭБВ ассоциированная лимфома
1967 Churchill Птичий вирус
1993 Greaves Эпидемиологические доказательства

Радиационные причины:

1944 Curie Ученые исследовавшие радиацию
1955 Японцы, выжившие после атомной бомбардировки
1955 Simpson Лимфома и лейкоз после облучения

Факторы риска

- Генетические

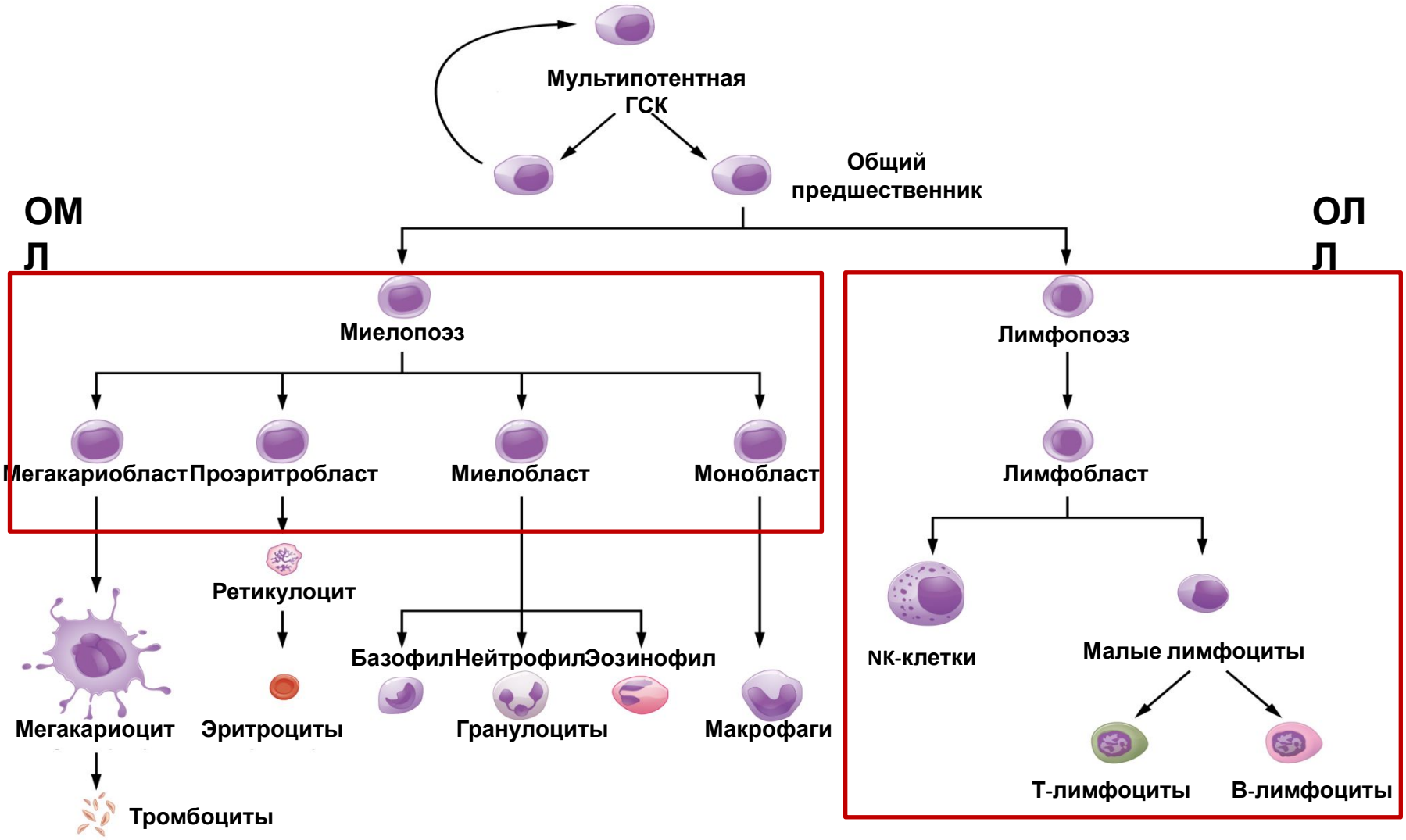
1. Синдром Дауна (в 10-20 раз чаще, в 600 раз чаще развитие ОМЛ М7)
2. Анемия Фанкони
3. Нейрофиброматоз
4. Атаксия-телеангиоэктазия
5. Ли-Фраумени синдром
6. Полиморфизм ксенобиотических метаболических ферментов

Факторы риска

- Внешние

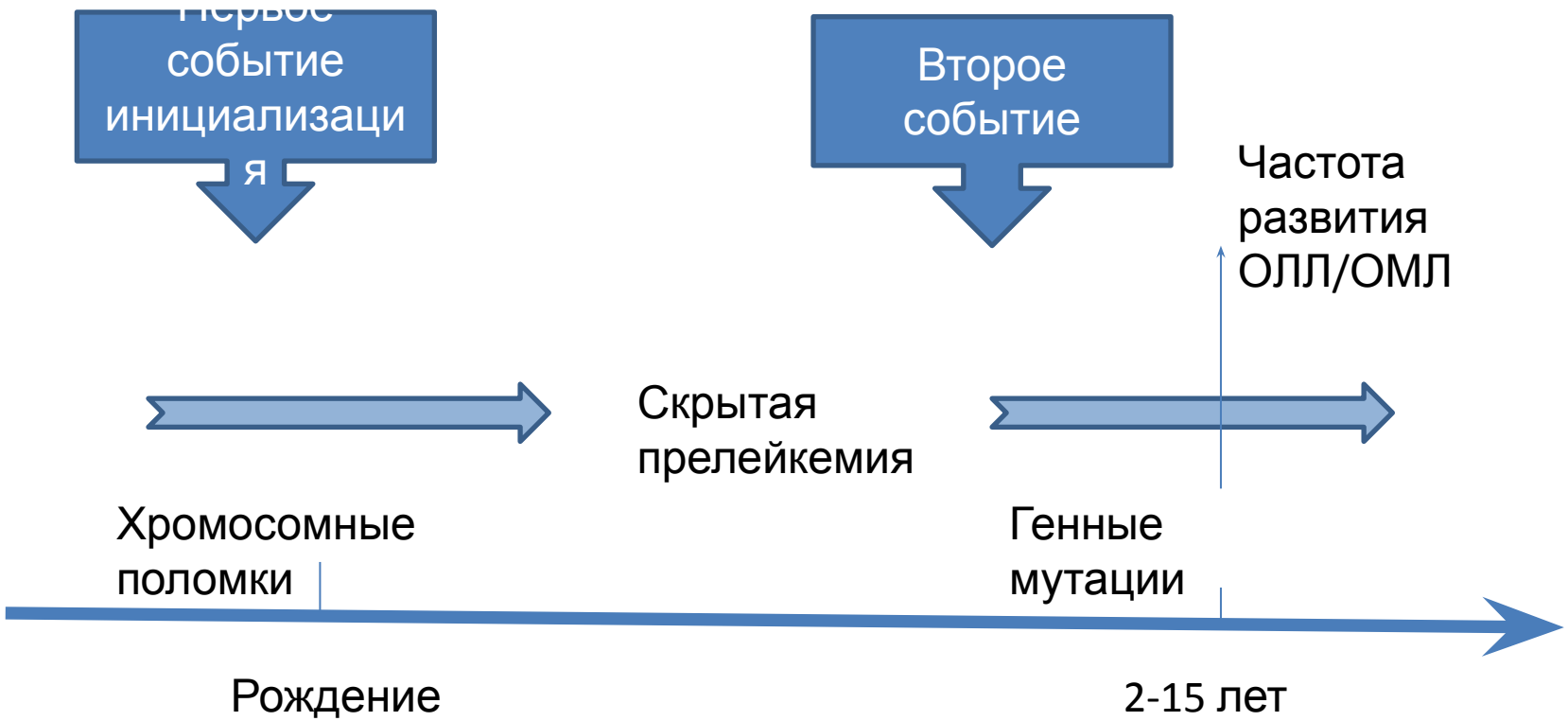
1. Ионизирующая радиация
2. Неионизирующая радиация (ЭМИ)
3. Пестициды
4. Алкоголь, никотин
5. инфекции

Происхождение лейкозных клеток

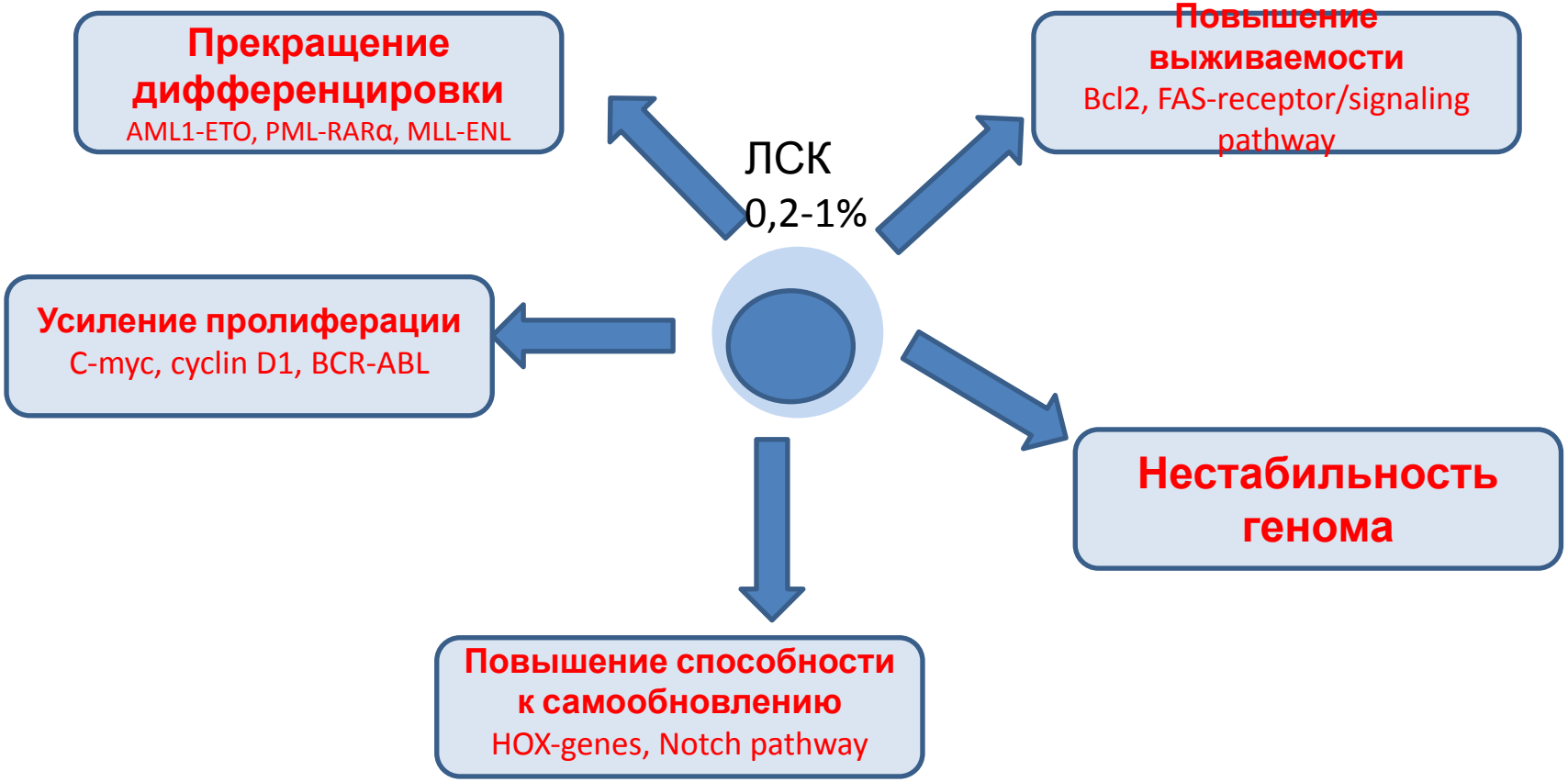


Лейкемогенез

Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. Lancet. 2013;381(9881):1943-55

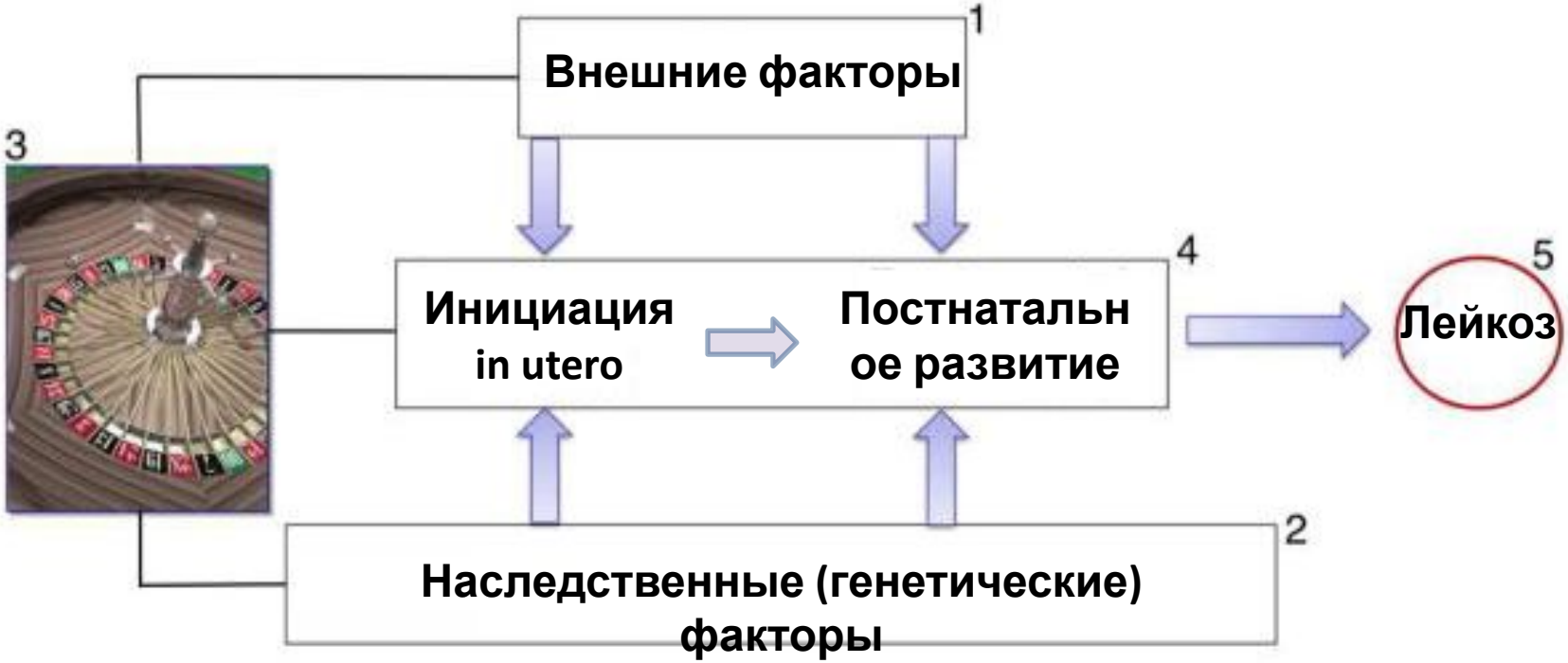


Пути дерегуляции, ведущие к образованию лейкозных клеток



Passegue E., Weissman I. Normal and leukemic hematopoiesis/ Proc Natl Acad Sci ,USA 2003

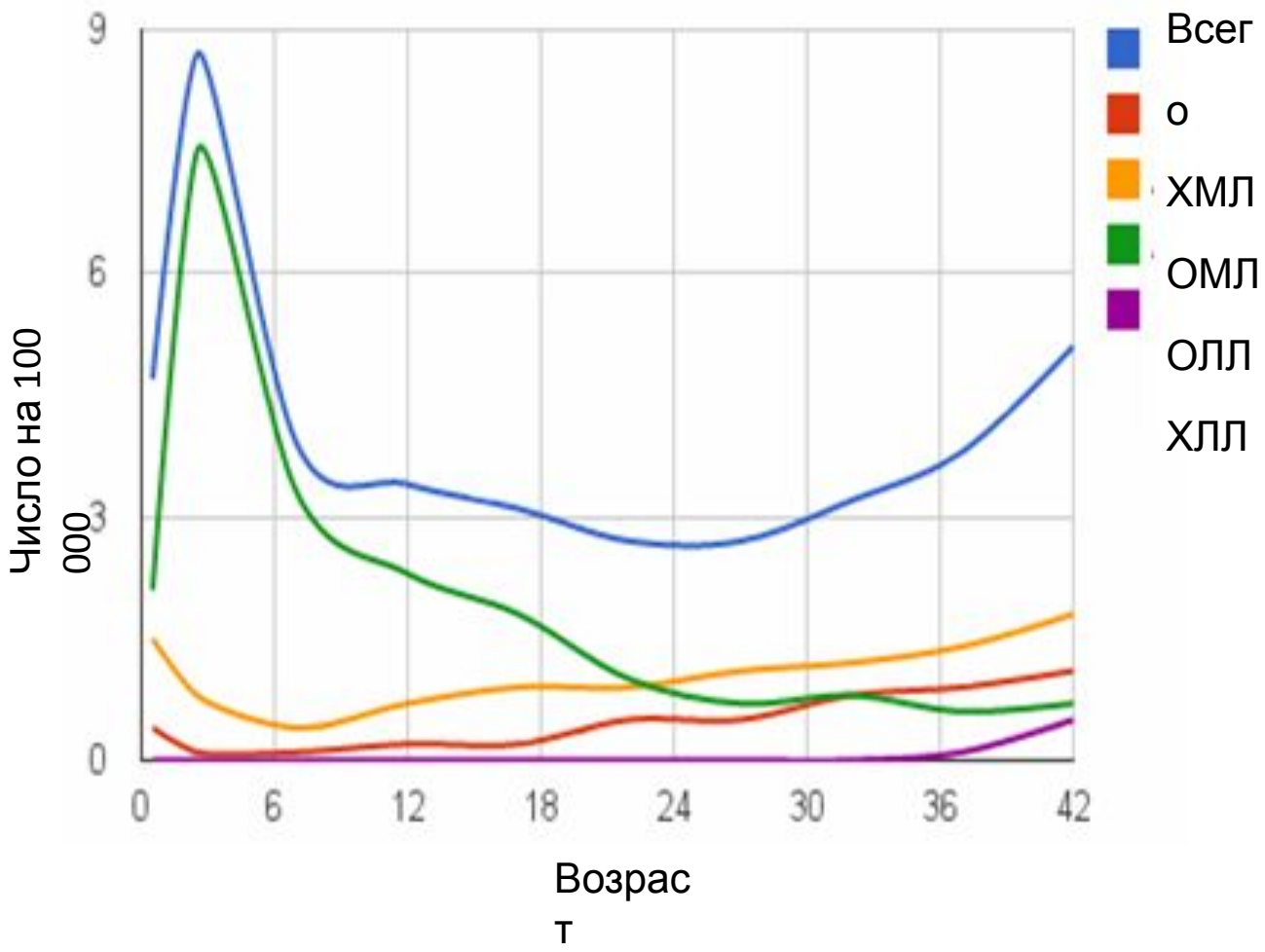
Патогенез



1. Факторы: инфекция, стресс, хроническое воспаление
2. Полиморфизмы генов
3. Случайная мутация
4. Скрытая фаза («предлейкоз»)

Inaba H et al. Lancet. 2013 June 1; 381(9881): 1943-55.

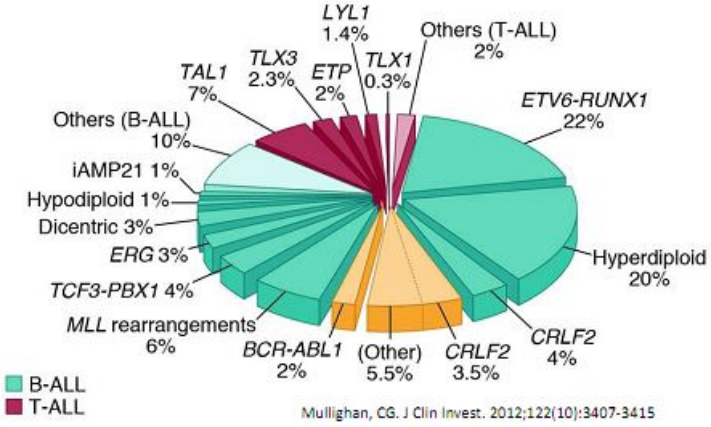
Возрастная структура заболеваемости

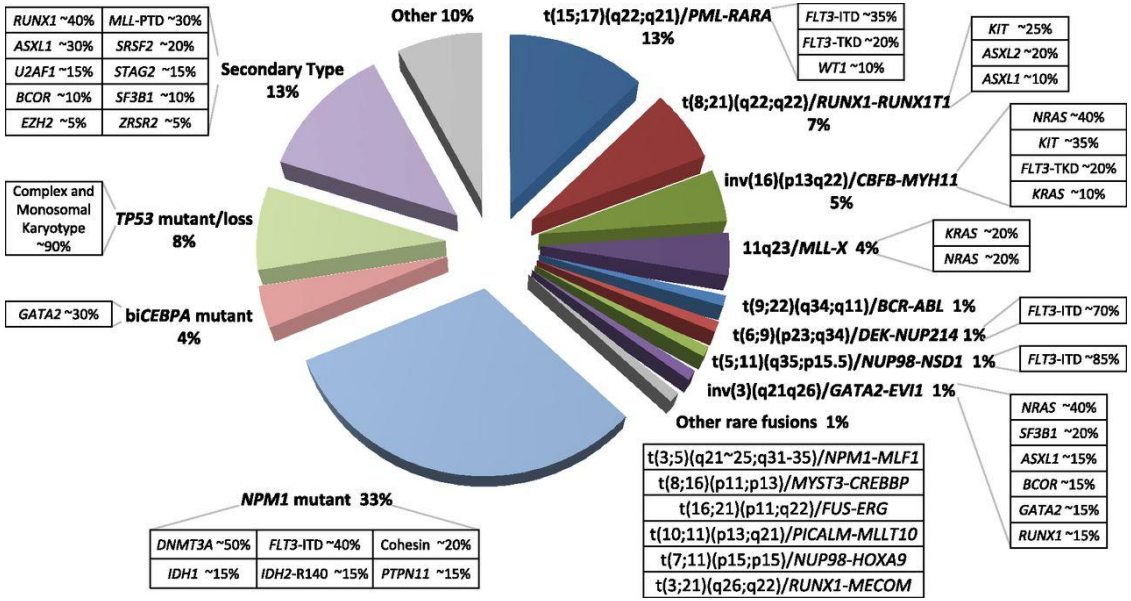


SEER 18, 1975-2015, ages 0-45

Классификация

1. Острый лимфобластный лейкоз
   - В-клеточный
   - Т-клеточный
1. Острый миелоидный лейкоз
2. Бифенотипический лейкоз





Переход от морфологической к молекулярно-биологической классификации

Grimwalde D et al. Blood 2016 Jan 7;127(1):29-41.

Клинические симптомы

Бласты

Замещение гемопоэза

Анемия
- слабость
- бледность
- тахикардия, одышка

Нейтропения
- частые инфекции (ОРЗ, фарингиты)
- пиодермия

Тромбоцитопения
- сыпь, синяки
- кровотечения
- кровоизлияния в склеры

Инфильтрация

Печень/селезенка
- гепатоспленомегалия
- боли в животе

Костный мозг
- костные боли, хромота
- боли в суставах

Кожа
- сыпь
- лейкемиды

ЦНС
- головные боли
- рвота

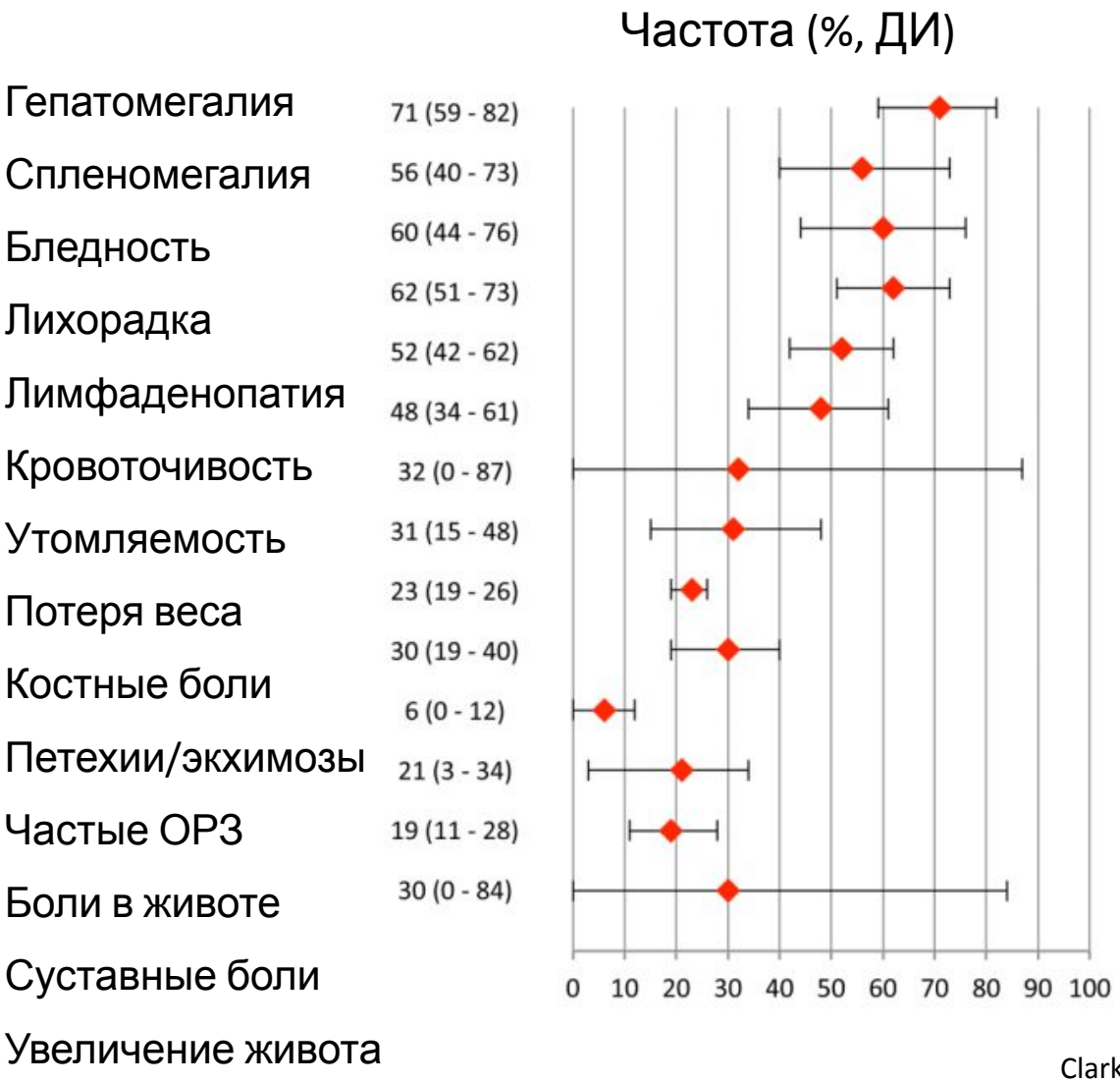
Яички
- увеличение

Секреция цитокинов

Общие симптомы
- лихорадка
- утомляемость
- потеря веса
- анорексия
- потливость
- мышечные боли
- отечность

Полиморфная клиническая картина, неспецифичность симптомов

Клиническая картина



Данные мета-анализа (33 исследования, более 3000 пациентов).

Более 50% случаев:

1. Гепатомегалия (64%)
2. Спленомегалия (61%)
3. Бледность (54%)
4. Лихорадка (53%)
5. Синяки (52%)

Более 30% случаев:

1. Инфекции (49%)
2. Утомляемость (46%)
3. Костные боли (43%)
4. Гепатоспленомегалия (42%)
5. Петехии/экхимозы (41%)
6. Лимфаденопатия (41%)

Clarke RT, et al. Arch Dis Child 2016;101 :894–901.

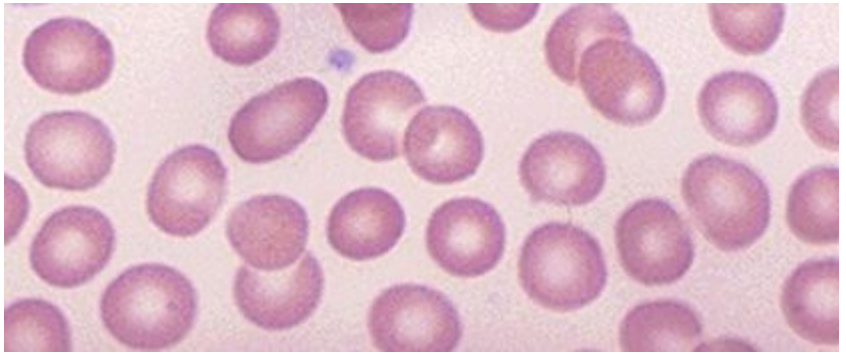
Специфическая инфильтрация

Инфильтрация десен при монобластном ОМЛ

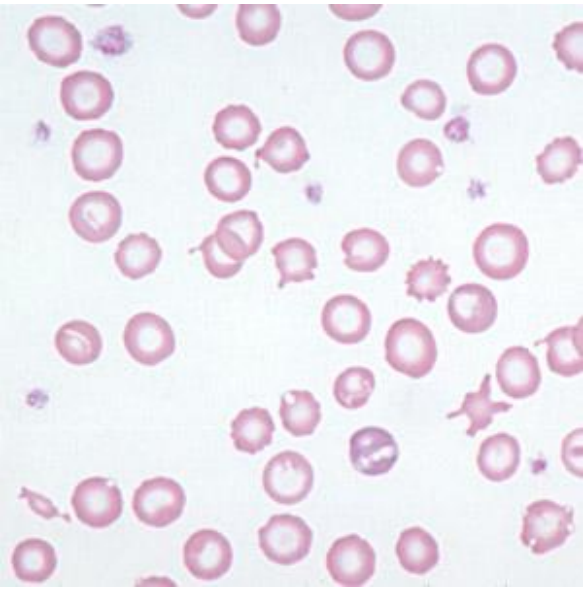
Кожные инфильтраты

Infectious Diseases in Children, January 2016 *James H Brien, DO*

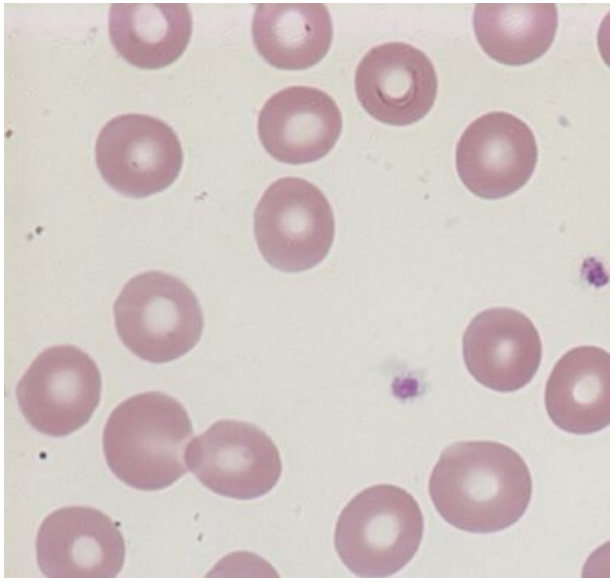
Интерпретация ОАК при анемии



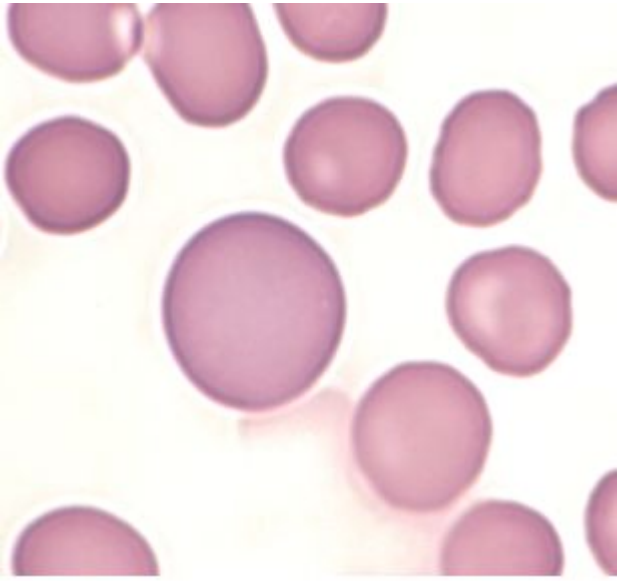
MCV<80



MCV 80-100



MCV>100



Интерпретация ОАК при анемии

Осмотр, ОАК, ретикулоциты, морфология

Микроцитарная

- Железодефицит
- Алиментарный
- Хроническая кровопотеря
- Талассемия (α или β)
- Отравление свинцом
- Хроническое заболевания/инфекция
- Алиментарный дефицит
- Сидеробластная анемия

- Исследование железа (ферритин,ОЖСС, трансферрин и т.д.)
- Электрофорез гемоглобина
- Семейный анамнез
- Пробная терапия железом

Нормоцитарная

- Ранняя стадия железодефицита
- Острая кровопотеря
- Гемолиз
- Дефект ферментов
- Дефект мембраны
- Красноклеточная аплазия
- Врожденная или приобретенная АА
- Опухоль
- Почечная недостаточность
- Гиперспленизм
- Ятрогенная

- Ферменты эритроцитов
- Осмотическая устойчивость
- Проба Кумбса
- Электрофорез гемоглобина
- Миелограмма

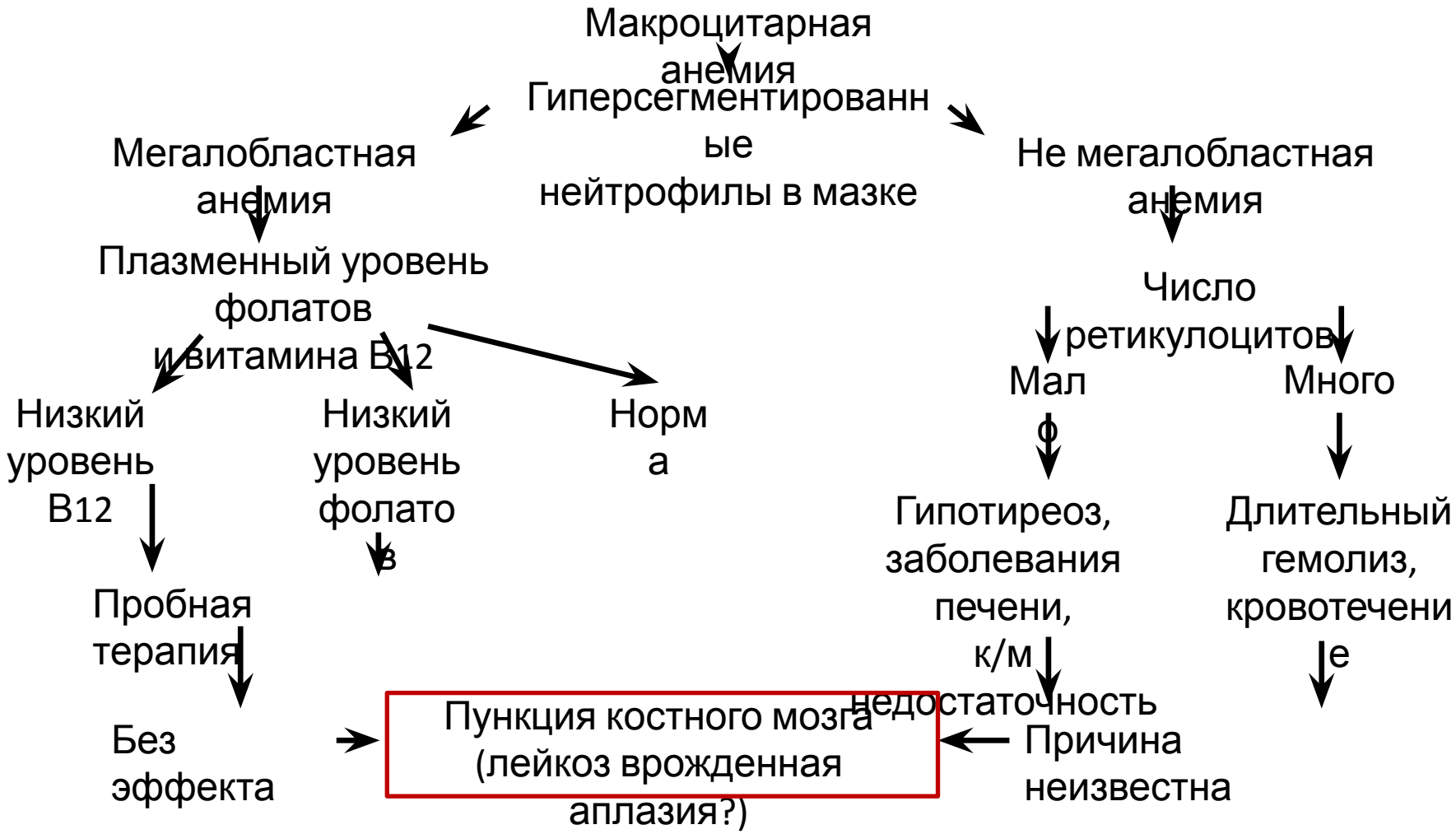
Макроцитарная

- Здоровый новорожденный
- Спленэктомия
- Заболевание печени
- Врожденная или приобретенная АА
- Гипотиреоз
- Синдром Дауна
- МДС
- Дефицит фолатов
- Дефицит B12

- Б/х анализ крови
- Гормоны щитовидной железы
- Электрофорез гемоглобина
- Фолиевая кислота, B12
- Миелограмма

Handbook of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd ed (2012) - Hastings, Torkildson, Agrawal

Алгоритм действий при макроцитарной анемии

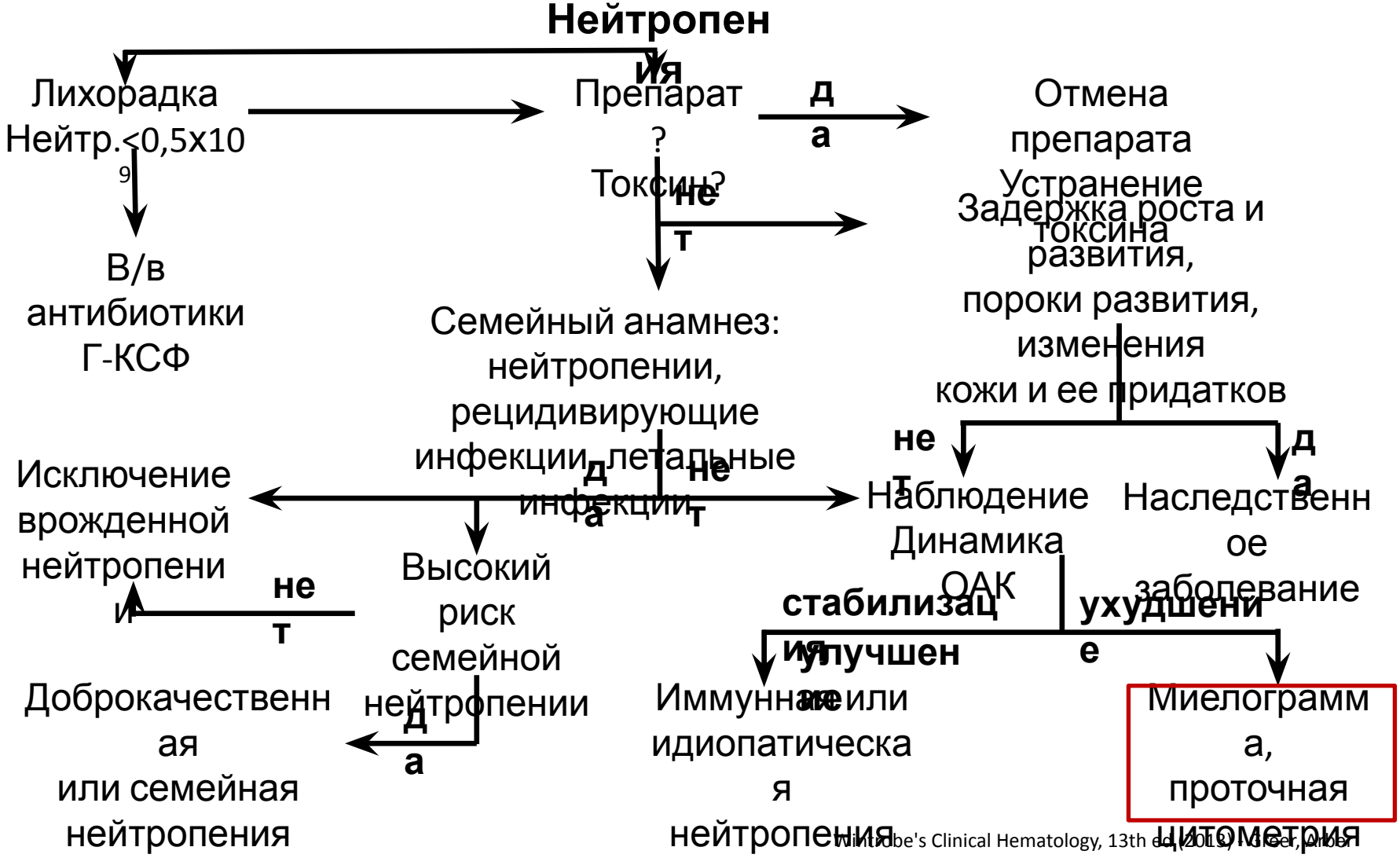


Janus J et al. Am Fam Physician. 2010 Jun 15;81(12):1462-1471.

Алгоритм действий при нормоцитарной анемии

Janus J et al. Am Fam Physician. 2010 Jun 15;81(12):1462-1471.

Диагностический алгоритм для детей с нейтропенией



Wintrobe's Clinical Hematology, 13th ed. (2013) - Greer, Arber

Причины приобретенной нейтропении

Причина	Патогенез	Частота	Дополнительные находки
Идиопатическая нейтропения	Снижение или неэффективность продукции нейтрофилов	Часто	Обычно бессимптомная Дифф.диагноз с врожденными формами
Инфекция	Вирусная миелосупрессия, вирус-ассоциированная иммунная нейтропения Миелосупрессия на фоне бактериальной инфекции (эндотоксины)	Часто Относительно редко	ЭБВ, парворирус, ВПГ 6 типа, другие вирусы Тяжелая бактериальная инфекция
Лекарственная	Прямая миелосупрессия Иммунное разрушение	Часто Редко	Основное заболевание
Аутоиммунная	Первичная (сходство мишеней) Вторичная (СКВ, синдром Эванса)	Часто	Часто сопутствующий моноцитоз
Секвестрация	Гиперспленизм	Спленомегалия	Различные причины спленомегалии
Замещение костного мозга	Инфильтрация костного мозга опухолевыми клетками, гранулемами, миелофиброз	Редко	Зависят от первичного заболевания
Аллоиммунное поражение	Сенсибилизация материнскими антигенами Перенос материнских антител	Редко	Несовместимость по антигенам Материнские антитела

Handbook of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd ed (2012) - Hastings, Torkildson, Agrawal

Изолированная тромбоцитопения

Анамнез, осмотр, ОАК, число тромбоцитов, мазок

Изолированная тромбоцитопения

Морфология тромбоцитов

Нормальные тромбоциты

Спленомегалия и/или лимфаденопатия

Миелограмма

Дифф.диагноз:

- Опухоль
- Инфекция (ВИЧ, ВЭБ, ЦМВ)
- Болезнь накопления
- Гиперспленизм

не т

Норма

Дифф.диагноз:

- АИТП
- вирусная
- ятрогенная
- аутоиммунная
- апластическая анемия

Пороки развития

Дифф.диагноз:

- анемия Фанкони
- порок сердца
- синдром Казабаха-Меррита

Крупные тромбоциты

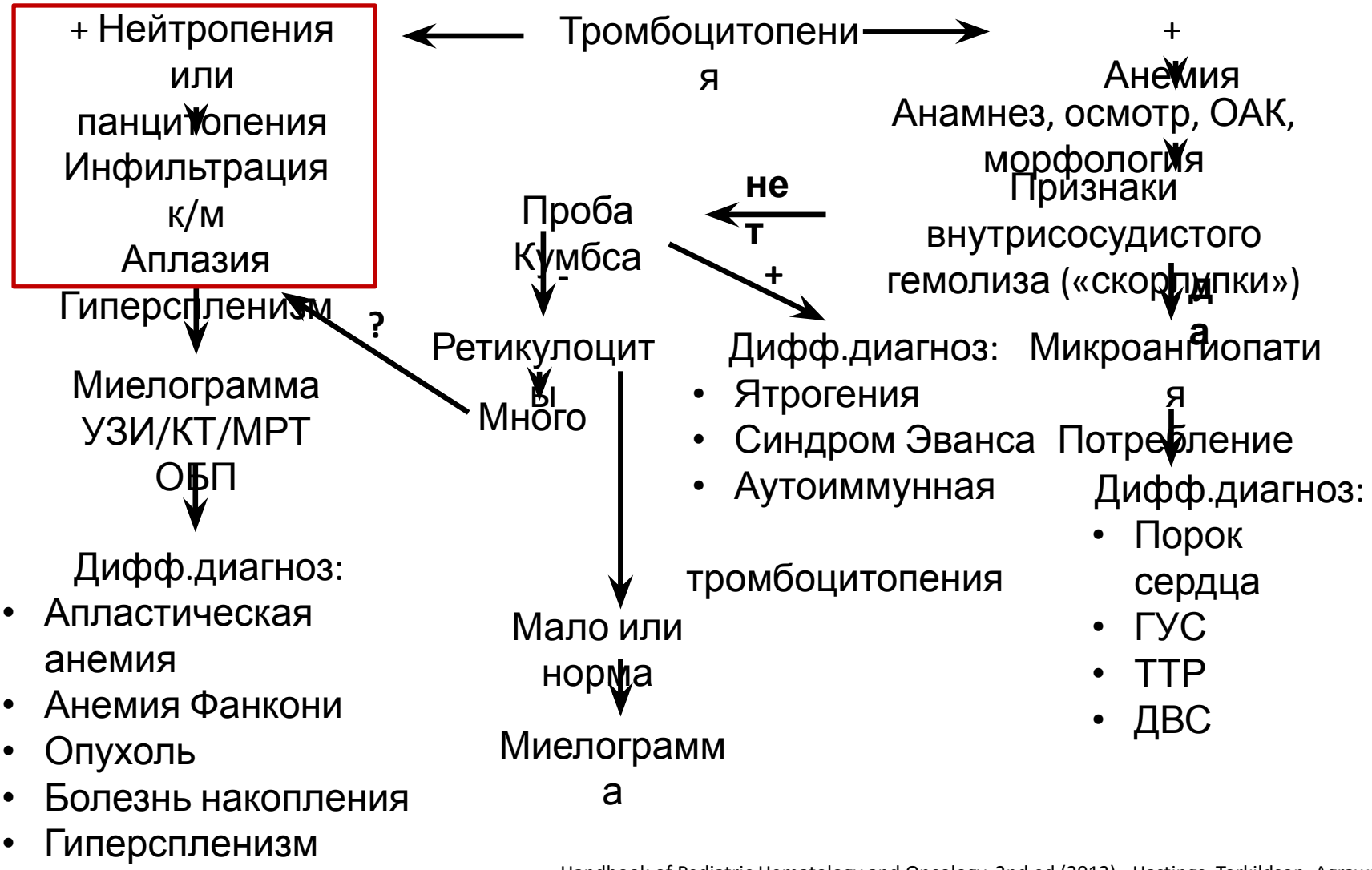
- синдром Бернара-Сулье
- синдром Якобсена
- болезнь Виллебранда
- доброкачественная макротромбоцитопения

Мелкие тромбоциты

- синдром Вискотта-Олдрича

Handbook of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd ed (2012) - Hastings, Torkildson, Agrawal

Двухростковая цитопения



Handbook of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd ed (2012) - Hastings, Torkildson, Agrawal

Алгоритм дифференциального диагноза аплазии

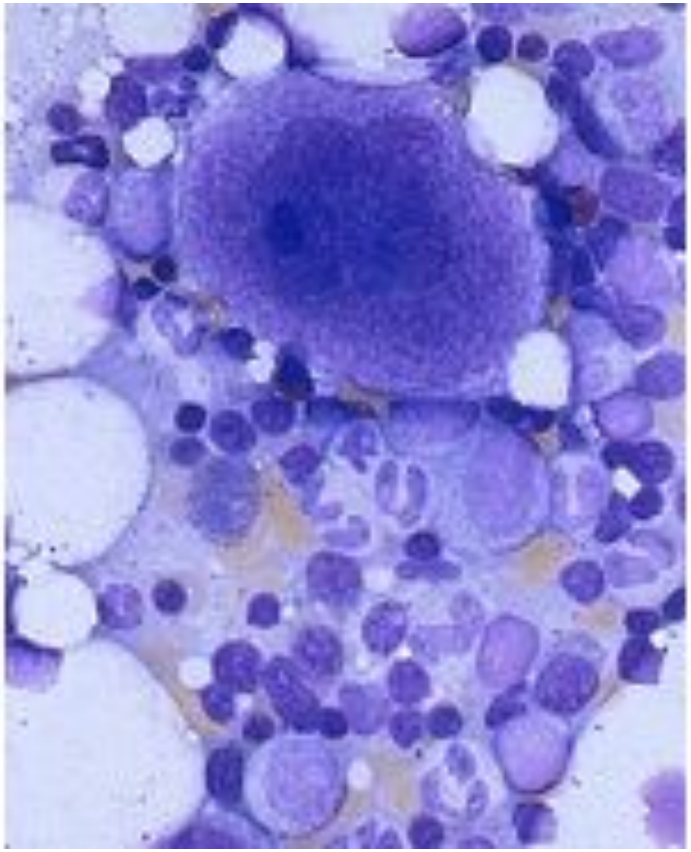
Панцитопения

Спленомегалия

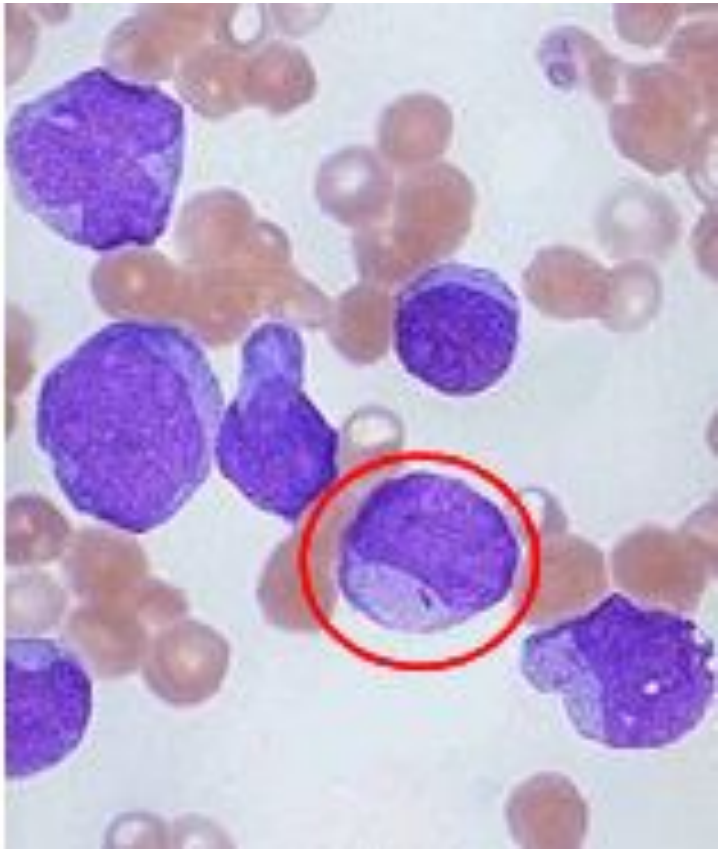
- *Да* → **Пункция костного мозга**
  - ***Патологические изменения***
    - Лейкоз/МДС
    - Метастазы солидной опухоли
    - Гранулемы
      - саркоидоз
      - туберкулез
    - Болезнь накопления
      - болезнь Гоше
      - болезнь Нимана- Пика
    - Другое
  - ***Нормальная морфология***
    - Лимфома
    - Гиперспленизм
    - Системное заболевание соединительной ткани
    - Портальная гипертензия
      - надпеченочная
      - печеночная
- *Нет* → **Пункция костного мозга + биопсия**
  - ***Патологические изменения***
    - Лейкоз
    - Лимфома
  - ***Гипоплазия***
    - Апластическая анемия
      - нетяжелая
      - средней тяжести
  - ***Аплазия*** **(клеточность <25%)**
    - Апластическая анемия
      - **Врожденная**
        - анемия Фанкони
        - врожденный дискератоз
        - болезнь Швахмана-Даймонда
        - другие
      - **Приобретенная**
        - Идиопатическая
        - МДС
        - ПНГ
        - Вторичная
          - ятрогенная
          - токсичность, Rtx
          - инфекции
          - другие

Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology - Academic Press (2016)

Морфологическая диагностика

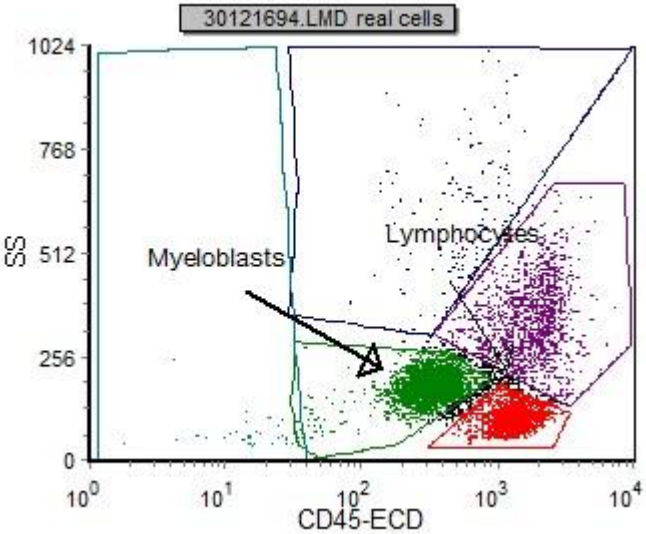


Нормальный
костный мозг

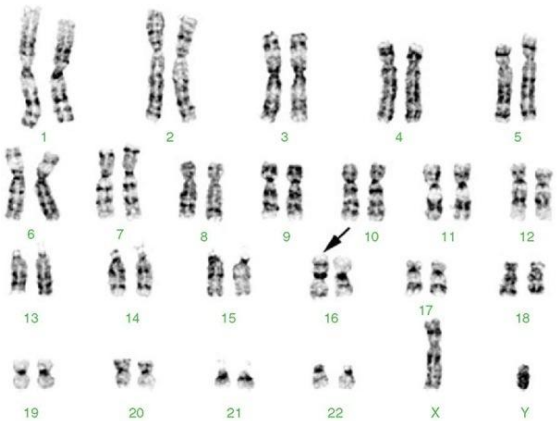


ОЛЛ

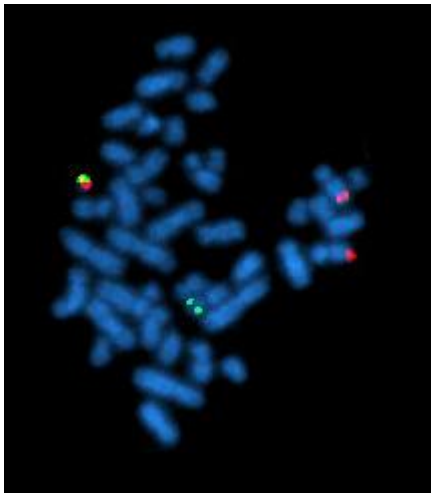
Лабораторная диагностика



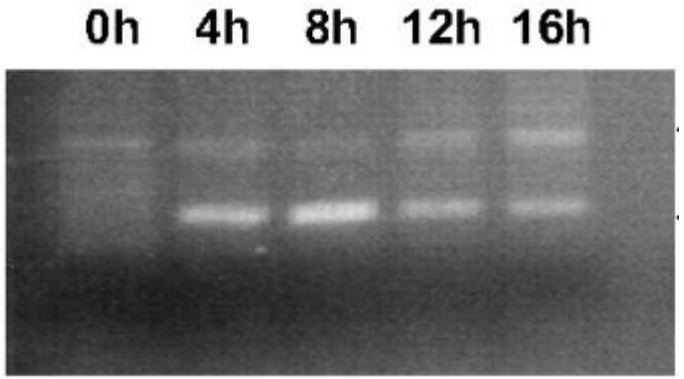
Проточная цитометрия



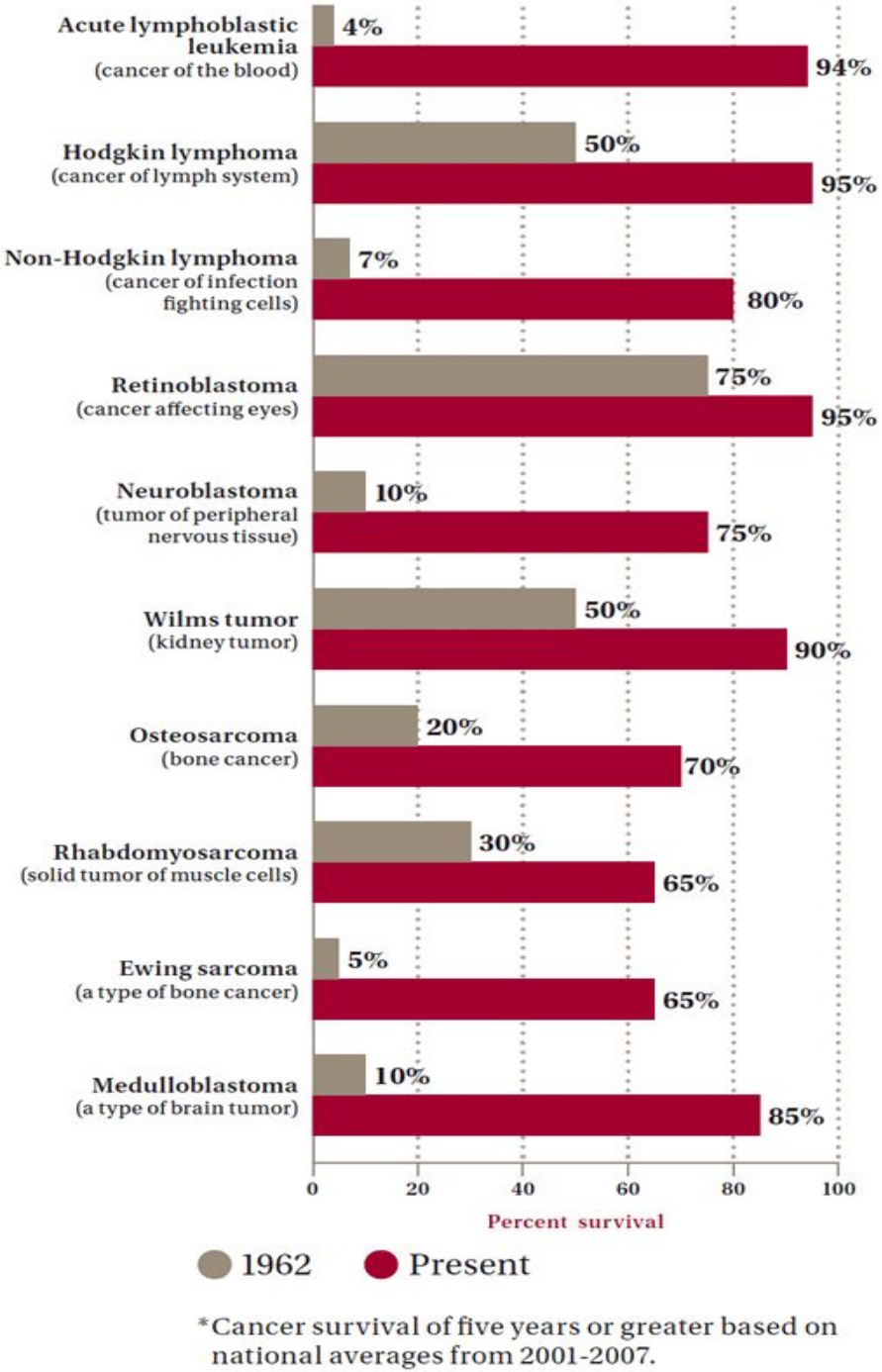
Цитогенетика



FISH



Молекулярная биология



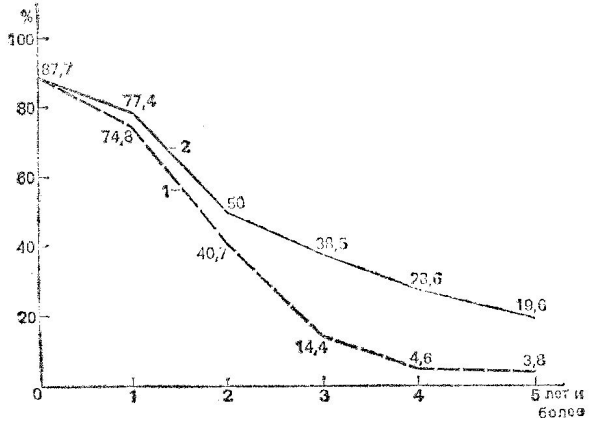
Пятилетняя выживаемость детей с онкологическими заболеваниями – 1962 vs 2012

St.Jude Children's Hospital, 50 Years. Funding cures. Saving children.
1962-2012

Терапия лейкоза (исторические вехи)

- Терапия:
  - 1947 Farber Anti-folate metabolite MTX
  - 1953 Burchenal 6-MP
  - 1959 Cyclophosphamide
  - 1962 Vincristine

    3% 5 year DFS ALL with sequential therapy
  - В начале 90х в России 3,8% (Алексеев Н.А., Воронцов И.М. Лейкозы у детей. 1988г.)



Терапия лейкоза (исторические вехи)

Зарубежный опыт терапии острых лейкозов 60-90 прошлого века

Дональд Пинкель (1962-1970 гг.),

руководитель клиники Сент-Джуд, г.Мемфис (СШ

Разработка программного подхода к

терапии лейкозов у детей.

St. Jude Children's Research Hospital

ALSAC • Danny Thomas, Founder

Индукция | Интенсификация | Консолидация | Профилактика нейролейкоза | Поддерживающая терапия

Индукционная терапия: длительное применений ГК (преднизолона) в комбинации с винкристином.

Поддерживающая терапия: длительное применение комбинации : 6-МП и метотрексата.

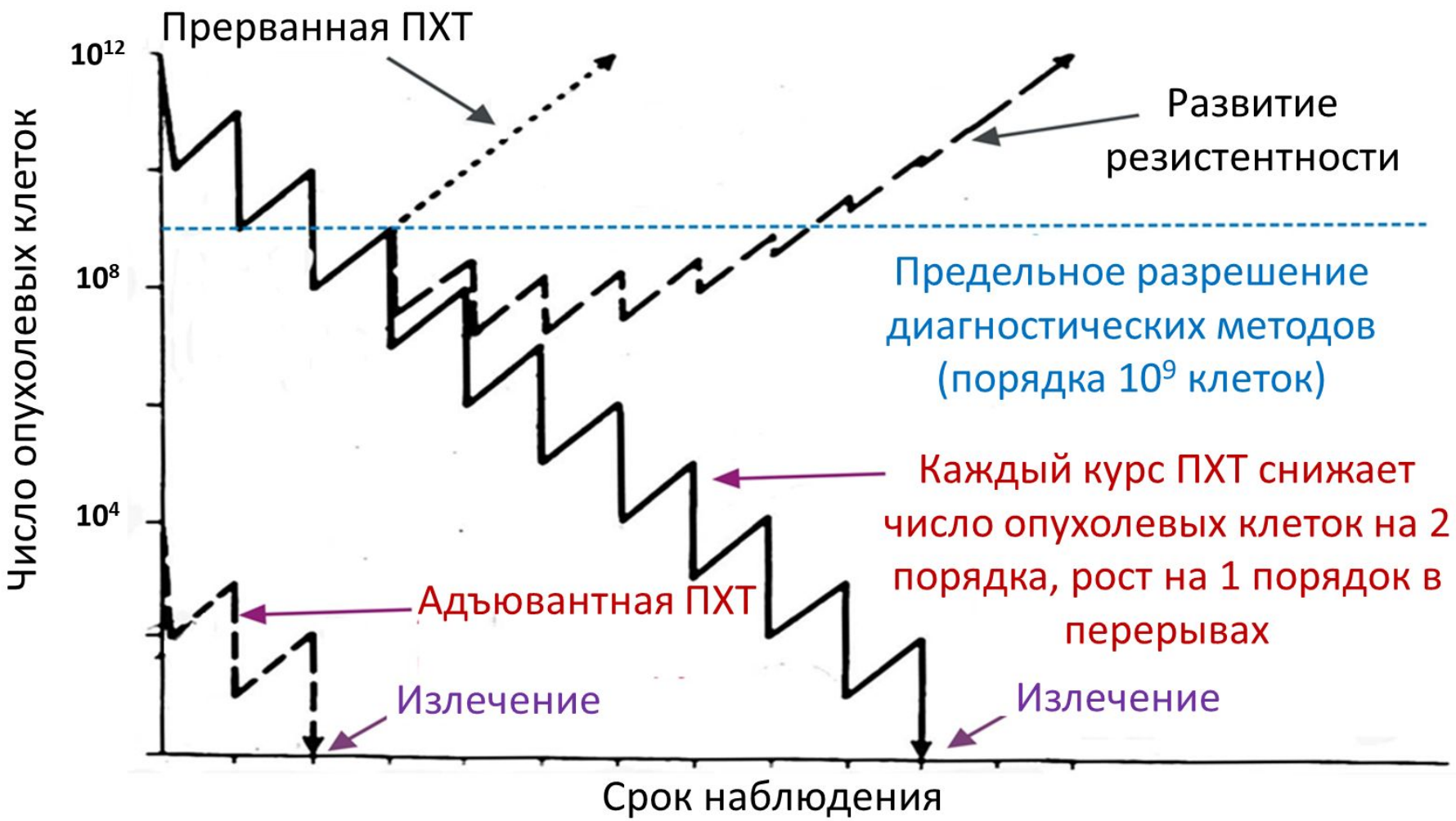
Профилактика нейролейкоза: эндолюмбальное ведение цитостатиков и краниальное облучение.

Бессобытийная выживаемость детей с ОЛЛ выросла с 3-9% до 50% (1972 год)

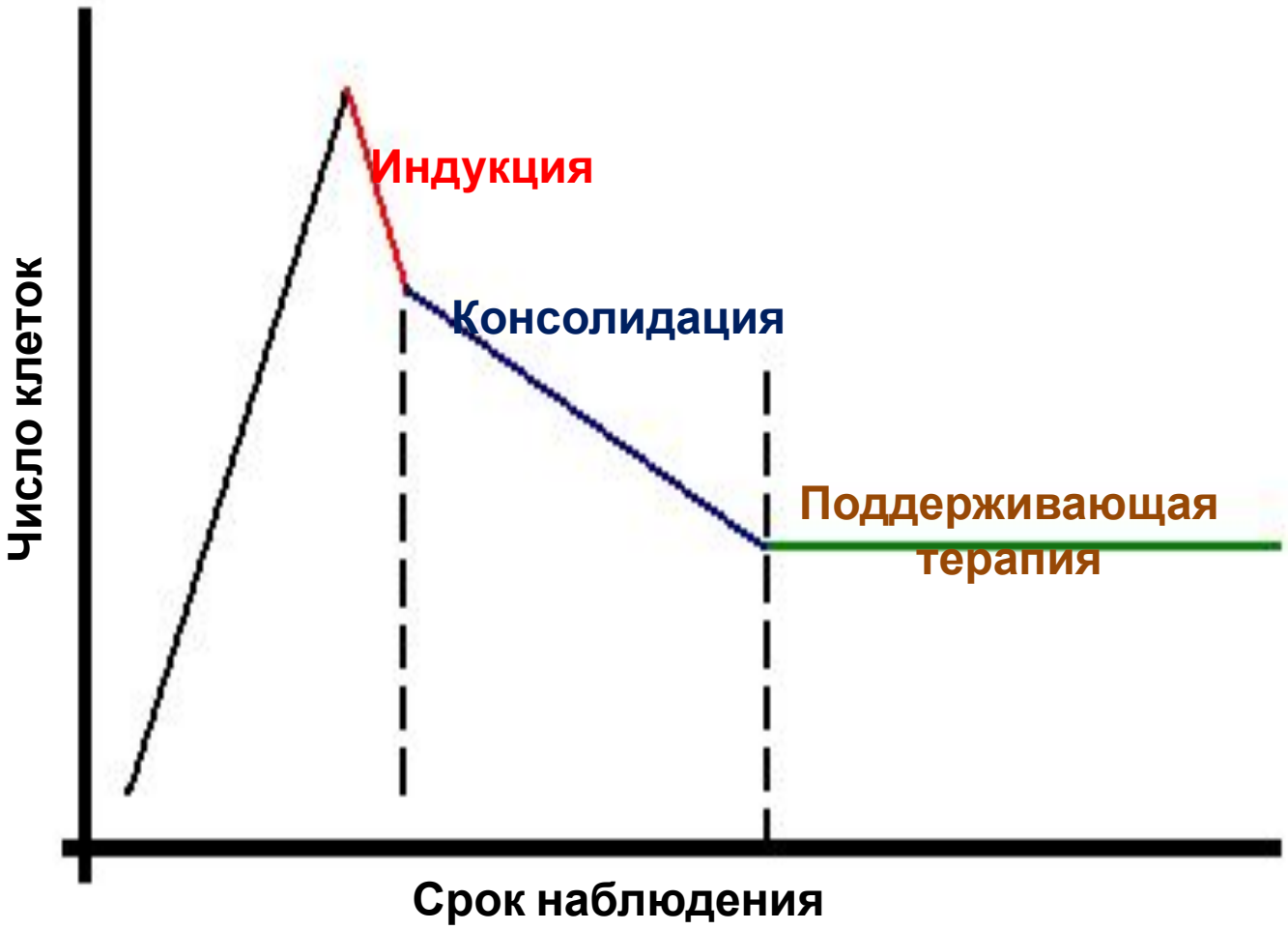
1980 Ингибиторы топоизомеразы

990. Таргетная терапия

Кинетика опухоли на фоне ПХТ



Фазы режимов химиотерапии

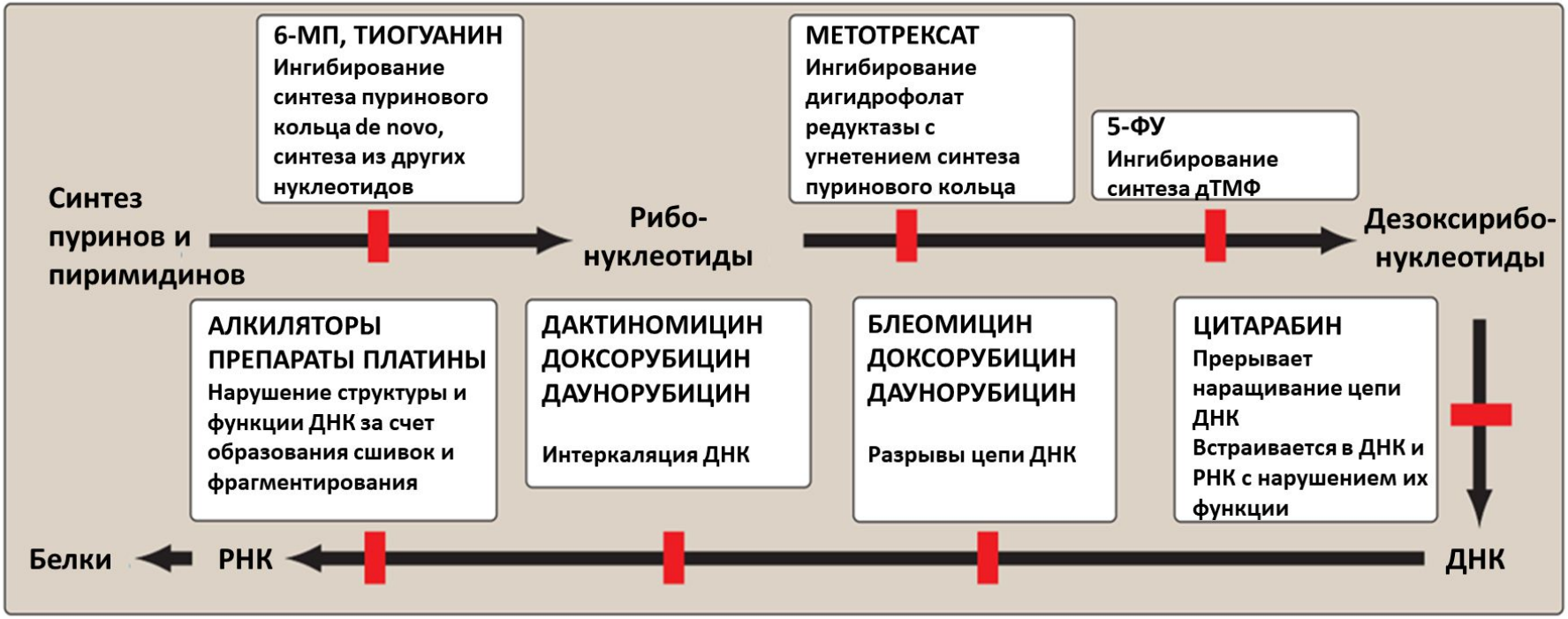


Принципы формирования режима комбинированной терапии

- Все препараты используемые в рамках режима должны быть активны при монотерапии
- Отсутствие перекрестной токсичности
- Различные механизмы действия
- Различные механизмы резистентности
- Оптимальные дозы и тайминг, направленные на обеспечение максимальной интенсивности и плотности дозы
- Индивидуальные изменения дозы, призванные снизить токсичность и обеспечить соответствие таймингу

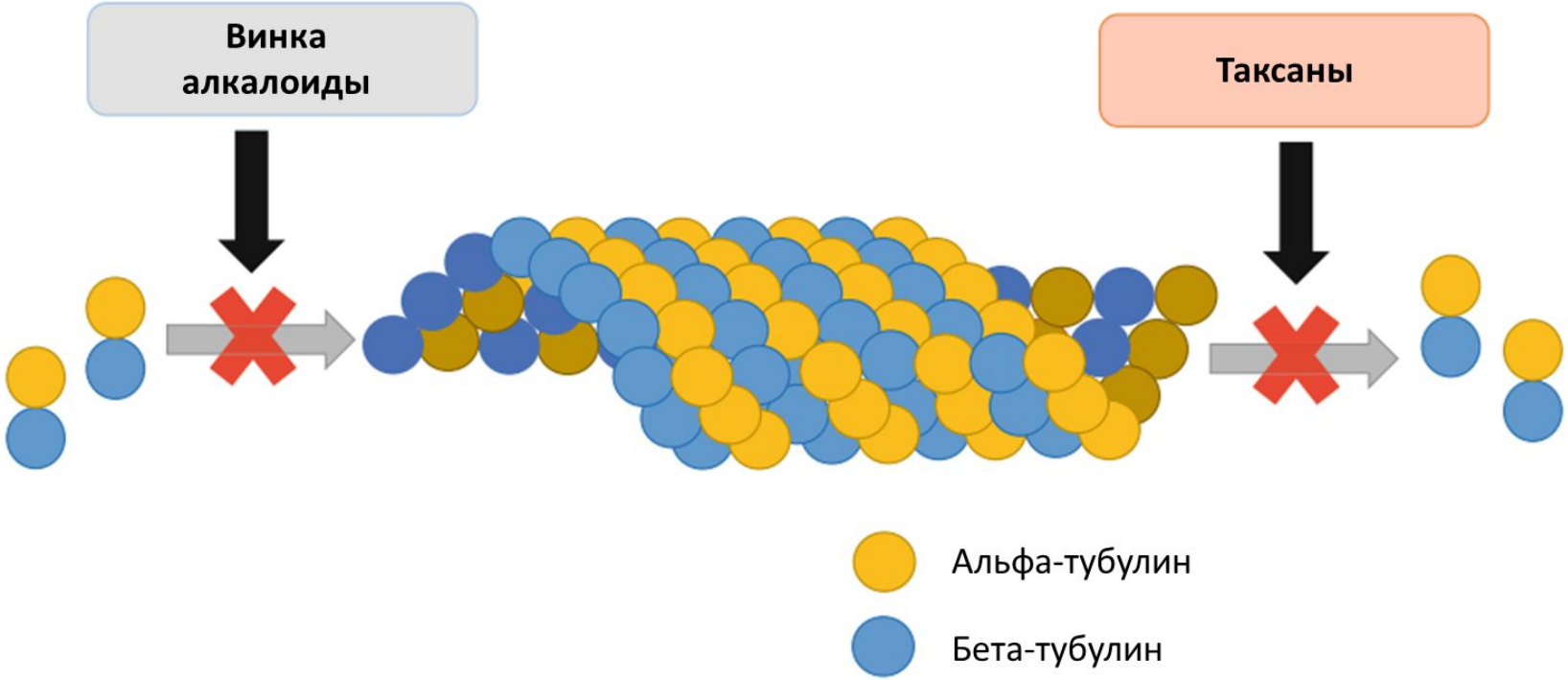
Perry's Chemotherapy Source Book, 5th Ed, LWW 2012

Мишени «классических» цитостатиков



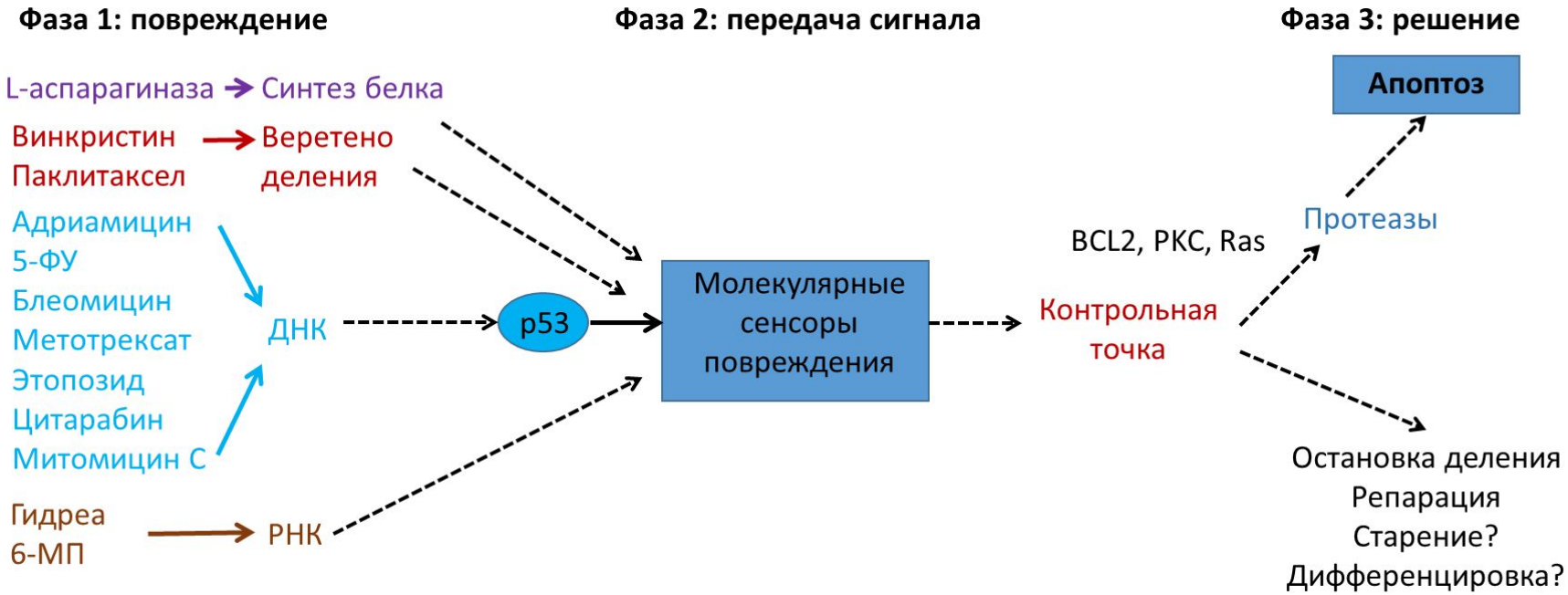
Karen Walen, Lippincott Illustrated Reviews: Pharmacology Sixth Edition, 2015

Механизм действия антитубулиновых препаратов



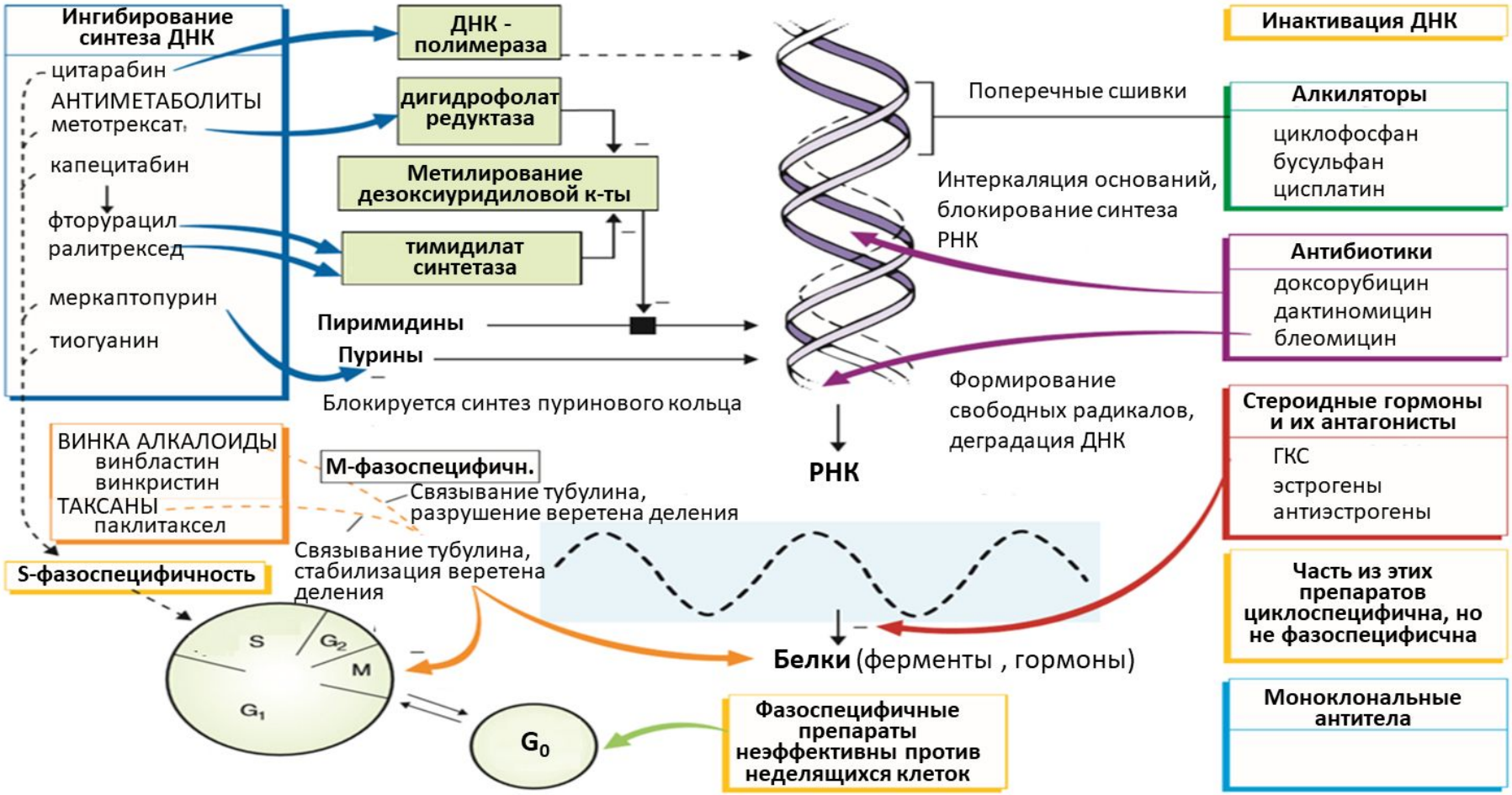
Ryu-Won Kim, Cancer Drugs Discovery: Science and History 1st Ed, 2016

Цитотоксическое действие химиопрепаратов



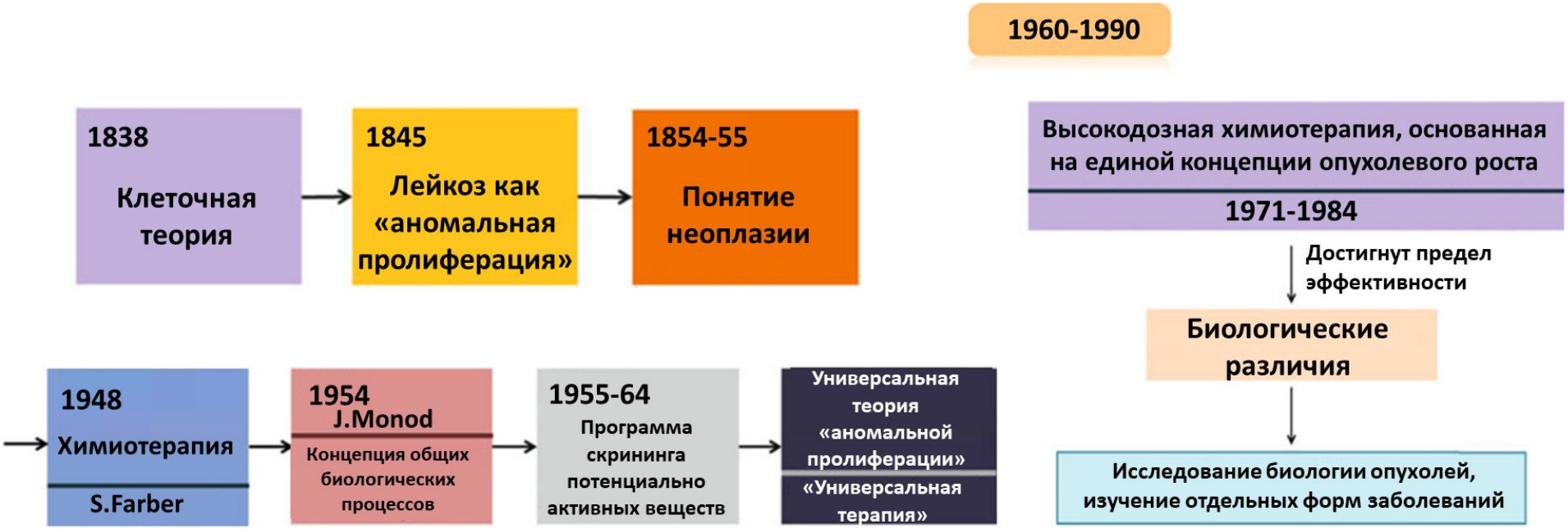
Blood. 1997 Mar 15;89(6):1845-53.

Фазоспецифичность химиопрепаратов



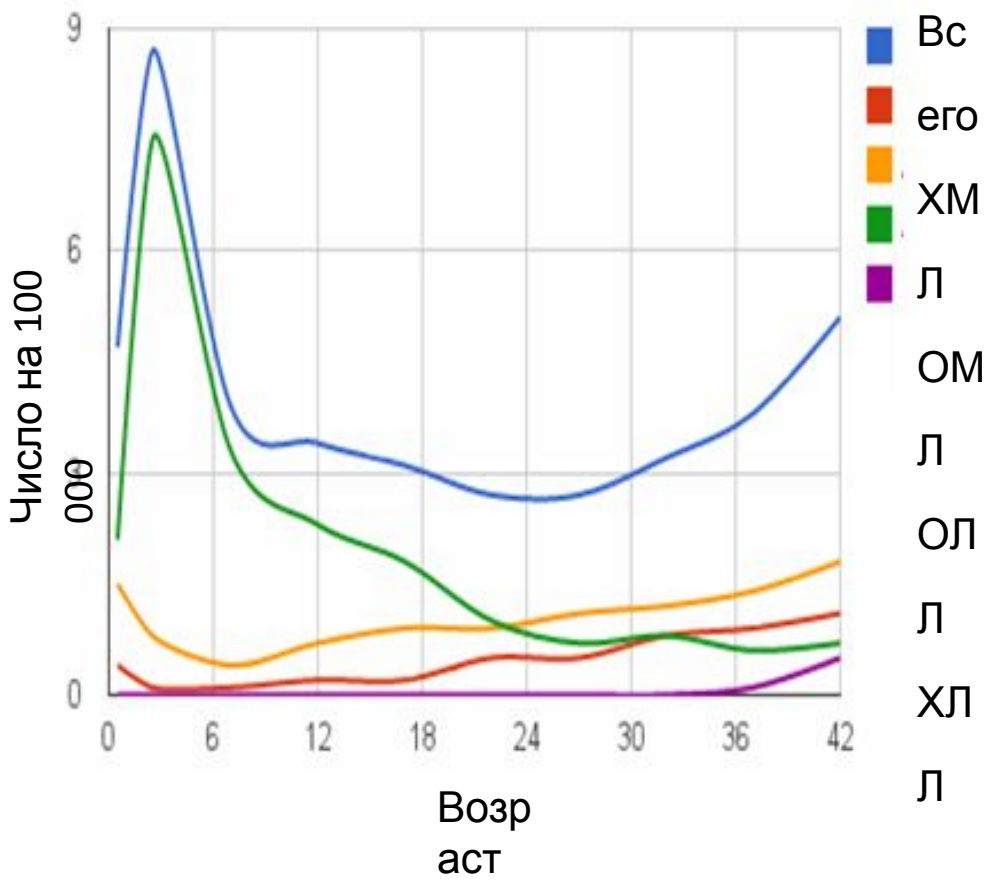
Medical Pharmacology at a Glance, 8th Edition, Michael J. Neal, December 2015, Wiley-Blackwell

Эволюция концепции противоопухолевой терапии



Ryu-Won Kim, Cancer Drugs Discovery: Science and History 1st Ed, 2016

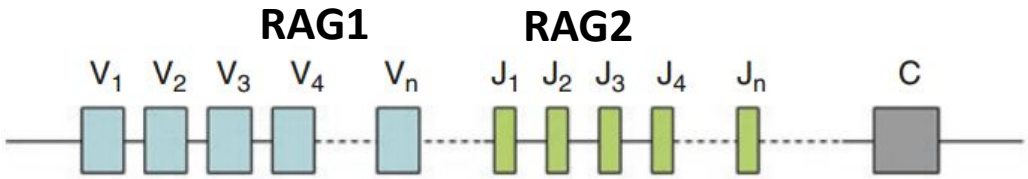
ОЛЛ – самое распространенное злокачественное заболевание у детей.

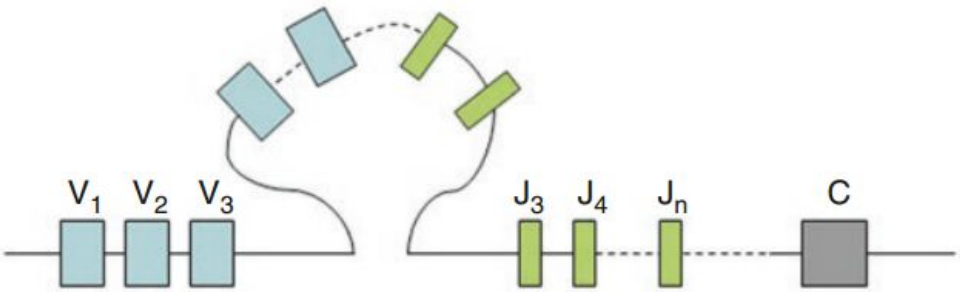


SEER 18, 1975-2015, ages 0-45

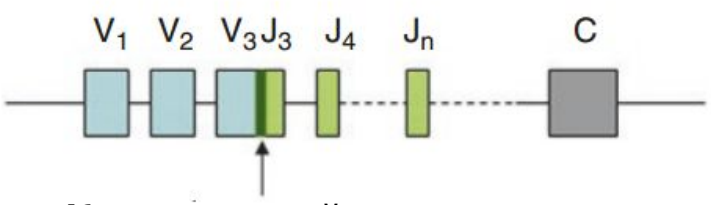
- ОЛЛ составляет 25% от всех опухолей
- 75% от всех гемобластозов
- 3 случая на 100000 детского населения в год
- Младенческий пик заболеваемости в возрасте 2-5 лет
- Чаще болеют мальчики: 1,6:1 для В-линейного и 4:1 для Т-линейного

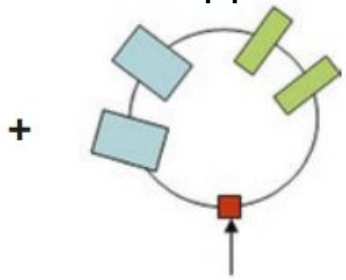
Механизм VDJ рекомбинации

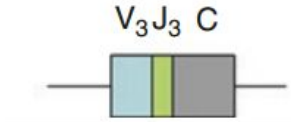




Комплекс RAG объединяет случайные фрагменты V и O с образованием кольцевидной структуры и сшивает их с образованием кодирующего фрагмента ДНК







Присоединение после сплайсинга фрагмента, кодирующего константный участок

Rezaei N et al. Primary Immunodeficiency Diseases: Definition, Diagnosis, and Management. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg (2017).

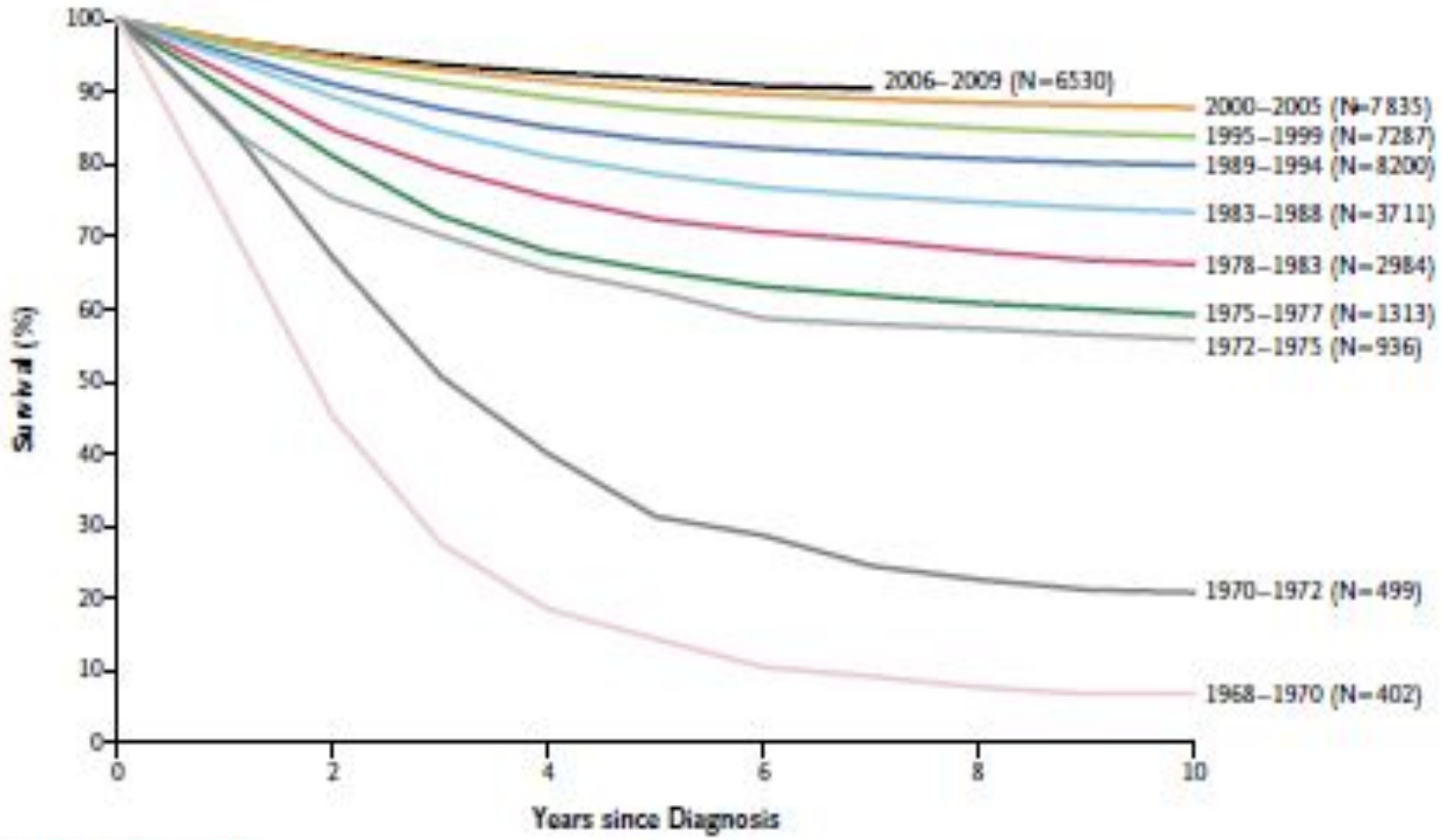
Принципы терапии

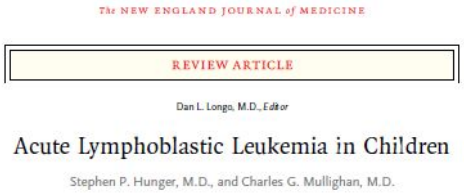
- ОЛЛ
- Интенсивная многокомпонентный химиотерапия (4-6 месяцев). Большее применение ГК, L-аспарагиназы
- Профилактика нейролейкемии (ранняя и интенсивная)
- Продолжительная поддерживающая терапия (2-3 года)
- ТГСК у 5% детей

Риск-адаптированная терапия

Общая выживаемость детей с ОЛЛ

(данные CCG и COG исследований 1968-2009гг)




The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

REVIEW ARTICLE

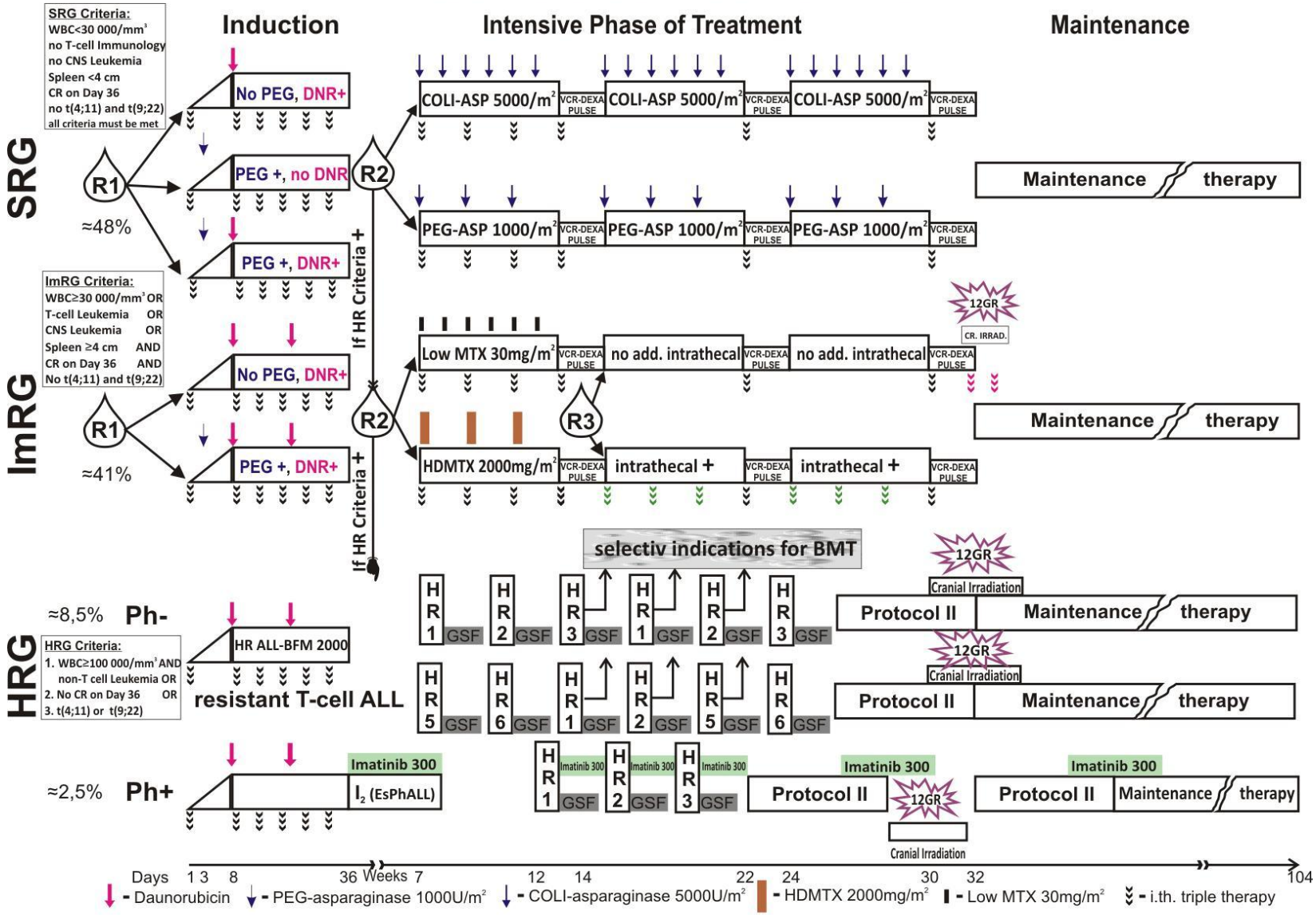
Dan L. Longo, M.D., Editor

Acute Lymphoblastic Leukemia in Children

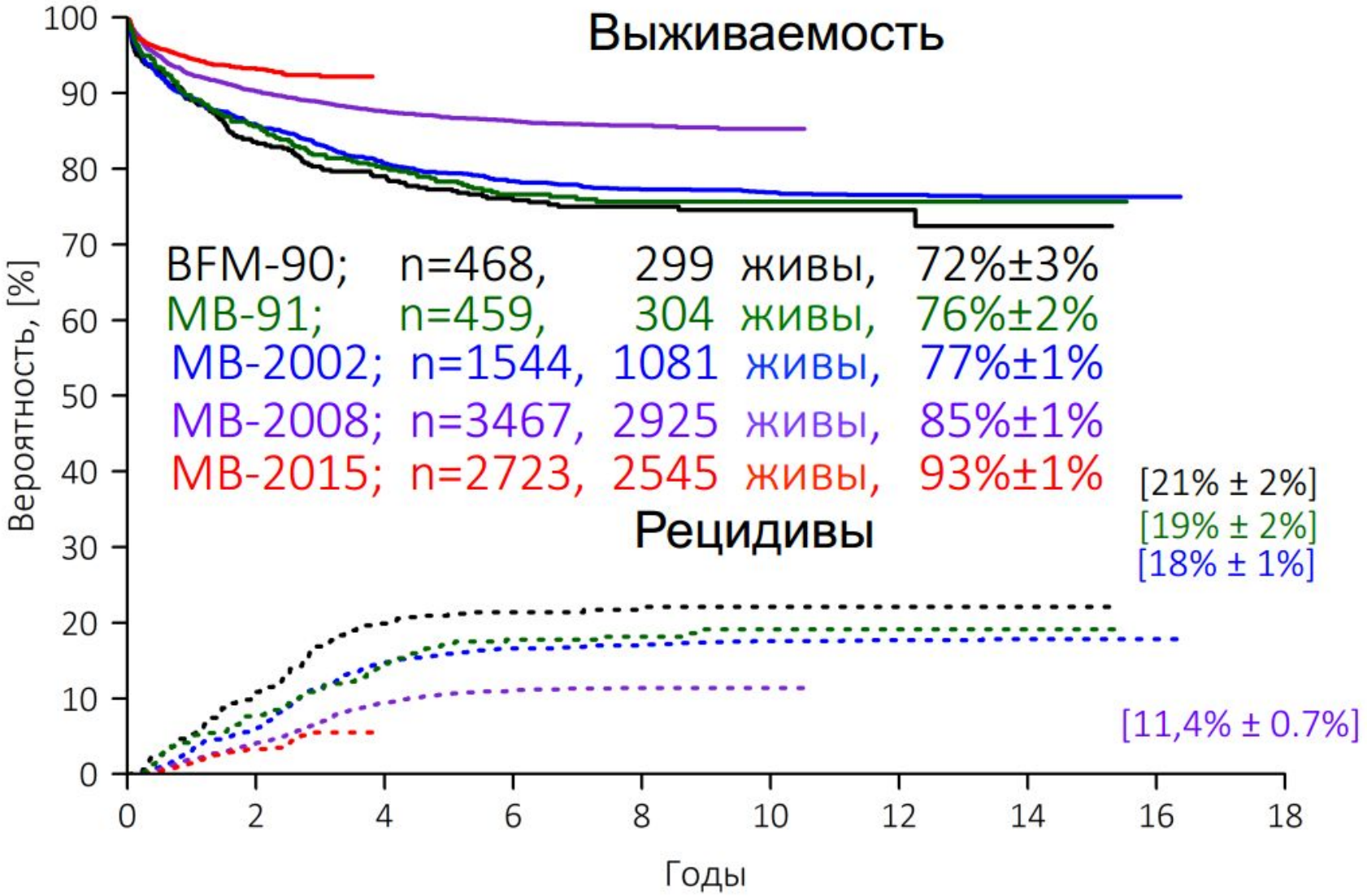
Stephen P. Hunger, M.D., and Charles G. Mullighan, M.D.

SP Hunger and CG Mullighan, N Engl J Med, 2015

ALL-MB 2008: Treatment Plan

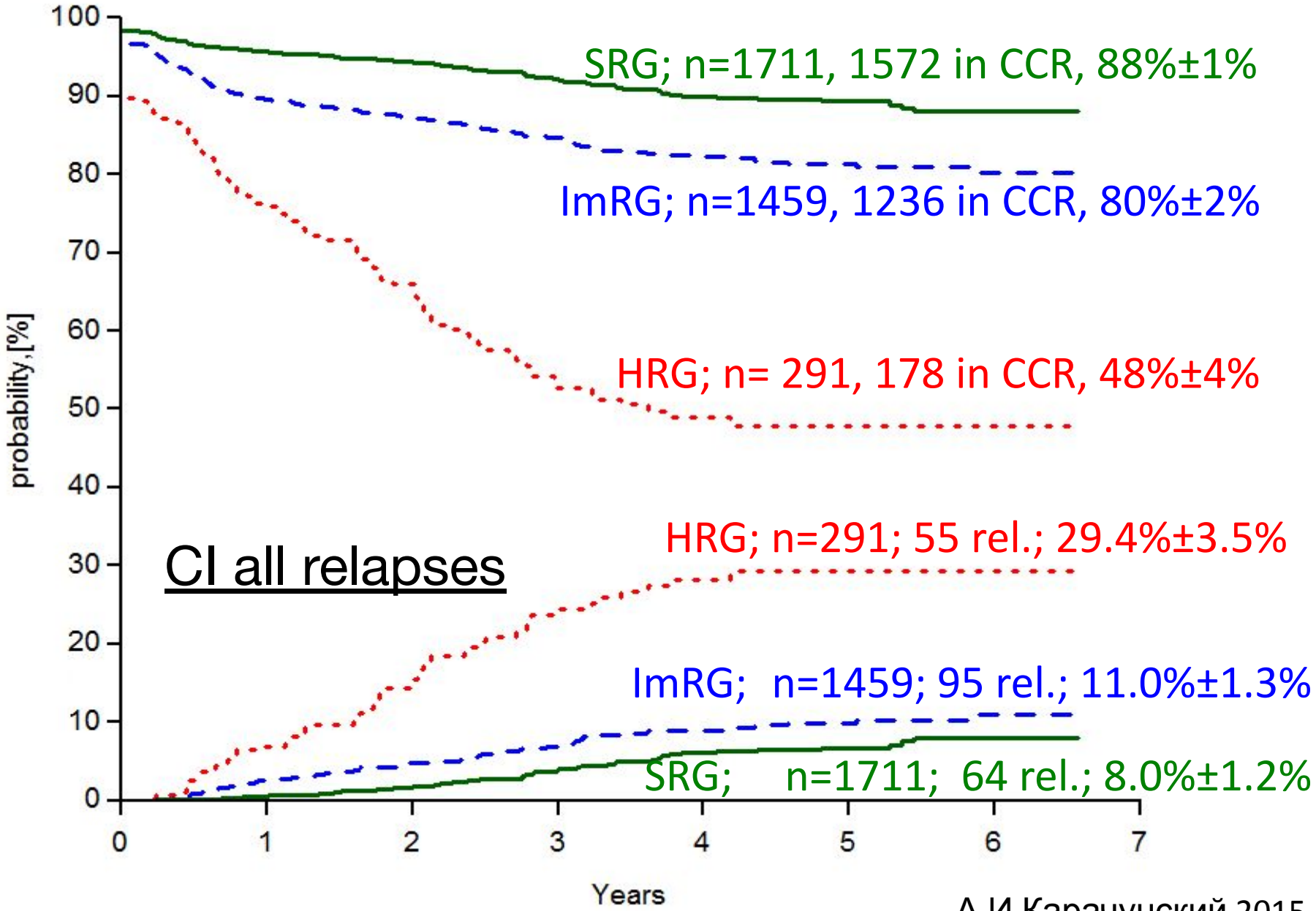


Результаты лечения ОЛЛ



А.Г.Румянцев (НОДГО 2019)

ALL-MB 2008:
Результаты терапии в зависимости от группы риска

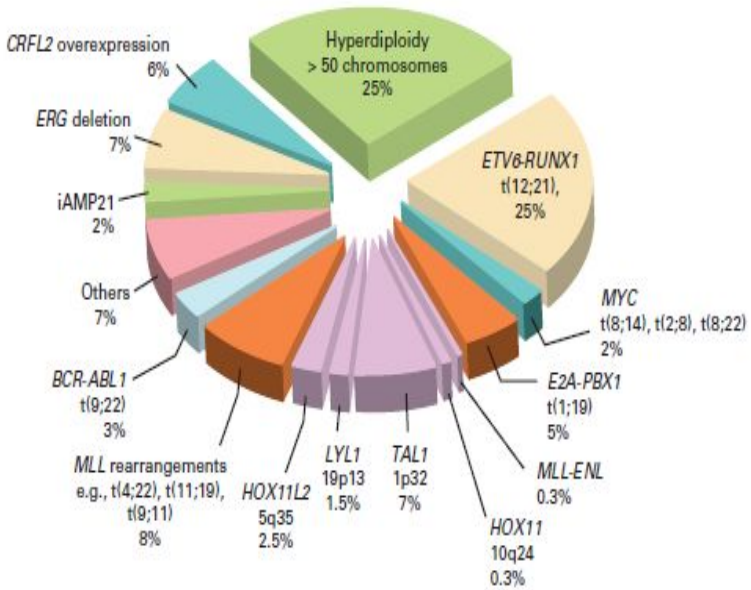


А.И.Карачунский 2015

Прогностические факторы ОЛЛ у детей

Фактор	Благоприятные	Неблагоприятные
Возраст	>1 года и < 10 лет	<1 года и >10 лет
Пол	Женский	Мужской
Инициальный лейкоцитоз	< 50 х10|9/л	> 50 х 10|9/л
Иммунофенотип	Common ОЛЛ	Про-В, ТлинейныйОЛЛ
Поражение ЦНС	НЕТ	ДА
Генетические аномалии	Гипердиплоидность, t(12;21) TEL/AML,	Гиподиплоидность, t(9;22), t(4;11) реанжировка MLL
Ранний ответ на терапию	Да на 7 и 15 день	Нет на 7 и 15 день
Статус ремиссии после индукции	Полная ремиссия	Отсутствие ремиссии
МОБ	< 0,01% через 6-8 нед терапии	> 0,01% через 6-8 нед терапии

Молекулярно-биологические факторы прогноза ОЛЛ



Хороший прогноз

В-предшественники

Hyperdiploidy > 50
t(12;21)(p13;q22) *ETV6-RUNX1*

Trisomies 4 and 10
t(1;19)(q23;p13) *TCF3-PBX1*

Т-предшественники

TAL/LMO rearrangement
HOX11 rearrangement
MLL-ENL
NOTCH/FBXW7 mutations

Плохой прогноз

В-предшественники

Intrachromosomal amplification of chromosome 21
t(4;11)(q21;q23) *MLL-AF4*

t(9;22)(q34;q11.2) *BCR-ABL1*

t(8;14)(q23;q32.3)

Hypodiploidy < 44 chromosomes
CRLF2 overexpression

1KZF1 deletions/mutations
JAK mutations

Т-предшественники

HOX11L2 (TLX3) rearrangement
HOXA rearrangement
Early T-cell precursor

PTEN-P13K-AKT pathway

Т-предшественники

NUP214-ABL1 – **чувствительны к ИТК**

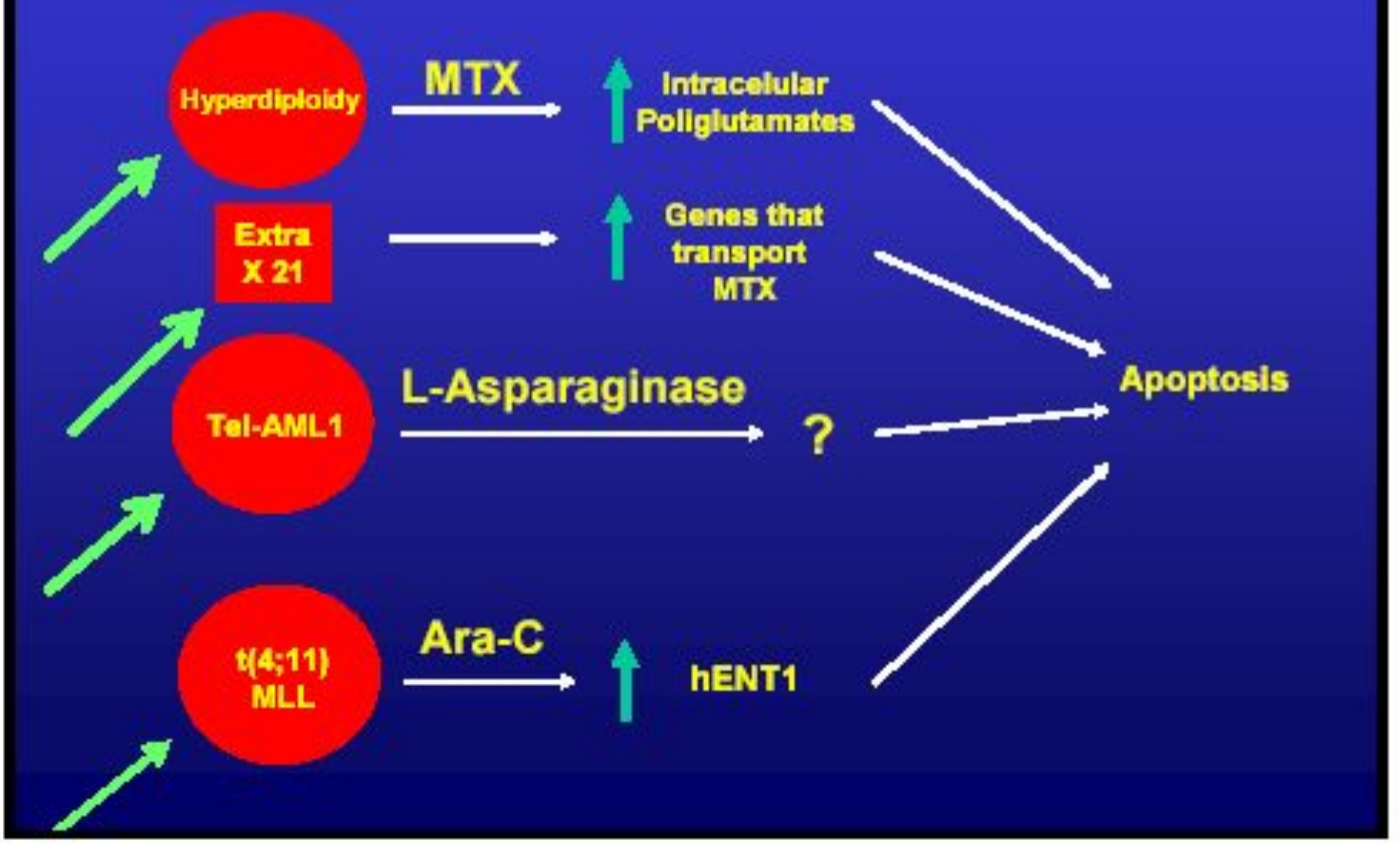
В-предшественники

JAK mutation – **потенциально чувствительны к ингибиторам *JAK2***

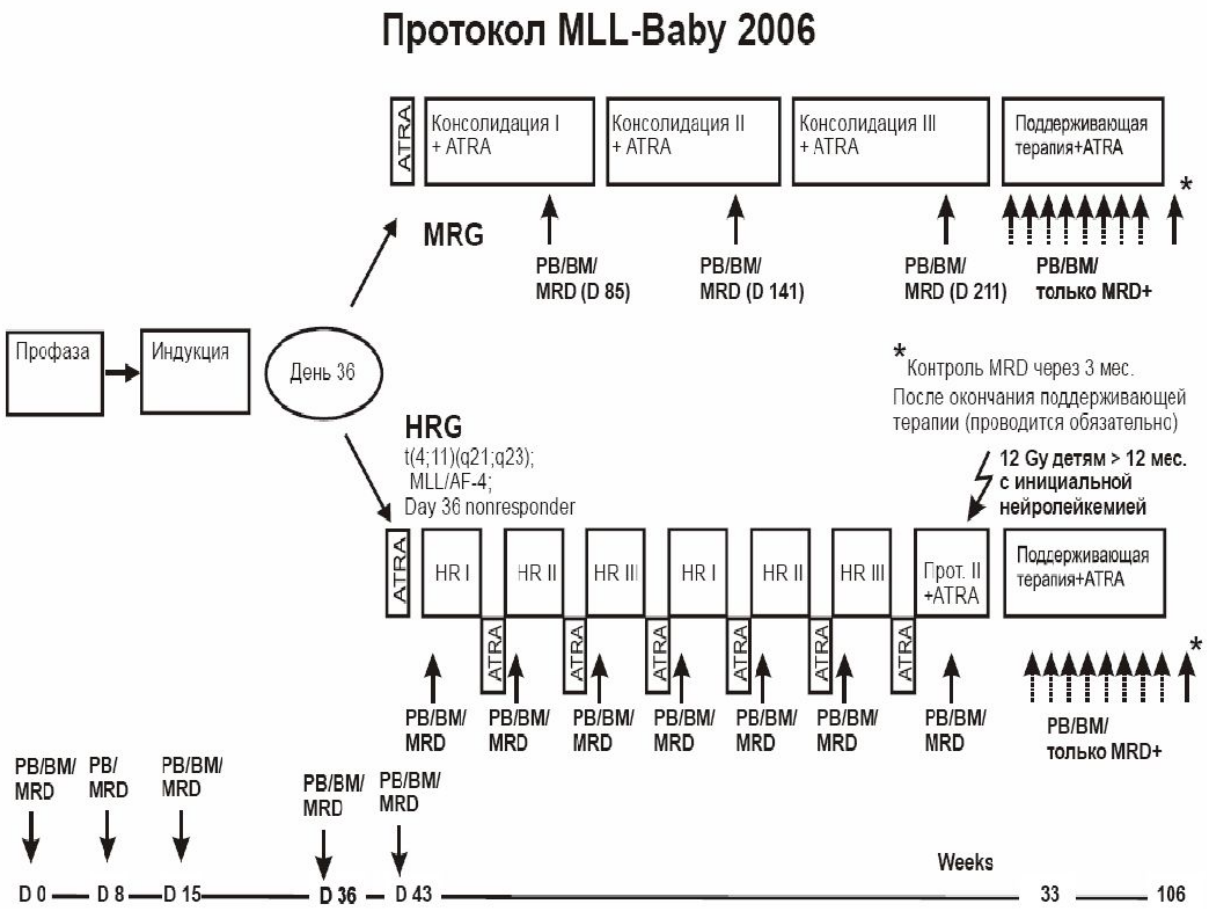
Biology, Risk Stratification, and Therapy of Pediatric Acute Leukemias: An Update
Ching-Hon Pui, William L. Carroll, Soheil Meshinchi, and Robert J. Arceci

J.Clin.Oncol., 2011, v.29, p.551

Генотип ОЛЛ и терапевтический ответ



ОЛЛ у детей до 1 года

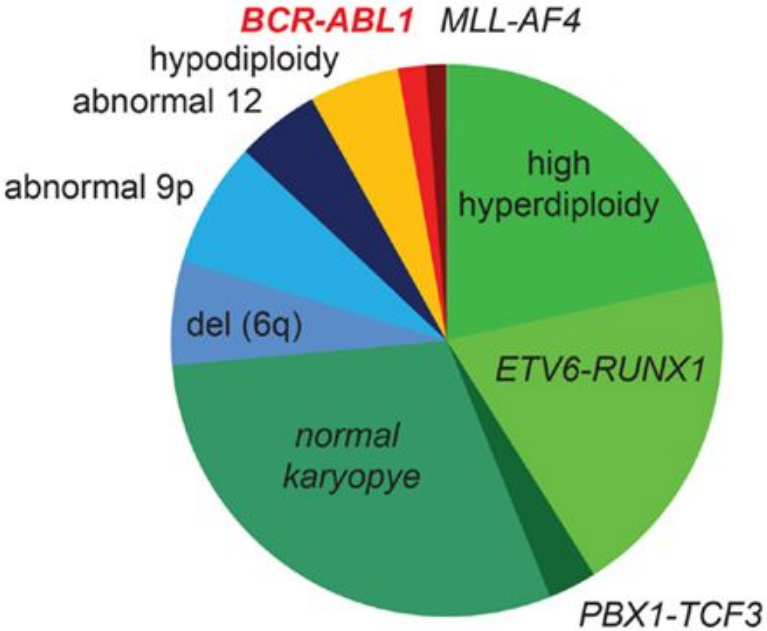


- 3-5% от ОЛЛ
- Неблагоприятный прогноз (5-летняя ОВ 35-40%)
- Часто исходный лейкоцитоз
- Часто поражение ЦНС

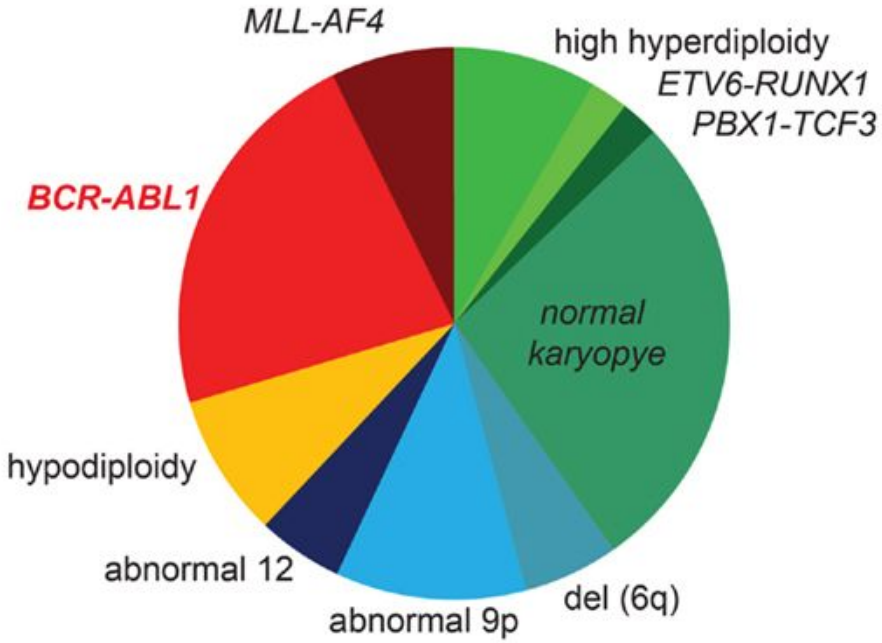
Фечина Л.Г., г.Екатеринбург

Ph+ ОЛЛ у детей и взрослых

Частота у детей (1-18 лет)

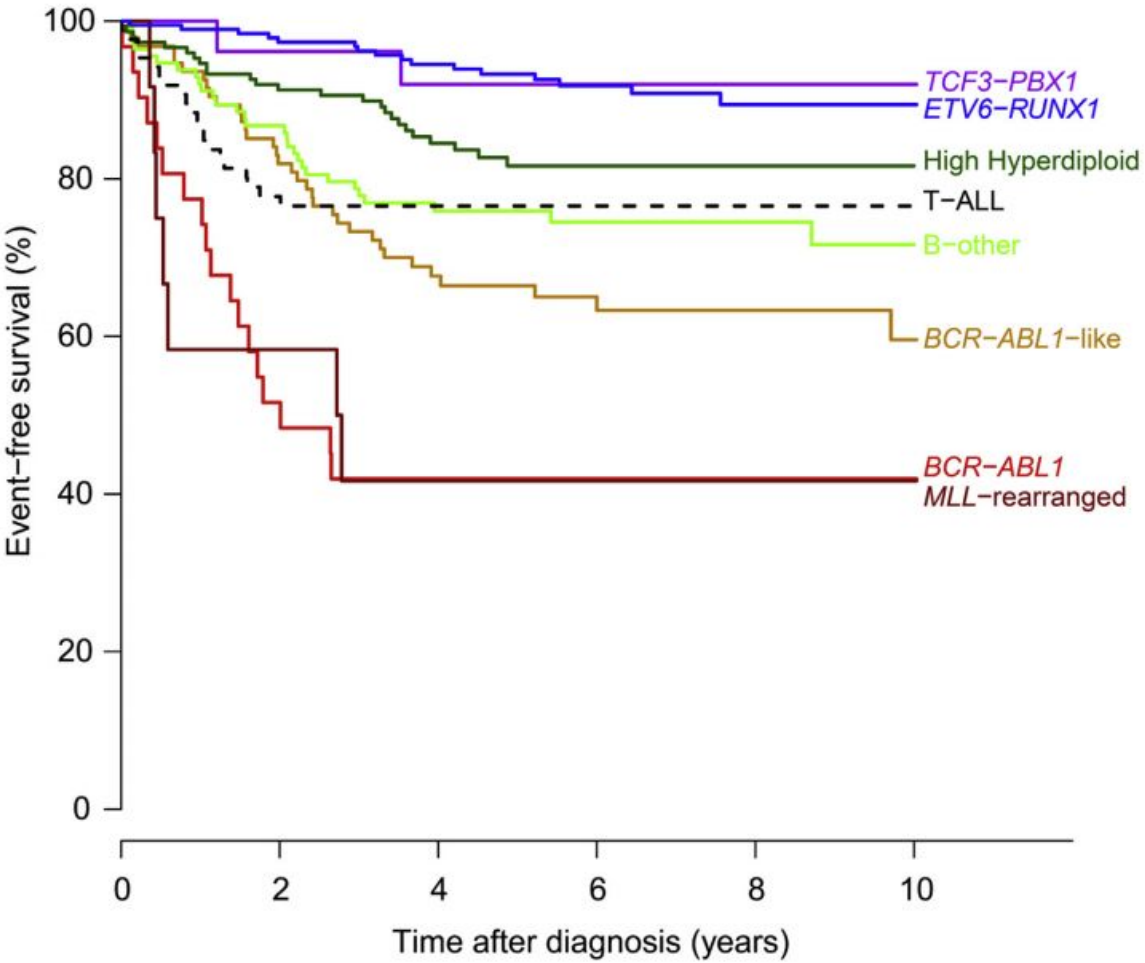


Частота у взрослых (>18 лет)



Bernt KM, Hunger SP. Front Oncol 2014 25; 4: 54.

Прогноз до эпохи ИТК

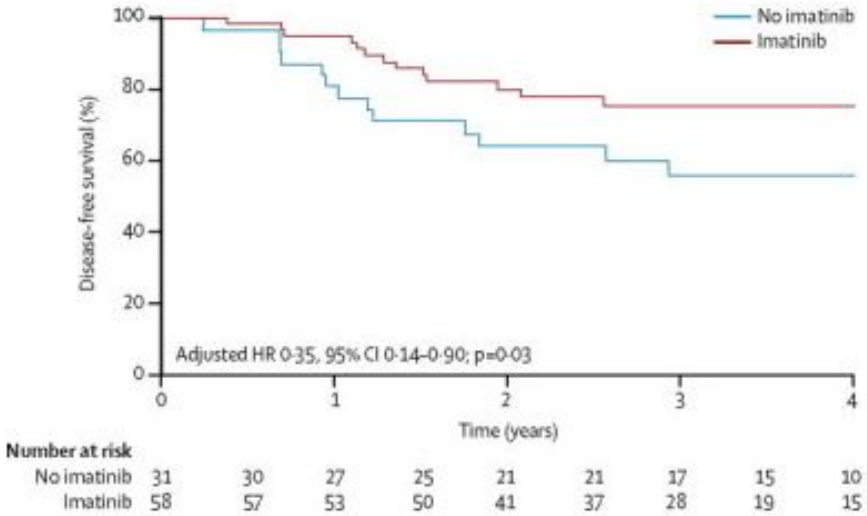


Данные голландской группы DCOG и немецкой COALL до введения в практику ингибиторов тирозинкиназ.

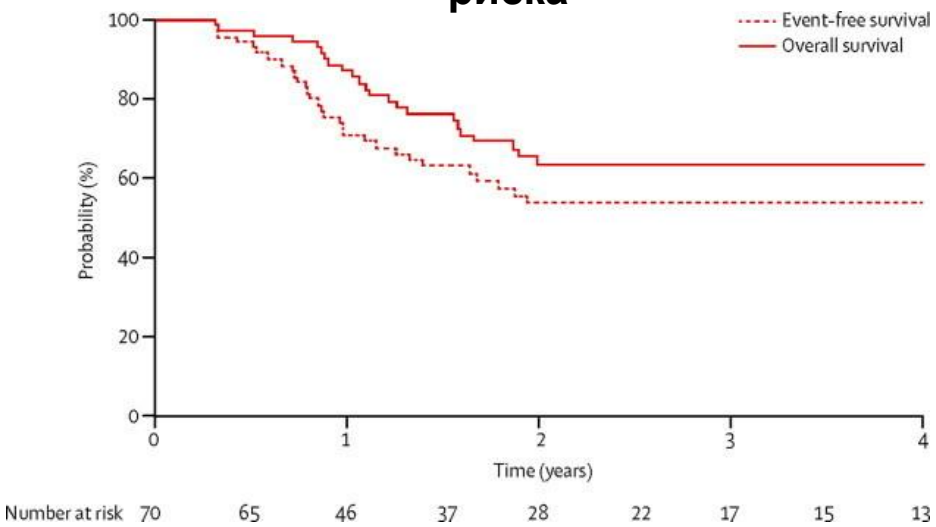
Van der Veer A et al. Blood 2013;122(15):2622e9

Результаты исследования EsPhALL

БСВ в группе стандартного риска



ОВ и БСВ в группе высокого риска



Biondi A et al. 2012; 13(9): 936–945.

Минимальная остаточная болезнь (МОБ)

- Материал для исследования - КМ, для Т-ОЛЛ – КМ и перифер. кровь.
- Методы выявления МОБ:

Проточная цитометрия – $1:10^4$ (80%)

Молекулярно-биологическая детекция продуктов реарранжировки генов иммуноглобулинов и Т-клеточного рецептора -$1:10^5$ (98%)

Молекулярно-биологическое выявление химерных генов- $1:10^6$

Влияние МОБ на безрецидивную выживаемость пациентов с ОЛЛ

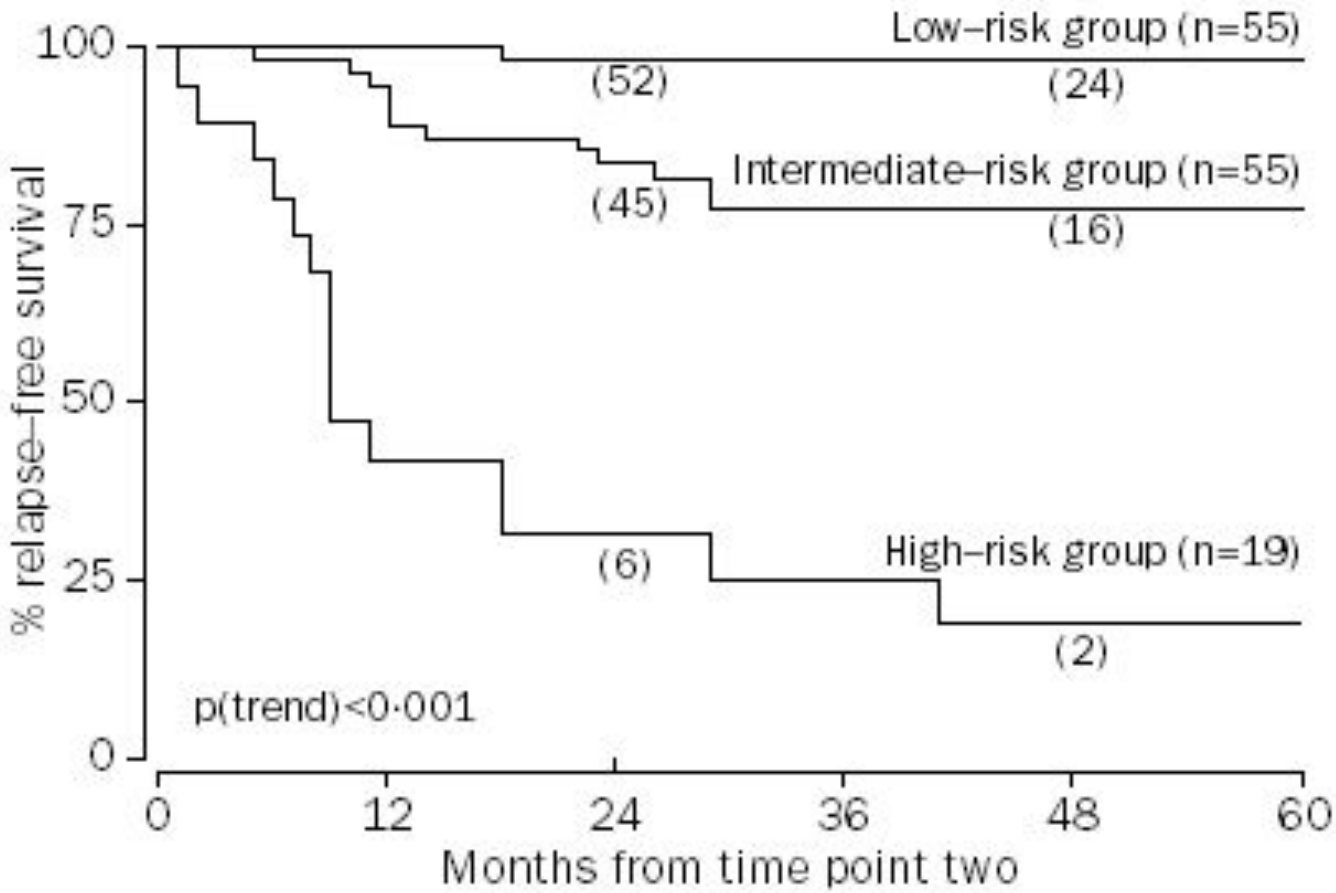
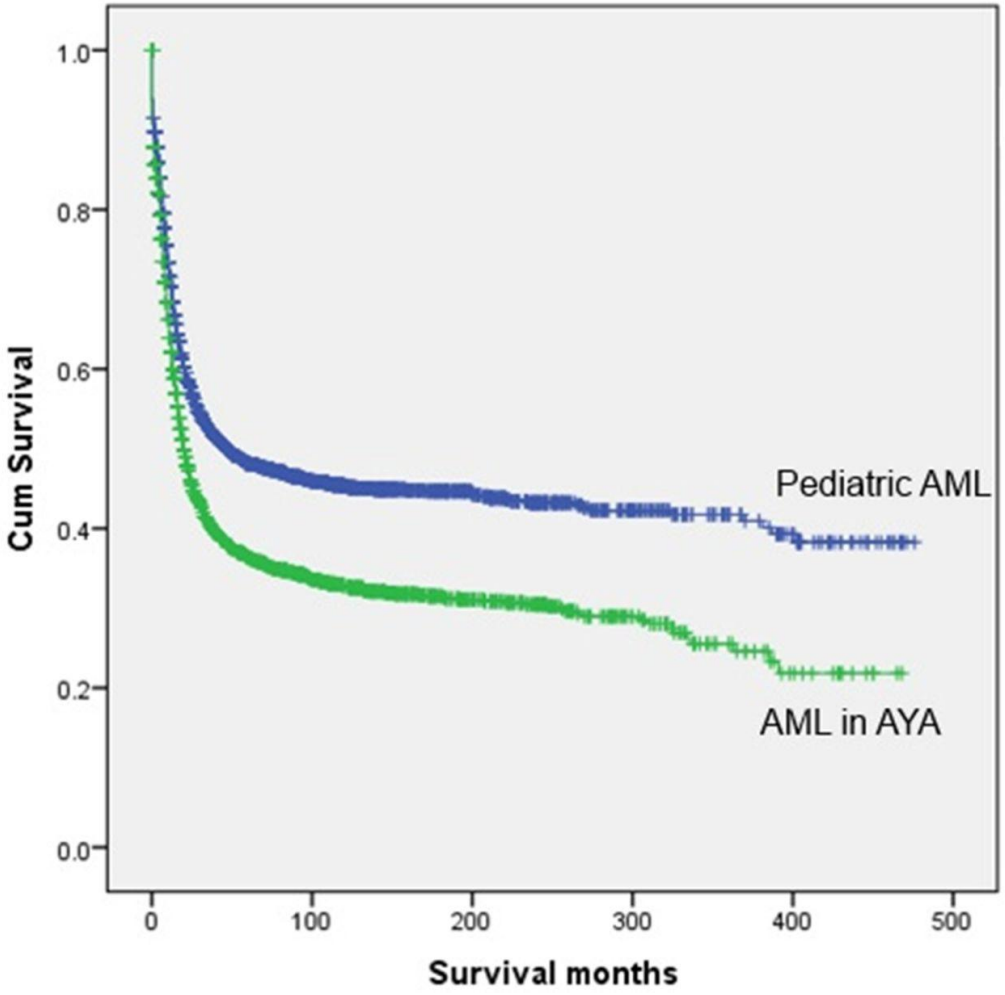


Figure 4: **Relapse-free survival of the three MRD-based risk groups, as defined by MRD information at time points one and two**

Van Dongen, The Lancet, 1998

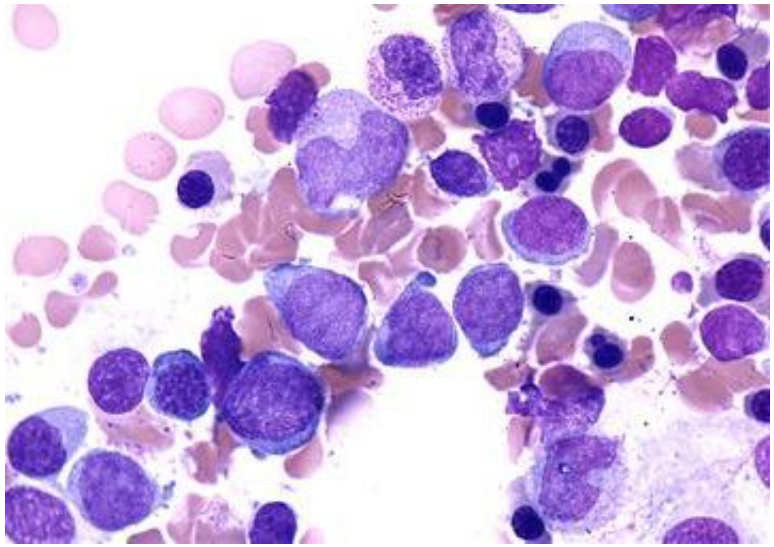
Острый миелобластный лейкоз



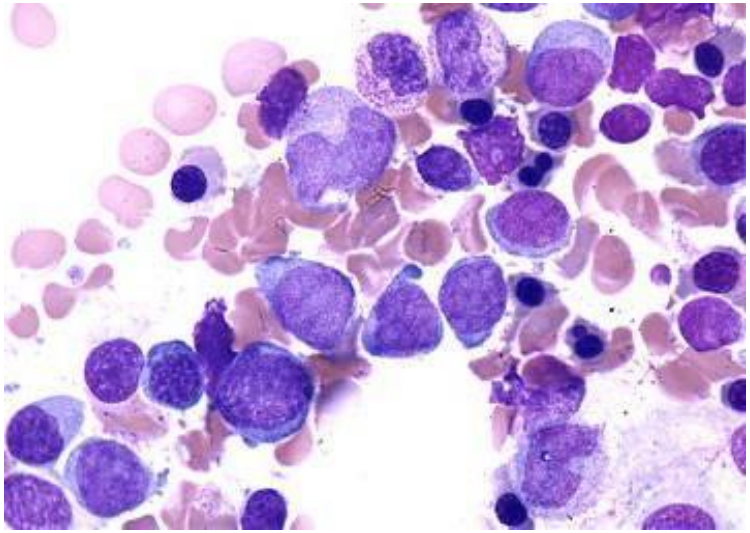
- 15-20% пациентов с острыми лейкозами
- Прогноз хуже, чем при ОЛЛ: 5-летняя общая выживаемость 40-50%
- 10-20% пациентов с первичной резистентностью

Smith Giri et al. Blood 2015;126:4484

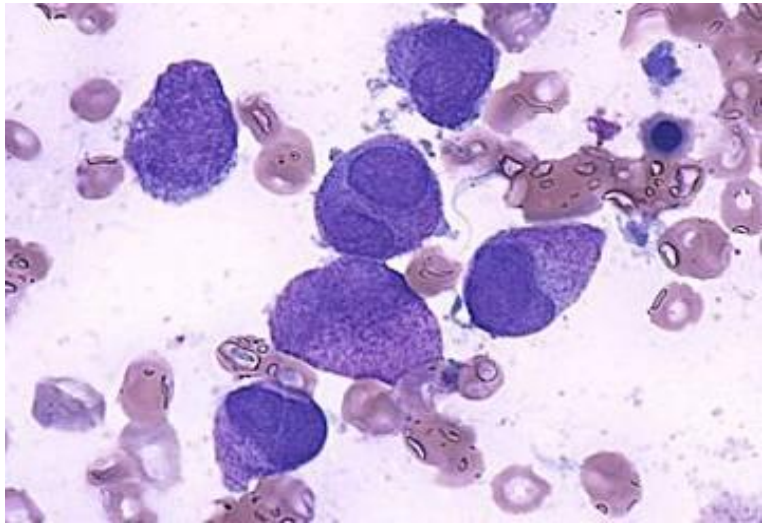
M1



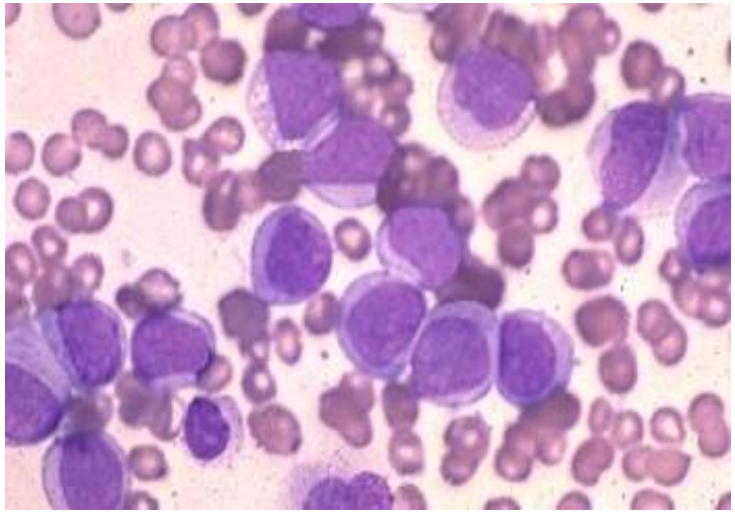
M2



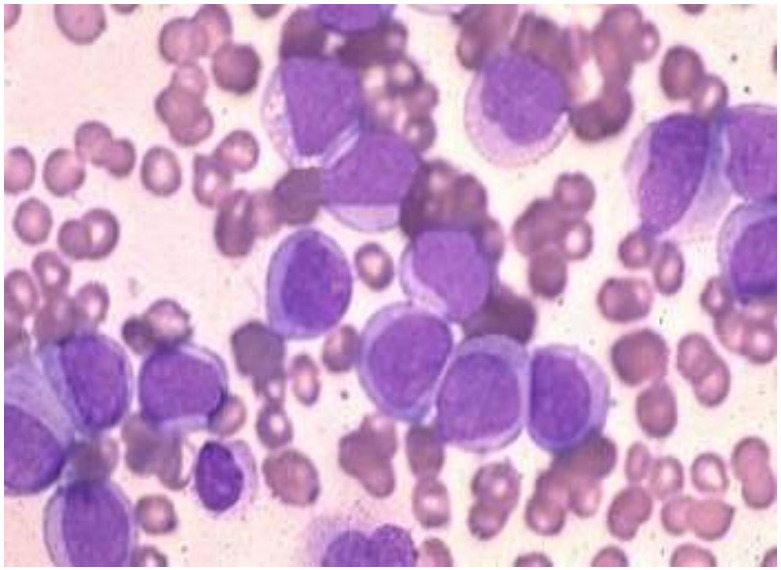
M3



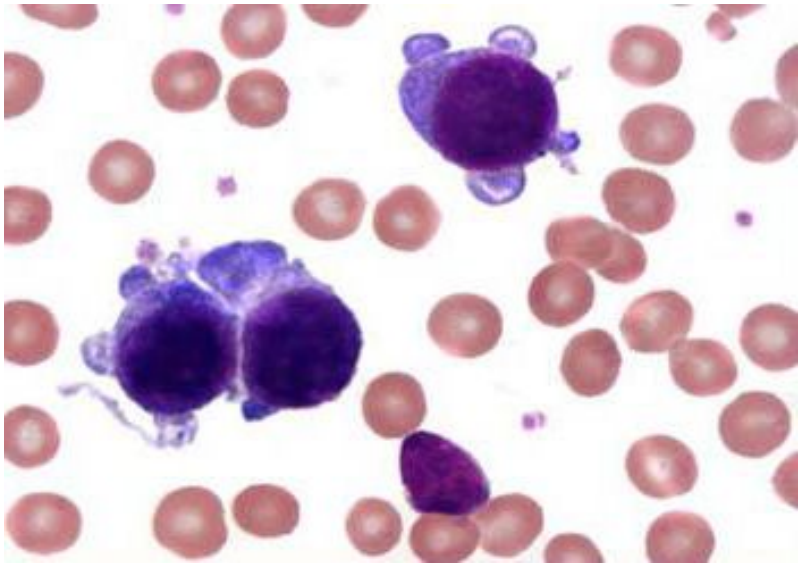
M4



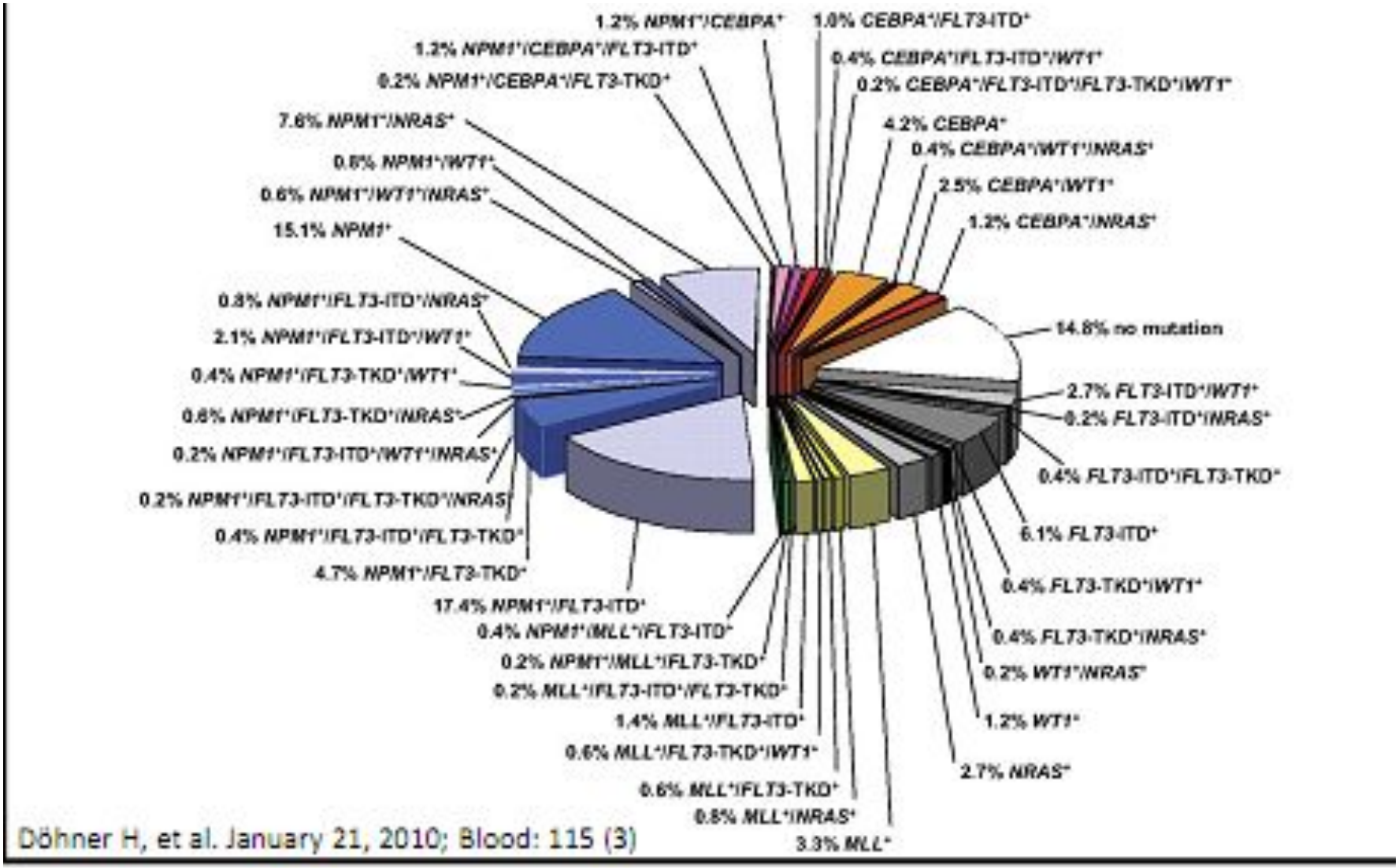
M6



M7

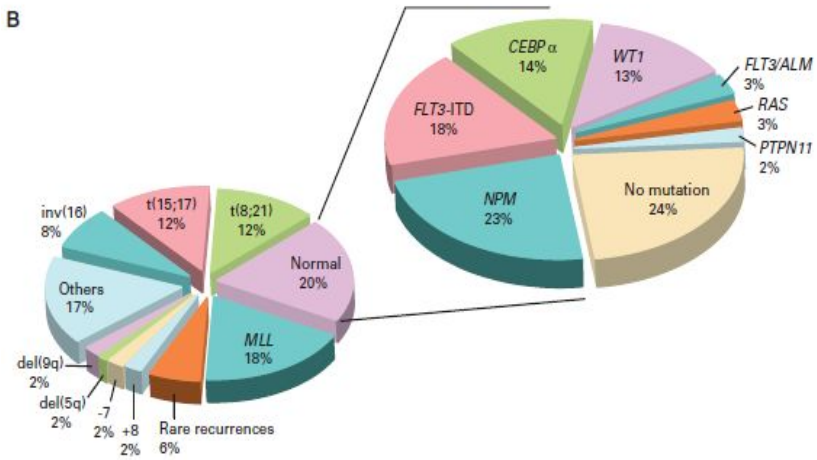


Классификация ОМЛ у детей



Döhner H, et al. January 21, 2010; Blood: 115 (3)

Факторы прогноза при ОМЛ



Хороший прогноз

FAB : M3 (APL)

Возраст – не имеет значения

Синдром Дауна

Молекулярные изменения, связанные с хорошим прогнозом:

t(8;21) (*RUNX1-RUNX1T1*):

inv(16) (*CBFB-MYH11*):

t(15;17) (*PML-RARA*):

Nucleophosmin (*NPM1*)

CEBPA

Плохой прогноз

FAB : M0, или с минимальной дифференцировкой M7 (megakaryocytic leukemia)

Индекс массы тела: избыточный вес по возрасту более 95%

Лейкоцитоз более 50 x 10^9/л

ЦНС – нейролейкемия

Плохой ответ >15% бластов после 1 индукции

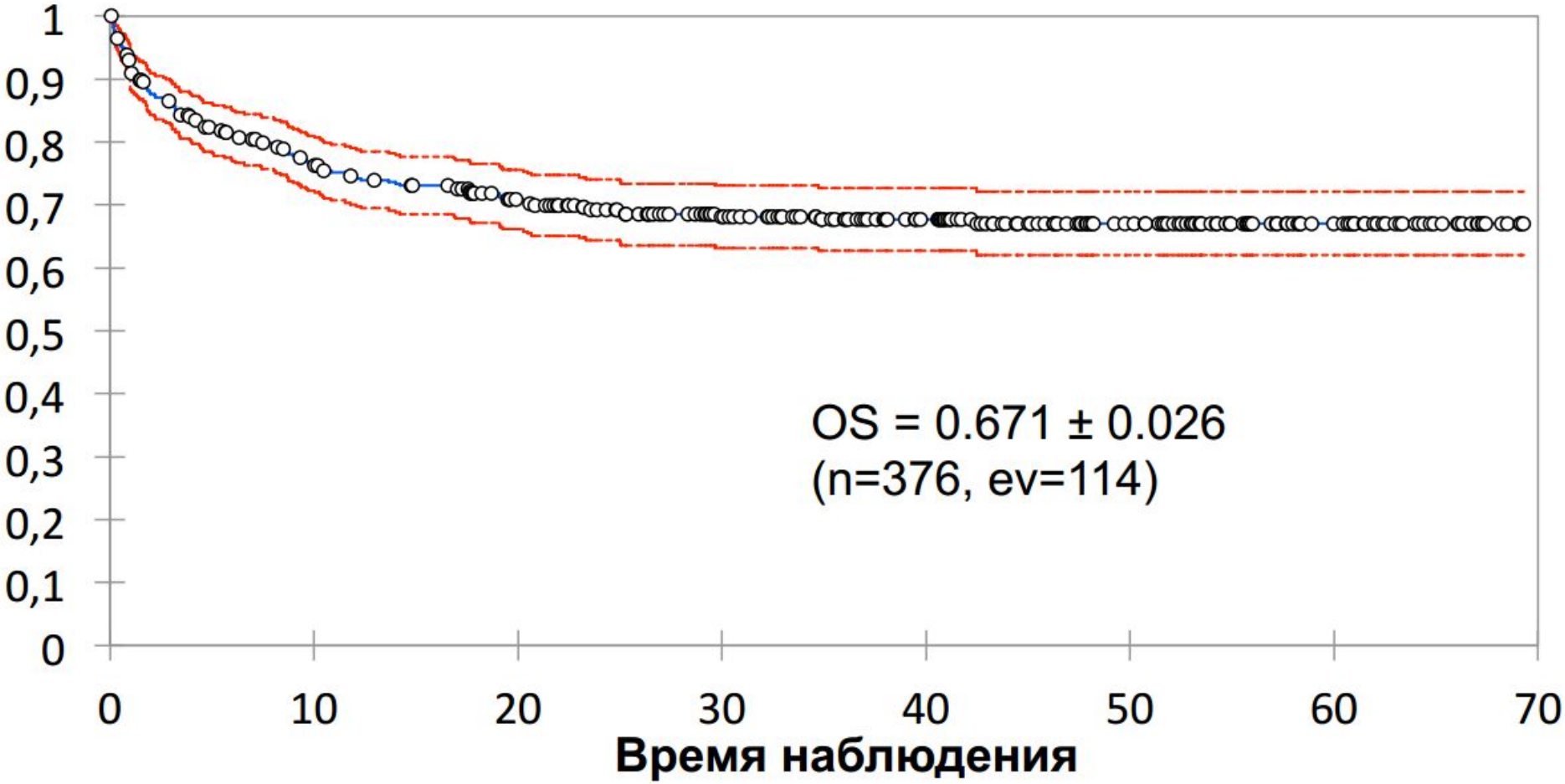
Молекулярные изменения, связанные с плохим прогнозом :

Chromosomes 5 and 7 abnormalities

Chromosome 3 (inv(3)(q21;q26) or t(3;3)(q21;q26)) and *EVI1* overexpression

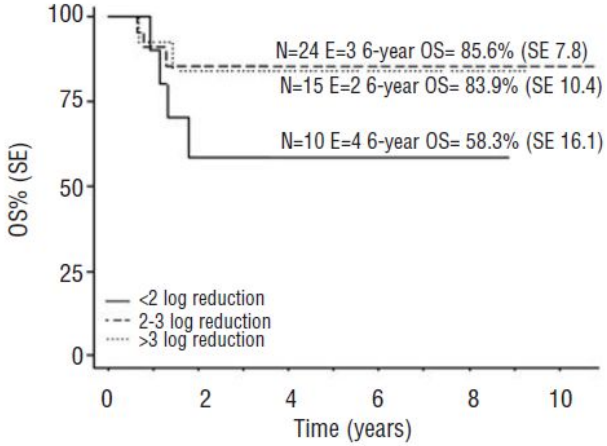
FLT3

Общая выживаемость детей с ОМЛ в РФ



А.Г.Румянцев (НОДГО

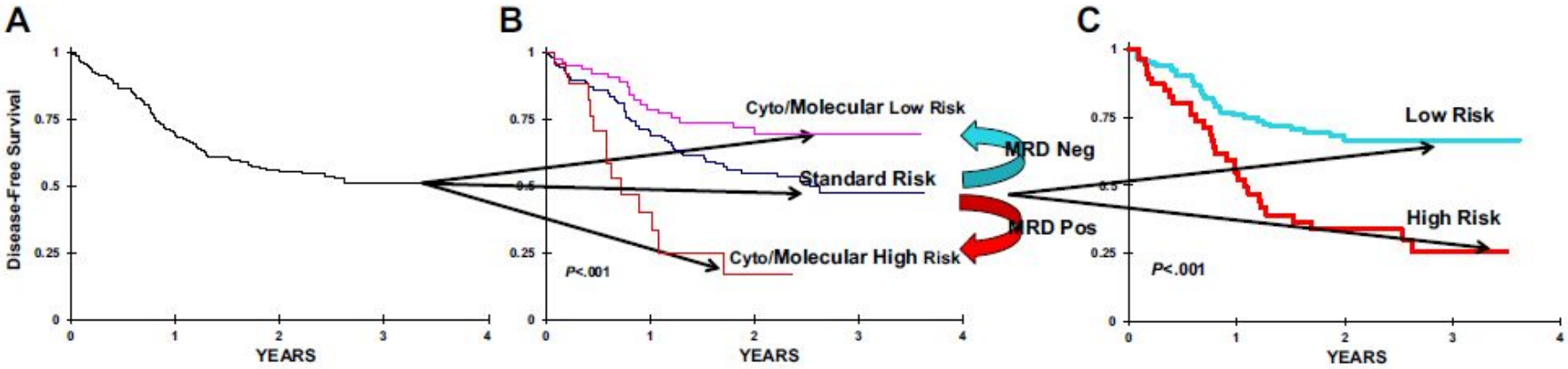
Стратификация на группы риска пациентов с ОМЛ в зависимости от цито/молекулярно-генетических маркеров и МОБ



Общая выживаемость в зависимости от снижения
MRD (log reduction) у детей с ОМЛ *RUNX1-RUNX1T1* *(благоприятный прогноз)*

Martina Pigazzi,[1] Elena Manara,[1] Barbara Buldini,[1] Valzerda Beqiri,[1] Valeria Bisio,[1] Claudia Tregnago,[1] Roberto Rondelli,[2] Riccardo Masetti,[2] Maria Caterina Putti,[1] Franca Fagioli,[3] Carmelo Rizzari,[4] Andrea Pession,[2] and Franco Locatelli[5] and Giuseppe Basso[1]**

haematologica 2015; 100:e99



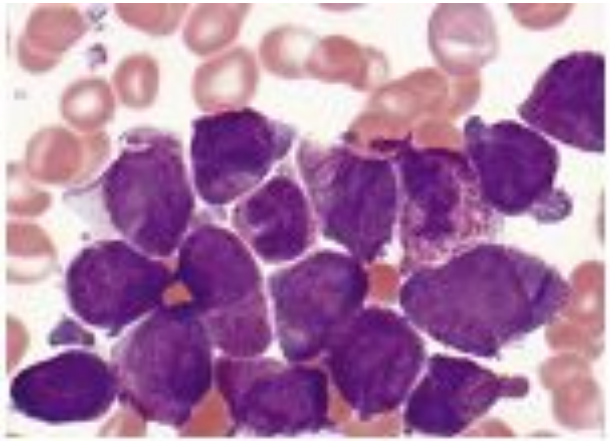
Принципы терапии

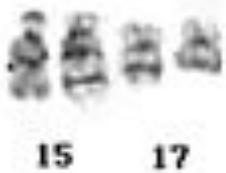
- ОМЛ
- Интенсивные циклы ХТ (цитозар+антрациклины)
- Профилактика нейролейкемии
- ТГСК у 50% детей

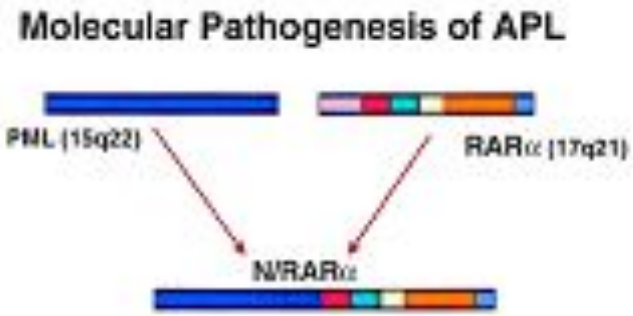
Риск-адаптированная терапия

Промиелоцитарный лейкоз у детей

- 3-5% от всех ОМЛ
- Высокая частота развития лейкостаза и коагулопатии

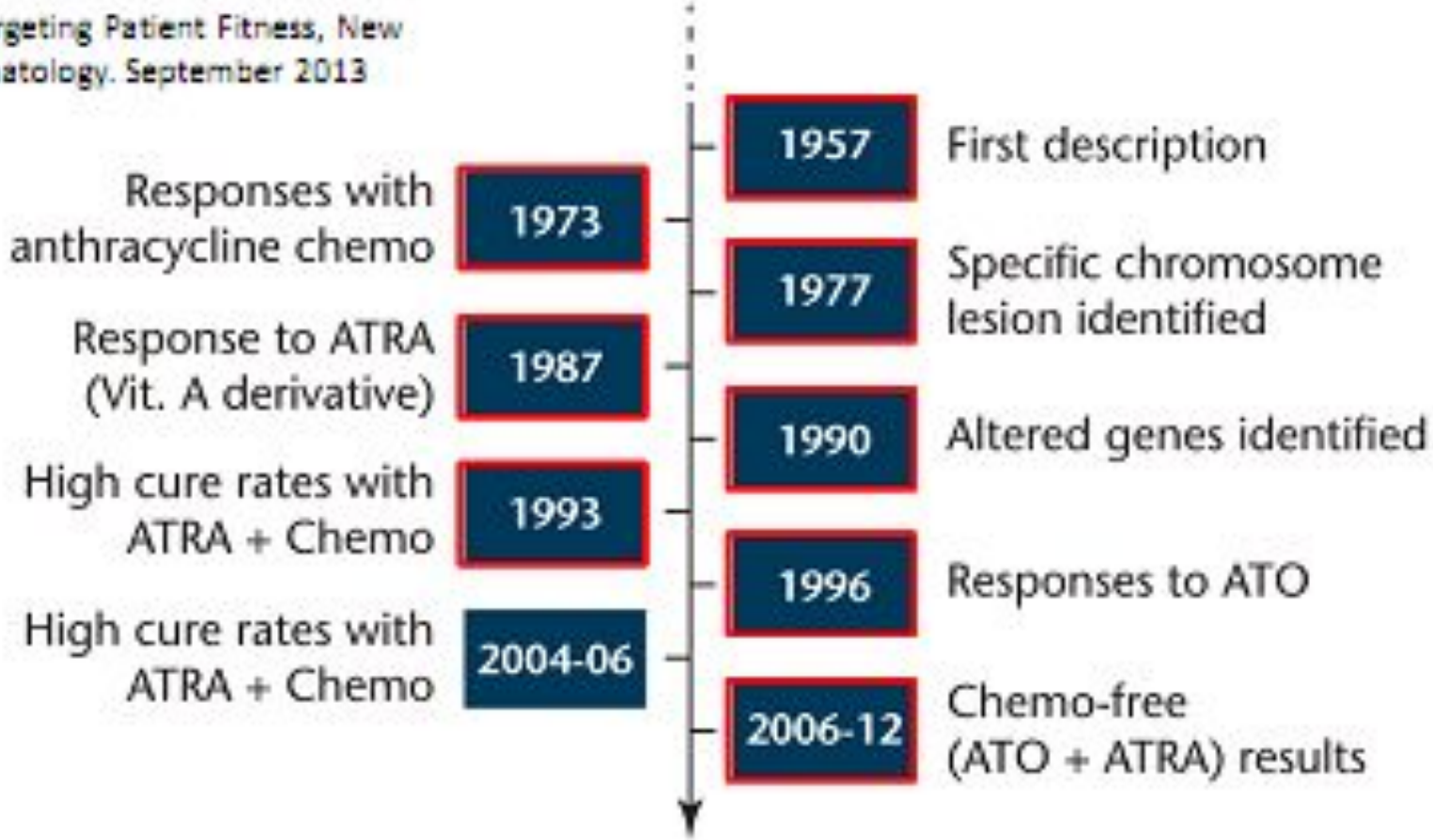






Терапия ОПЛ (исторические вехи)

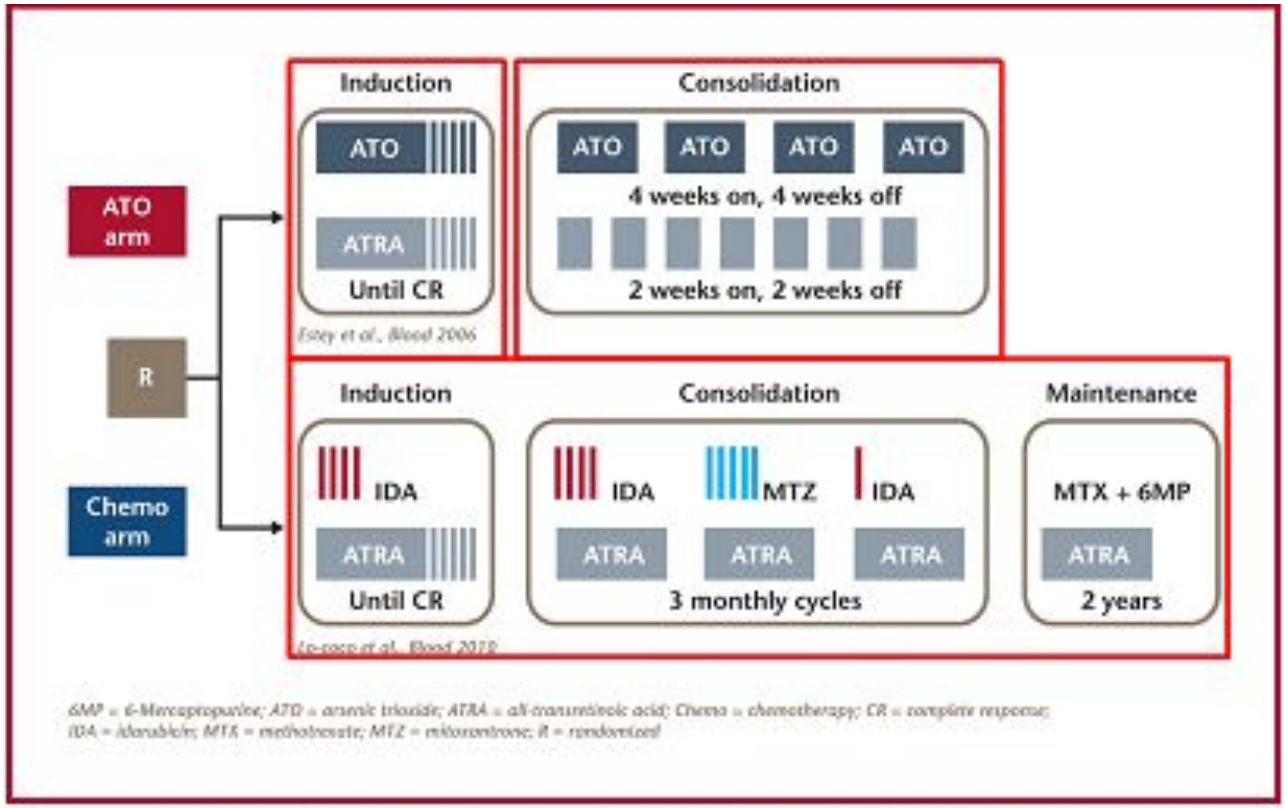
Hematology , Targeting Patient Fitness, New Evidence in Hematology. September 2013



ATO = arsenic trioxide; ATRA = all-transretinoic acid; Chemo = chemotherapy

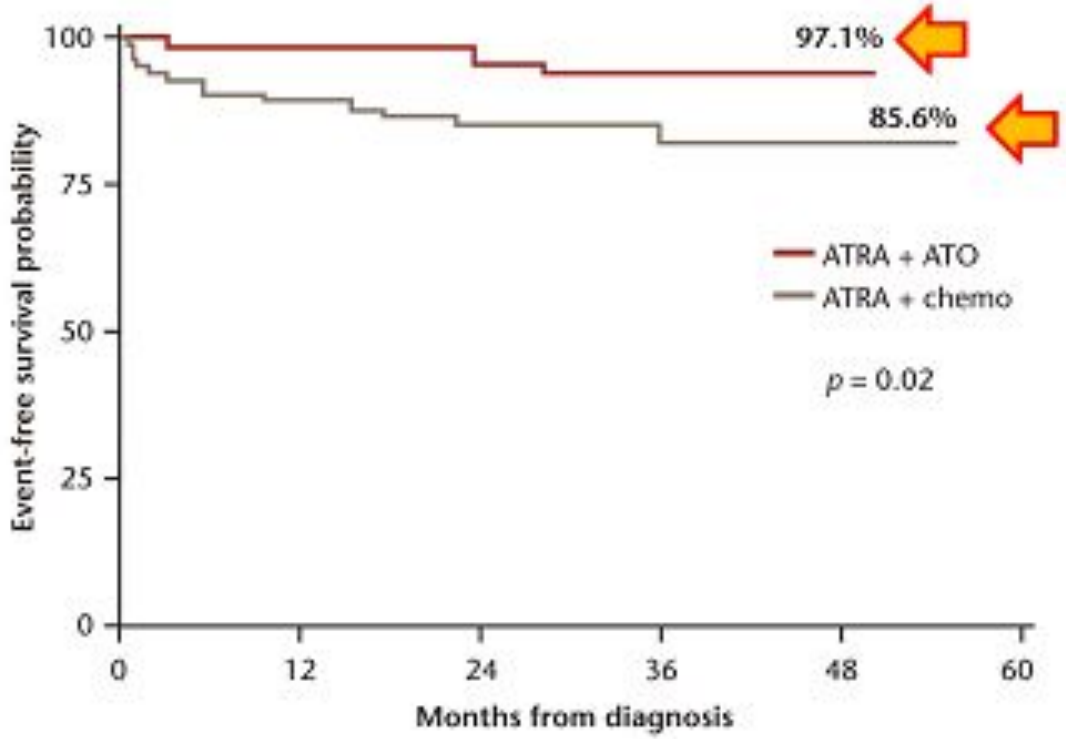
Adapted from Dr. Lo-Coco's presentation at AMHOQ, 2013

Дифференцировочная терапия ОПЛ



Efficace F, Mandelli F, Avvisati G, el al. A randomized phase III trial of retinoic acid and arsenic trioxide versus retinoic acid and chemotherapy in acute promyelocytic leukemia patients: Health-related quality of life outcomes. EHA Congress Abstracts 2014-S1330

Бессобытийная выживаемость пациентов с ОПЛ



ATO = arsenic trioxide; ATRA = all-transretinoic acid; Chemo = chemotherapy

Hematology , Targeting Patient Fitness, New Evidence in Hematology. September 2013

ОМЛ при синдроме Дауна

- Риск развития ОЛ в течении первых 5 лет жизни увеличивается в 50 раз
- Более 50% лейкозов – миелоидные
- Изменения в костном мозге, характерные для МДС
- Более высокая чувствительность к ПХТ
- У 10% транзиторный аномальный миелопоэз (ТАМ) – возникает на первой неделе жизни, не требует лечения, в 70% случаев спонтанная регрессия

ОМЛ при синдроме Дауна

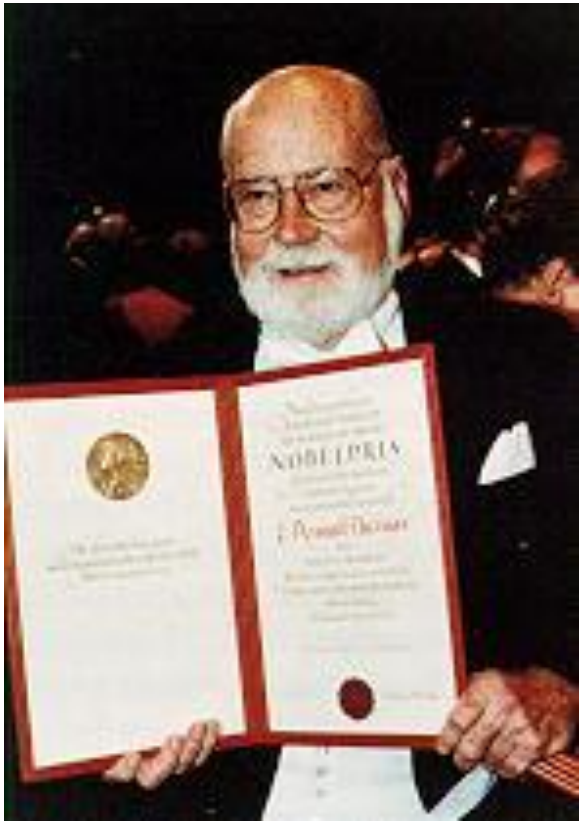
- Риск развития ОЛ в течении первых 5 лет жизни увеличивается в 50 раз
- Более 50% лейкозов – миелоидные
- Изменения в костном мозге, характерные для МДС
- Присутствует мутация в GATA-1 гене
- Более высокая чувствительность к ПХТ

Транзиторный аномальный миелопоэз (ТАМ)

- Диагностируется у 10% новорожденных с синдромом Дауна
- Дебют заболевания: первая неделя жизни
- Клинико-морфологическая картина ОМЛ
- Бласты имеют антигенные характеристики мегакариобластов
- Спонтанная ремиссия у 70% в течении 3-х месяцев
- У 30% пациентов трансформируется в ОМЛ (чаще М7)

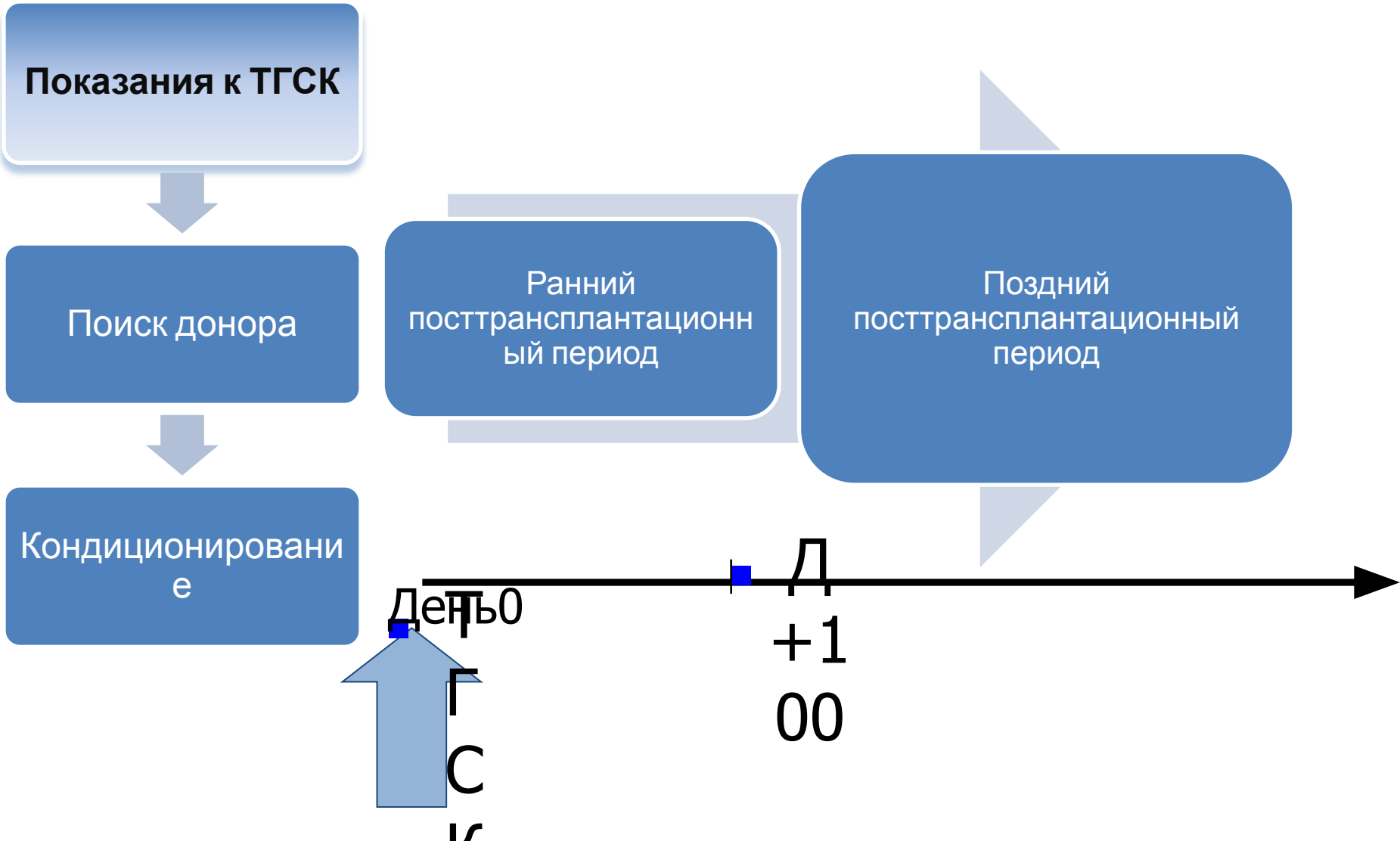
Трансплантация костного мозга:

- Трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) называется введение реципиенту для замещения кроветворения полученных от донора гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) (аутологичных, аллогенных) после назначения миело(немиело)-аблативных и иммуноаблативных доз цитостатических препаратов и/или лучевой терапии (тотального облучения тела).



Проф. Эдвард Доналл Томас –
Нобелевский лауреат (1990) за разработку метода лечения с помощью трансплантации костного мозга

Схема ТГСК


Показания к ТГСК
Поиск донора
Кондиционирование
Ранний посттрансплантационный период
Поздний посттрансплантационный период
День0
ТГСК
Д+100

Исторические этапы развития РК

- 1960-1970: ТГСК как мера «спасения» после летальной дозы облучения, первые режимы кондиционирования основаны на ТОТ в сочетании с циклофосфаном
- 1970-1980:Попытки замены ТОТ «радиомиметиками» и цитостатиками, продемонстрировавших эффективность в стандартных режимах терапии (цитозар, кармустин, тиогуанин, этопозид)
- 1980-1990: понятие дозоинтенсивности, использование максимально переносимых доз (до достижения дозолимитирующей токсичности), снижение числа рецидивов с повышением трансплантационной летальности
- Большая часть режимов исследовано в рамках КИ I-II фазы, пр рандомизации Bu-Cy vs. TBI-Cy продемонстрирована разница в профиле токсичности без явных различий в долгосрочных результатах

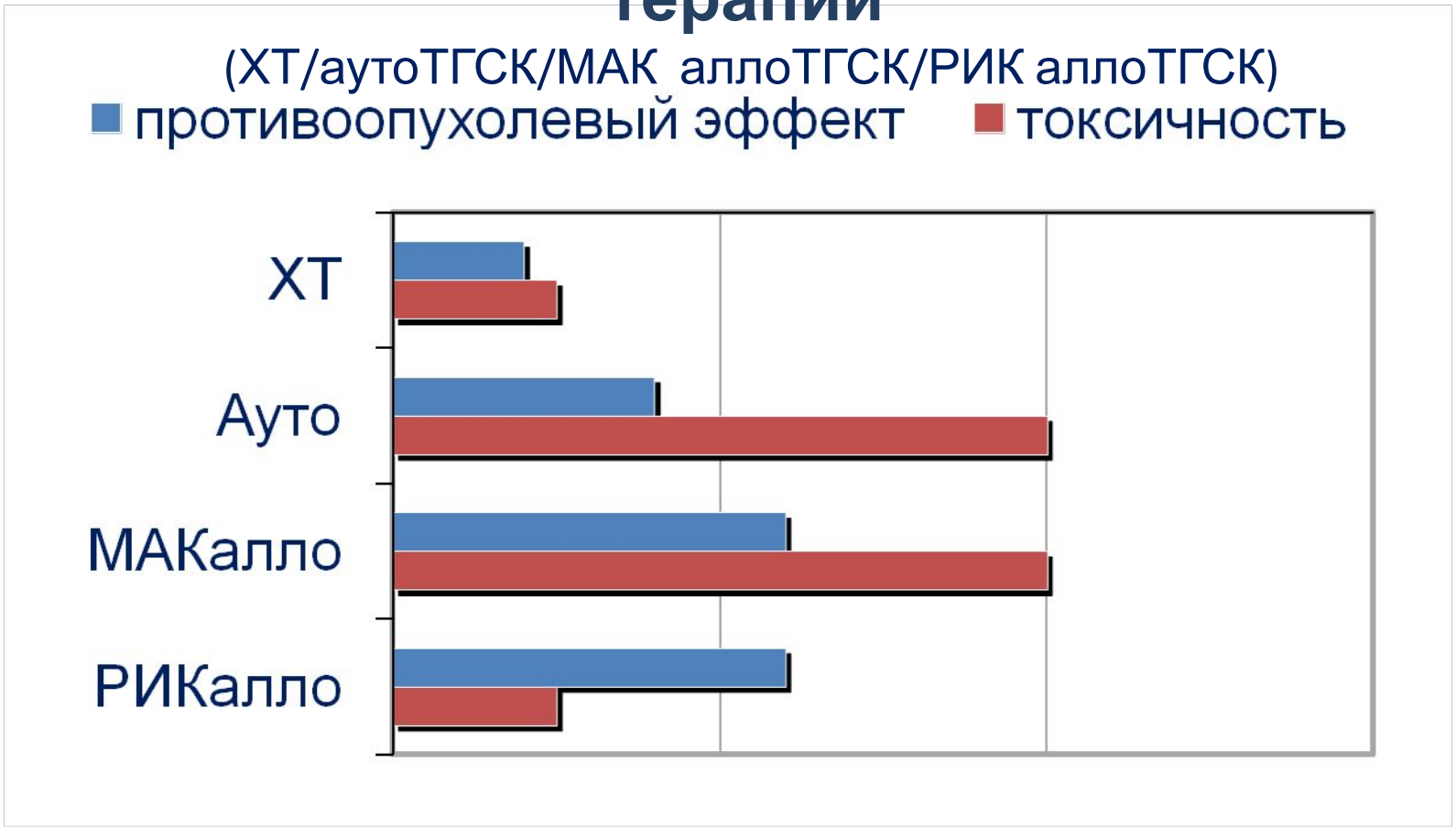
EBMT-ESH Handbook 2012

Концепции, лежащие в основе РК

- «Высвобождение места»: высвобождение гемопоэтических ниш от ГСК реципиента. Аргументы: более быстрое приживление при РИК алло-ТГСК у пациентов с аплазией
- «Иммуносупрессия»: предотвращение реакции «хозяин-против-трансплантата». Необходимость в иммуносупрессии зависит от степени HLA-несовместимости.
- «Эрадикация опухоли»: Зависит от степени злокачественности заболевания

EBMT-ESH Handbook 2012

Соотношение противоопухолевого эффекта и токсичности при различных вариантах терапии



- Peter Dreger,EBMT 2013

Выбор препаратов для режима кондиционирования

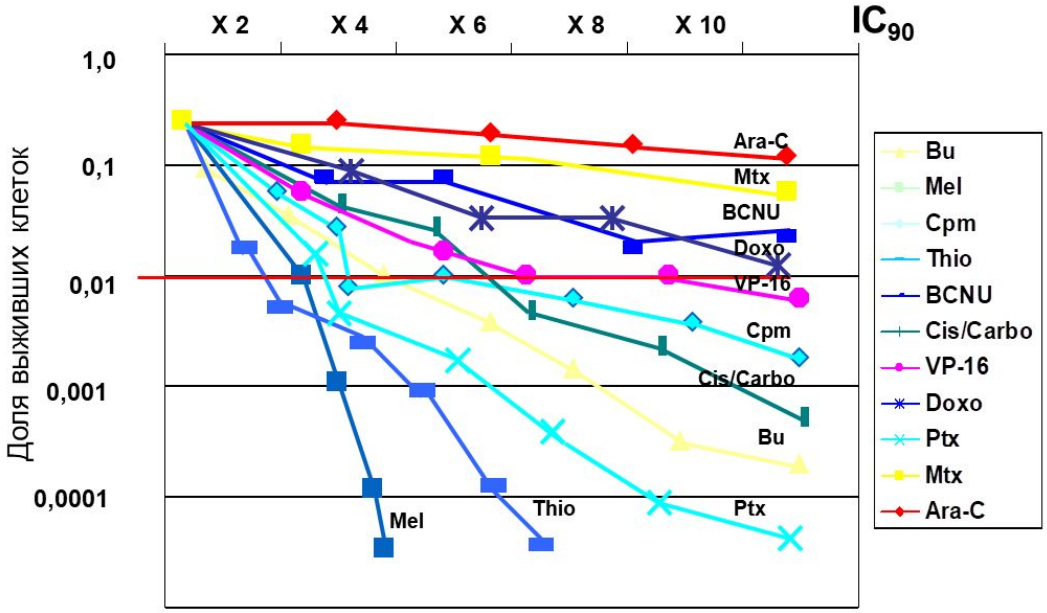
Данные CIBMTR 2009-2012

Аллогенные (n=26538)			Аутологичные (n=27005)		
Препарат	**N**	**%**	**Препарат**	**N**	**%**
Флударабин	14438	54	Мелфалан	21488	80
Циклофосфан	13765	52	Этопозид	11162	41
Бусульфан	11673	44	Кармустин	8486	31
АТГ	8301	31	Цитозар	6694	25
Мелфалан	4147	16	Циклофосфан	4297	16
МАТ	2065	8	Бусульфан	1943	7
Этопозид	1430	5	Карбоплатин	1486	5
Тиотепа	1193	4	МАТ	1214	4
Цитозар	679	3	Тиотепа	987	4
Кармустин	479	2	Гемцитабин	214	1
Клофарабин	315	1	РФП	205	1
Треосульфан	311	1	Бортезомиб	195	1
Пентостатин	154	1	Ломустин	151	1

- Исходно использовалась эмпирическая комбинация ТОТ + Циклофосфан
- В дальнейшем чаще всего использовалась комбинация бусульфан-циклофосфан (Santos, Tutschka)
- Постепенная замена концепции «высвобождения пространства» концепцией «трансплантат-против-опухоли»

Thomas’ hematopoietic cell transplantation stem cell transplantation. Wiley-Blackwell (2016)

Выбор препаратов для режима кондиционирования



Активность химиопрепаратов in vitro

IC_{90} – концентрация препарата, уменьшающая количество клеток на 90% (log kill)

Клинически оправдано использование высокодозных режимов, позволяющих увеличить цитотоксичность препарата для опухолевых клеток не менее, чем на 3 порядка по сравнению со стандартными дозами.

Holland-Frei Cancer Medicine, 6th Ed (2003)

Thomas's Hematopoietic Stem Cell Transplantation, 3rd Ed (2003)

Дозолимитирующая токсичность

Препарат	Гемат.	Мукозит	Нейро	Нефро	Кардио	Пульмо	ВОБ	ИД[1]
Циклофосфан	+				+			8 x
Мелфалан	+	+						6 x
Тиотепа	+	+	+					8-10 x
Бусульфан	+						+	8 x
BCNU	+					+	+	3 x
Цисплатин			+	+				3 x
Карбоплатин				+				4-5 x
Этопозид	+	+						3-6 x
Доксорубицин	+	+			+			3-4 x
Паклитаксел	+	+	+					5 x

[1] Увеличение интенсивности дозы, допустимое при последующей ауто-ТГСК

Thomas's Hematopoietic Stem Cell Transplantation, 3rd Ed (2003)

Perry MC, Chemotherapy Source Book, 4th Ed (2008)

Источники стволовых гемопоэтических клеток

Костный мозг (КМ)

Пуповинная кровь (ПК)

Стволовые клетки периферической крови (СКПК)

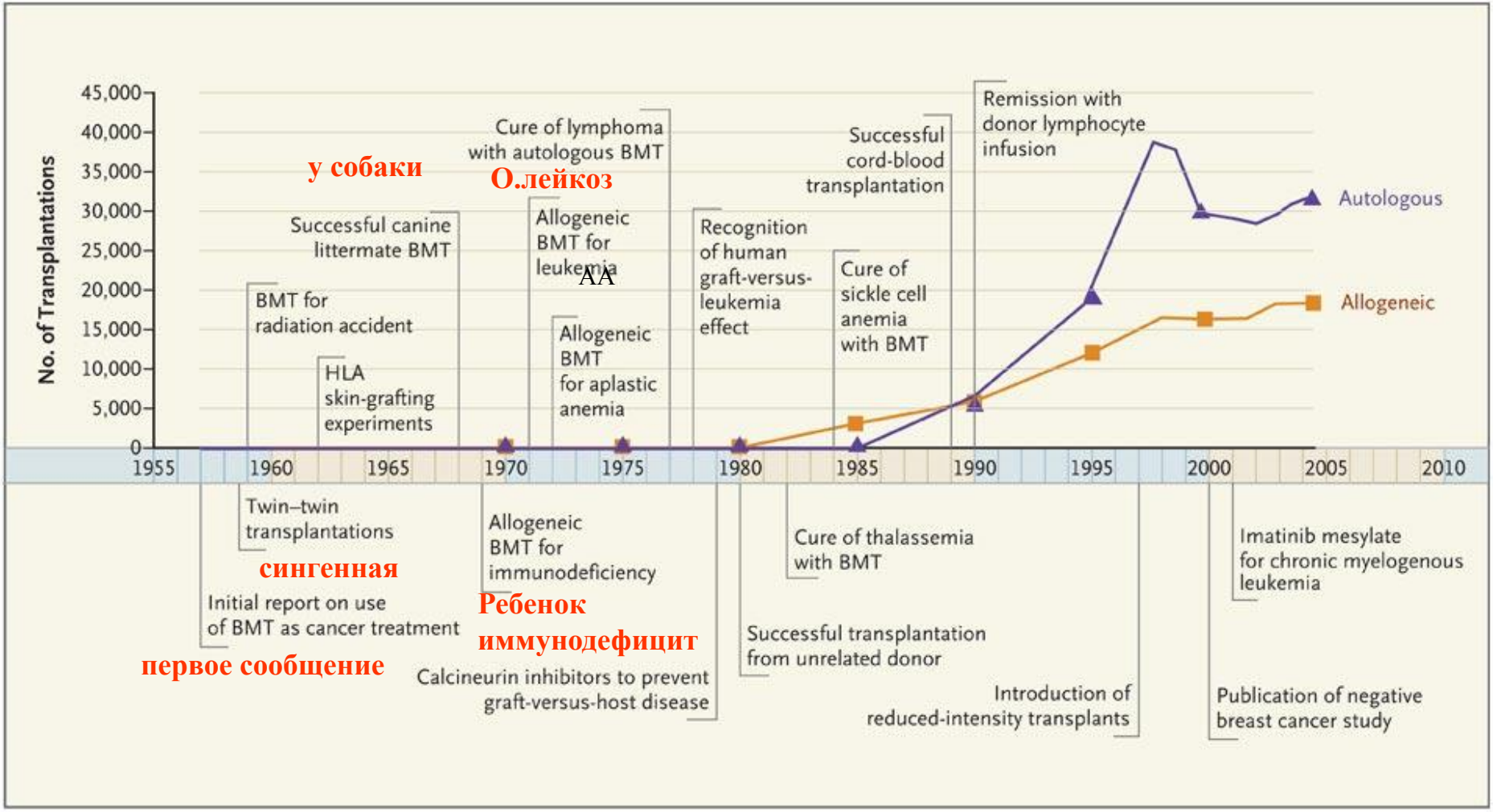
Виды трансплантаций гемопоэтических стволовых клеток

- **Аллогенная трансплантация**
  - **Родственная**
  - **Сингенная**
  - **Неродственная**

<u>В зависимости от степени совместимости по HLA-системе:</u>

- **Полностью совместимая по основным антигенам HLA-системе**
- **Частично (не)совместимая по антигенам HLA-системы (по 1, 2 антигенам)**
- **Гаплоидентичная**

История применения ТГСК



Timeline Showing Numbers of Bone Marrow Transplantations and Advances in the Field, 1957–2006.

Кафедра факультетской терапии
1-го Ленинградского медицинского института им.акад. И.П.Павлова

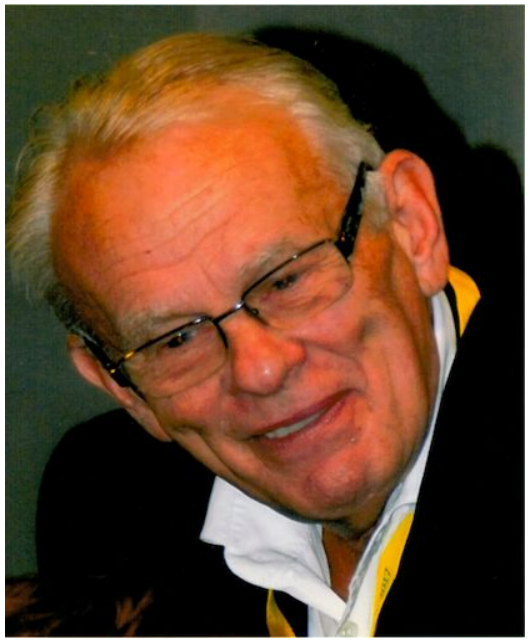
Ланг Г.Ф.
(1975-1948)

Истаманова Т. С.
(1900-1986)

Алмазов В. А.
(1931-2001)

С разрешения проф. Л.С.Зубаровской

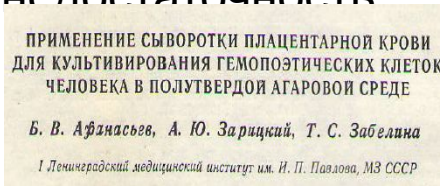
Профессор Афанасьев Борис Владимирович



28.08.1947 – 16.03.2020

Направления исследований

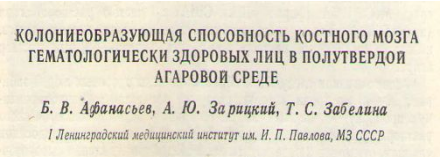
- Изучение типов роста при бластном кризе ХМЛ
- Изучение дифференцировки и роста лейкозных клеток под действием цитостатиков
- Изучение In vitro культур клеток лейкоза у детей
- МДС у взрослых и детей
- Первичная и вторичная костномозговая недостаточность



ПРИМЕНЕНИЕ СЫВОРОТКИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В ПОЛУТВЕРДОЙ АГАРОВОЙ СРЕДЕ

Б. В. Афанасьев, А. Ю. Зарицкий, Т. С. Забелина

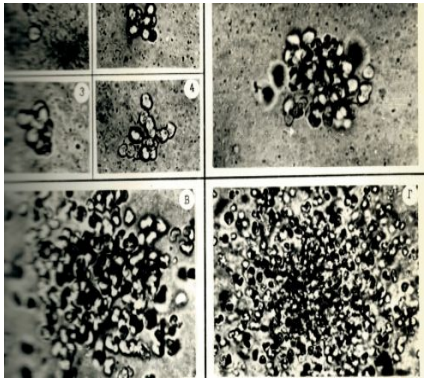
I Ленинградский медицинский институт им. И. П. Павлова, МЗ СССР

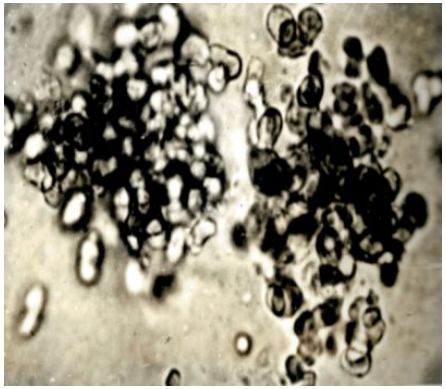


КОЛОНИЕОБРАЗУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ КОСТНОГО МОЗГА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛИЦ В ПОЛУТВЕРДОЙ АГАРОВОЙ СРЕДЕ

Б. В. Афанасьев, А. Ю. Зарицкий, Т. С. Забелина

I Ленинградский медицинский институт им. И. П. Павлова, МЗ СССР

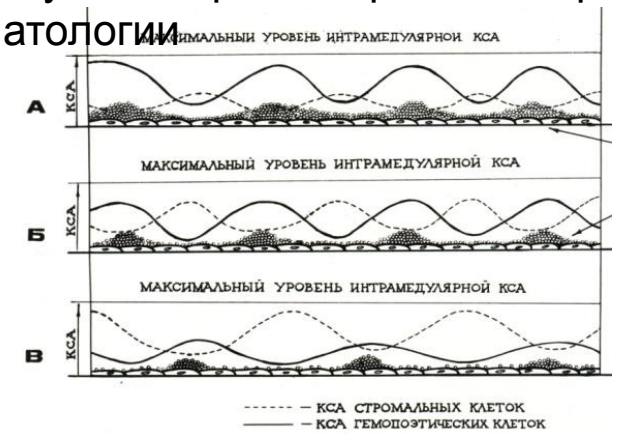




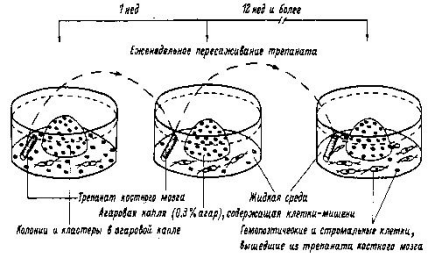
С разрешения проф. Л.С.Зубаровской

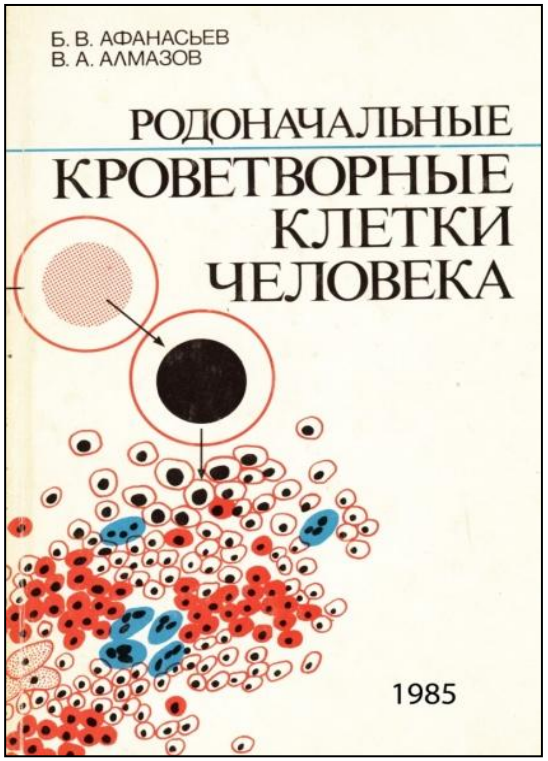
Первая монография в мировой литературе, посвящённая стволовым (родоначальным) клеткам человека в норме и различных заболеваниях

Изучение интрамедуллярной регуляции кроветворения в норме и патологии



Гуморальная и стромальная регуляция гемопоэза в норме и патологии





Б.В.Афанасьев, В.А.Алмазов, 1985

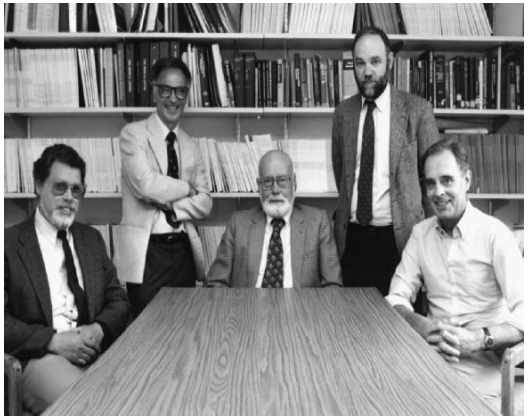
Б.В.Афанасьев, Г.Вагемакер, Л.С. Зубаровская, 2006

С разрешения проф. Л.С.Зубаровской

Подготовка к началу программы по ТГСК в России: стажировка Б.В.Афанасьева (Ленинград) и В.Г.Савченко (Москва) в Раковом Центре Фрэда Хатчинсона (Сиэтл, США), 1986

Профессор Р. Хикман, изобретатель катетеров для центрального венозного доступа Сиэтл, 1986 год

1986



Лауреат Нобелевской премии 1990 года
за разработку метода трансплантации костного мозга Д.Томас (1920-2012)

С разрешения проф. Л.С.Зубаровской

Основные достижения проф.Афанасьева Б.В.

- **1980 – Первое применение циклофосфамида у пациента с АА без алло-ТГСК**
- **1982 – Первое исследование,подтвердившее МДС у детей**
- **1983 – ХМЛ, варианты бластного криза (одно из первых исследований)**
- **1985 – Монография «Родоначальные кроветворные клетки человека»**
- **1990 – Первая ауто-ТГСК в России**
- **1991 – Первая аллогенная ТГСК у ребёнка в России**
- **1992 – Первая трансплантация периферический стволовых клеток в России**
- **2000 – Открытие первой университетской клиники трансплантации в России**
- **2000 – Первая регистрация алло-ТГСК от неродственного донора из России в ЕВМТ**
- **2002 – Первая аутологичная ТГСК у рациента с опхолью ЦНС в России**
- **2003 – Открытие первой кафедры по подготовке специалистов в области ТГСК**
- **2006 – Начало программы по трансплантации от гаплоидентичного жонора**
- **2009 – Первый международный журнал “Cellular Therapy and Transplantation” в России**
- **2009 – Первая алло-ТГСК у пациента с HIV в России**
- **2012 – Новый этап программы по созданию Регистра неродственных доноров (registry)**
- **2016 – Первая трансплантация ребенку после предимплантационной диагностики в России**

Родственная аллогенная ТКМ выполнена 17.12.1991 Диагноз: ОЛЛ, Ph(+), 3 рецидив (снимок сделан в 1999 г.)

Проф.Бюхнер Т. Университет г. Мюнстера (Германия) 1992

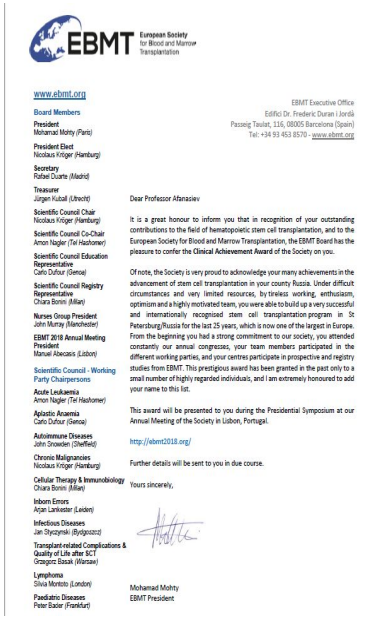
С разрешения проф. Л.С.Зубаровской

Награды

Clinical Achievement Award EBMT, 2018

Премия «Высших Клинических достижений», EBMT, 2018

Почетный доктор ПСПбГМУ им.акад.И.П.Павлова , 10.12.2015



EBMT European Society for Blood and Marrow Transplantation

www.ebmt.org

Board Members

President
Mohamad Mohty (Paris)

President Elect
Nicolaus Kröger (Hamburg)

Secretary
Rafael Duarte (Madrid)

Treasurer
Jürgen Kuball (Utrecht)

Scientific Council Chair
Nicolaus Kröger (Hamburg)

Scientific Council Co-Chair
Amon Nagler (Tel Hashomer)

Scientific Council Education Representative
Carlo Dufour (Genoa)

Scientific Council Registry Representative
Chiara Bonini (Milan)

Nurses Group President
John Murray (Manchester)

EBMT 2018 Annual Meeting President
Manuel Abecasis (Lisbon)

Scientific Council - Working Party Chairpersons

Acute Leukaemia
Amon Nagler (Tel Hashomer)

Aplastic Anaemia
Carlo Dufour (Genoa)

Autoimmune Diseases
John Snowden (Sheffield)

Chronic Malignancies
Nicolaus Kröger (Hamburg)

Cellular Therapy & Immunobiology
Chiara Bonini (Milan)

Inborn Errors
Arjan Lankester (Leiden)

Infectious Diseases
Jan Styczynski (Bydgoszcz)

Transplant-related Complications & Quality of Life after SCT
Grzegorz Basak (Warsaw)

Lymphoma
Silvia Montoto (London)

Paediatric Diseases
Peter Bader (Frankfurt)

EBMT Executive Office
Edifici Dr. Frederic Duran i Jordà
Passeig Taulat, 116, 08005 Barcelona (Spain)
Tel: +34 93 453 8570 - www.ebmt.org

Dear Professor Afanasiev

It is a great honour to inform you that in recognition of your outstanding contributions to the field of hematopoietic stem cell transplantation, and to the European Society for Blood and Marrow Transplantation, the EBMT Board has the pleasure to confer the **Clinical Achievement Award** of the Society on you.

Of note, the Society is very proud to acknowledge your many achievements in the advancement of stem cell transplantation in your county Russia. Under difficult circumstances and very limited resources, by tireless working, enthusiasm, optimism and a highly motivated team, you were able to build up a very successful and internationally recognised stem cell transplantation program in St Petersburg/Russia for the last 15 years, which is now one of the largest in Europe. From the beginning you had a strong commitment to our society, you attended constantly our annual congresses, your team members participated in the different working parties, and your centres participate in prospective and registry studies from EBMT. This prestigious award has been granted in the past only to a small number of highly regarded individuals, and I am extremely honoured to add your name to this list.

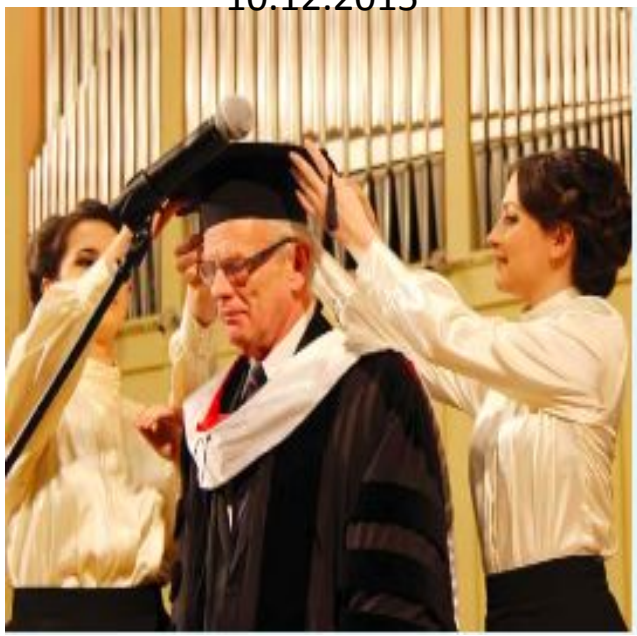
This award will be presented to you during the Presidential Symposium at our Annual Meeting of the Society in Lisbon, Portugal.

http://ebmt2018.org/

Further details will be sent to you in due course.

Yours sincerely,

Mohamad Mohty
EBMT President



М.Мохти, Президент EBMT 2015-2018, Афанасьев Б.В., М.Абекасис, Президент 44th Annual EBMT Meeting, Лиссабон, 2018 (слева направо)

Награжден(а)
Афанасьев
(фамилия)
Борис
(имя)
Владимирович
(отчество)
Приказ Министра России
от 11 08 2015
№ 1084-н
№ 85

- Отличник здравоохранения РФ(2000)
- Заслуженный врач РФ (2010)
- Медаль “За заслуги перед здравоохранением РФ” (2015)

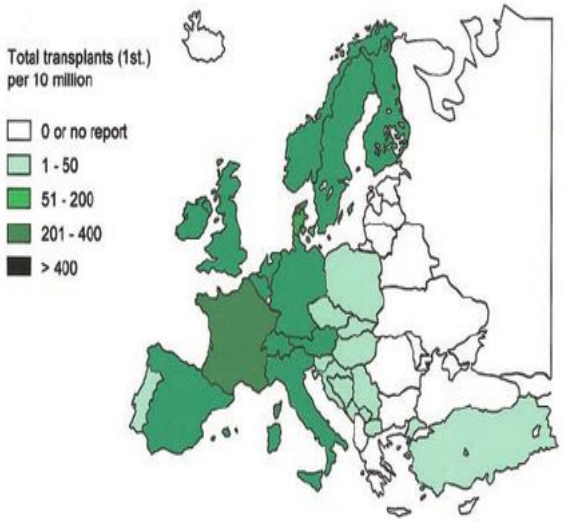
С разрешения проф. Л.С.Зубаровской

НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой

НИИ Детской Онкологии, Гематологии и Трансплантологии им. Р.М.Горбачевой (2008)

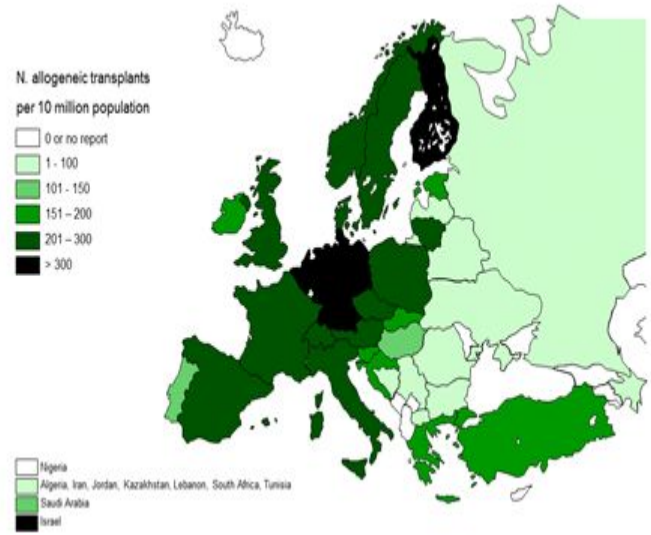
Число алло-ТГСК в Европе (данные EBMT)

До 1990



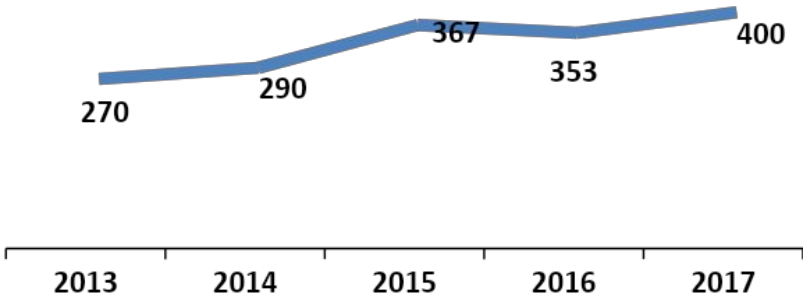
Bone Marrow Transplant **Vol 39**: 71–87 (2007)

2017



Bone Marrow Transplant **Vol 52**: 811–817 (2017)

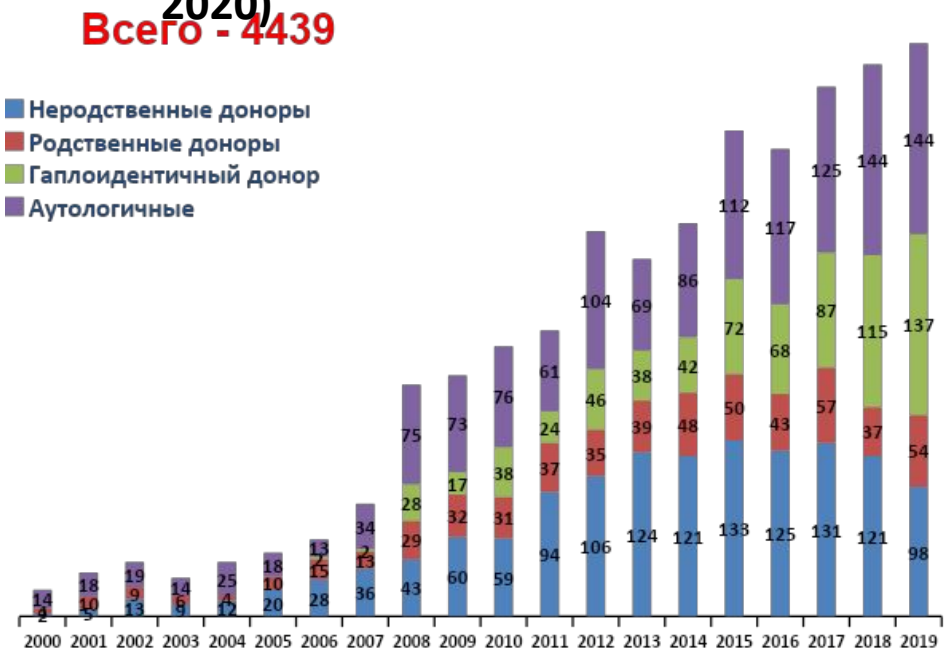
Число ТГСК
2013-2017



Число трансплантаций

Логистика пациентов

Число ТГСК (2000 –сентябрь 2020)

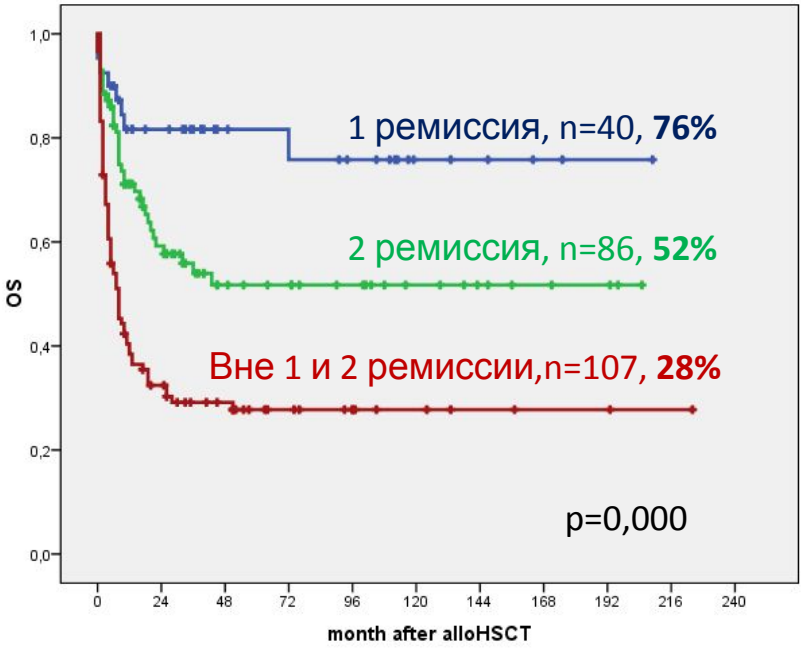


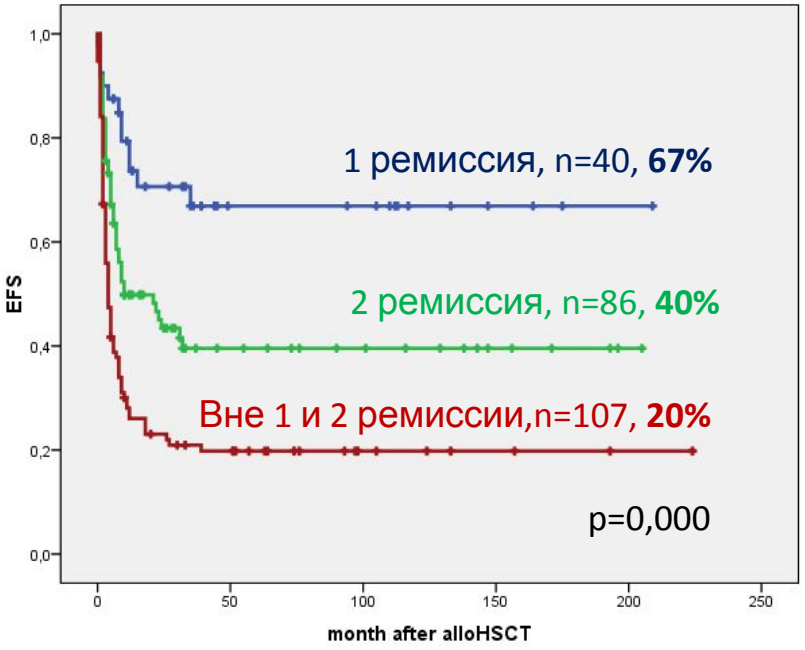
С разрешения проф. Л.С.Зубаровской

4439 трансплантаций костного мозга, около 30% из них у детей

Общая и бессобытийная выживаемость детей (0-18 лет) с ОЛЛ(высокий риск) после алло-ТГСК

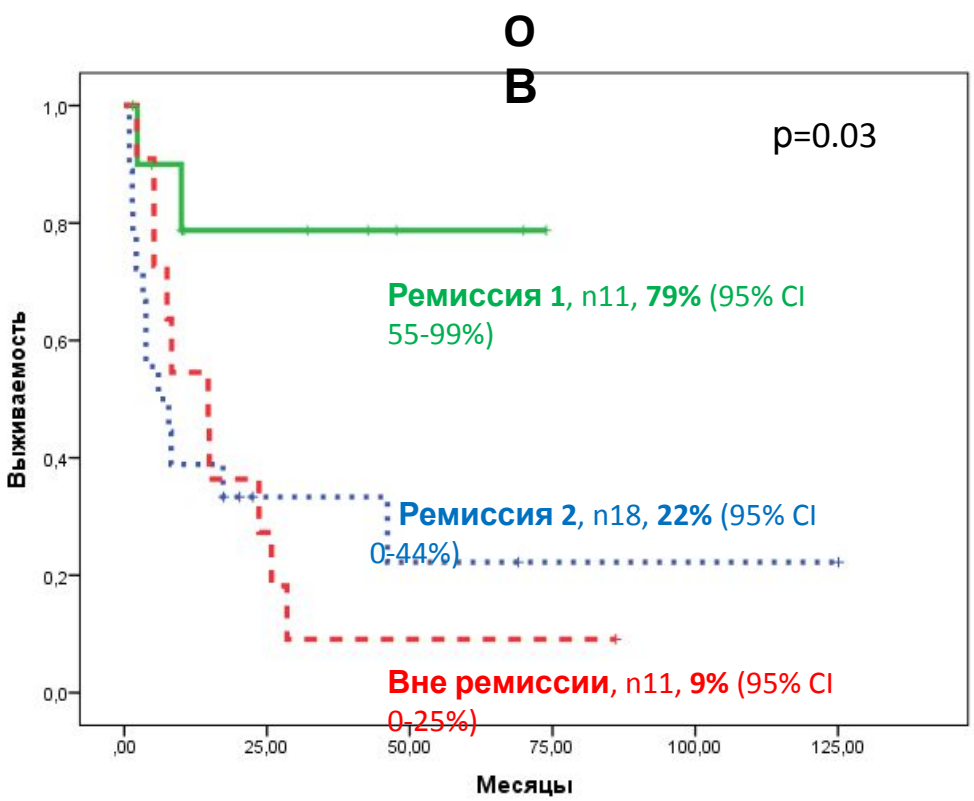
n=233

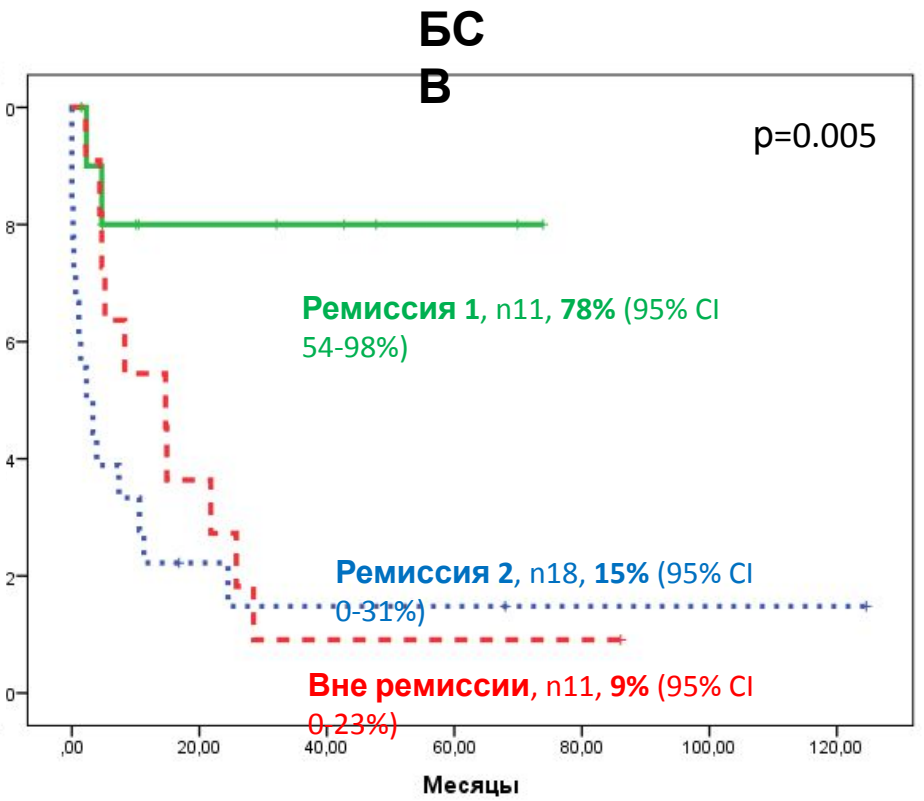




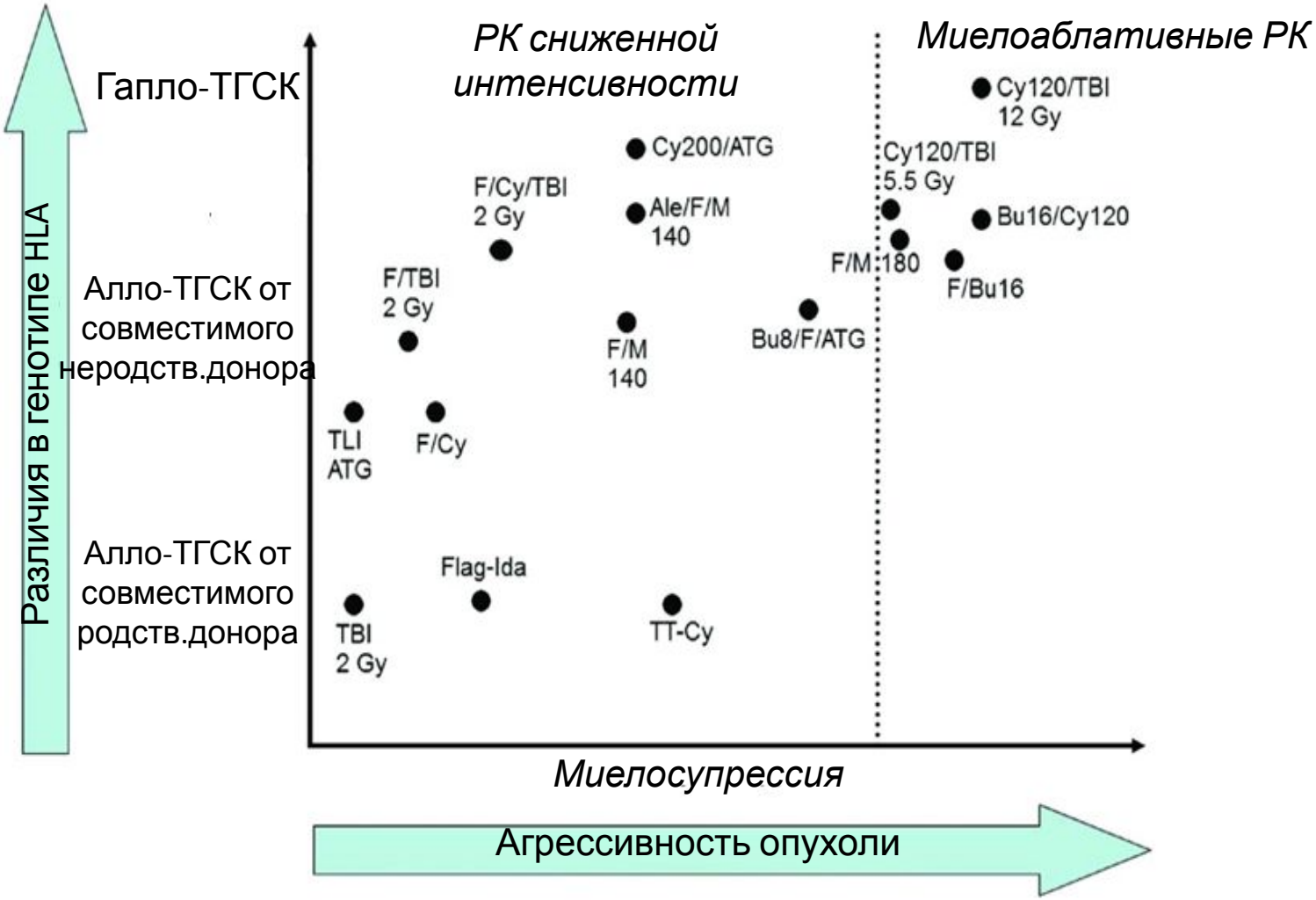
CIC 725 2000-2017гг.

Общая и бессобытийная выживаемость после аллоТГСК подростков (14-21 год) с ОМЛ в зависимости от ремиссионного статуса





Интенсивность режимов кондиционирования

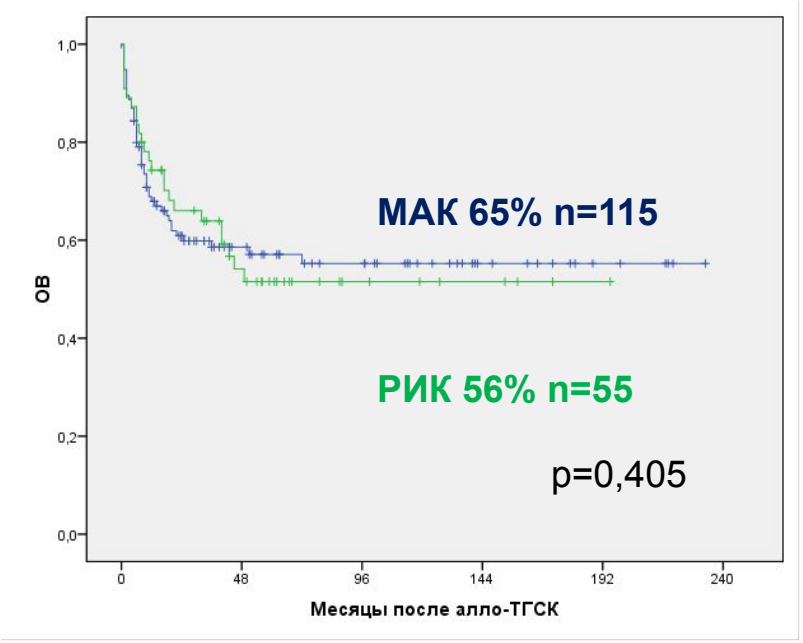


Thomas' hematopoietic cell transplantation stem cell transplantation. Wiley-Blackwell (2016)

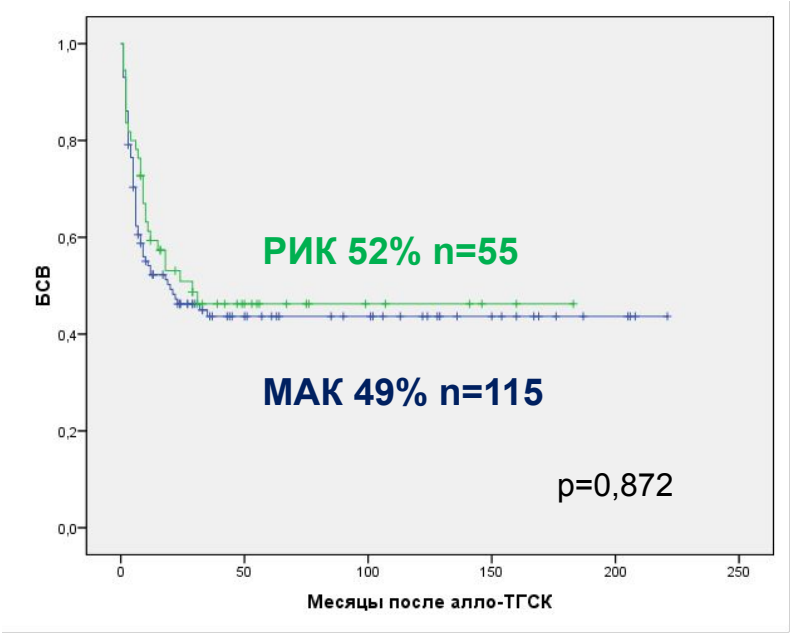
Долгосрочные результаты: 20-летняя выживаемость пациентов (0,5-18 лет) с ОЛЛ (рем) после алло-ТГСК в зависимости от интенсивности режима кондиционирования

РИК vs МАК

Общая выживаемость



Бессобытийная выживаемость



Семенова Е.В. 2020

Гаплоидентичная алло-ТГСК

Haploidentical donor HSCs

BM harvest,

PBSC pheresis

CliniMacs

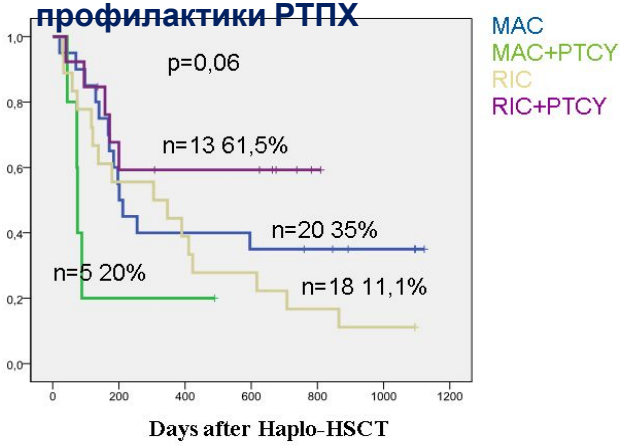
for T cell depletion

CD34+ stem cells

Patient

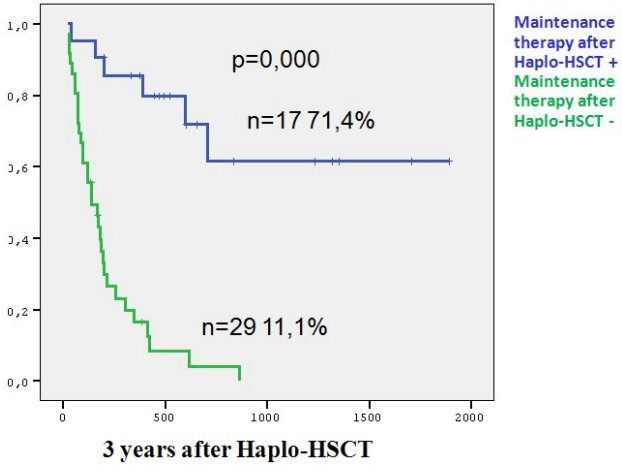
Общая выживаемость у детей с продвинутыми стадиями острых лейкозов после гаплоидентичной ТГСК

3-летняя ОВ в зависимости от режима кондиционирования и профилактики РТПХ

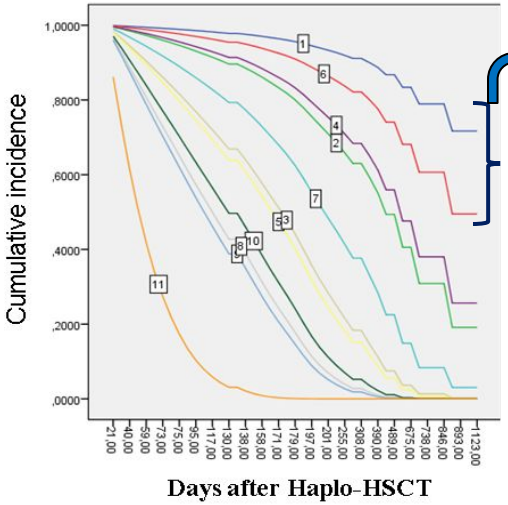


Фактор	3-х ОВ	Р
Общая группа	33,3%	-
ОЛЛ рецидив/прогрессирование краткая ремиссия 2-3 ОМЛ рецидив/прогрессирование краткая ремиссия 2-3	31,3% 37,5%	нед ост.
Частота рецидивов Тр.Смертность	39% 39%	нед ост.

3-летняя ОВ в зависимости от посттрансплантационной поддерживающей терапии



Многофакторный анализ



Многофакторный анализ	
Возраст на момент ТГСК <9 лет	p=0,01
Приживление	p=0,01
Поддерживающая терапия после гапло-ТГСК	p=0,00
Лимфоциты (>0,3x10^9/л) на Д+30	p=0,02

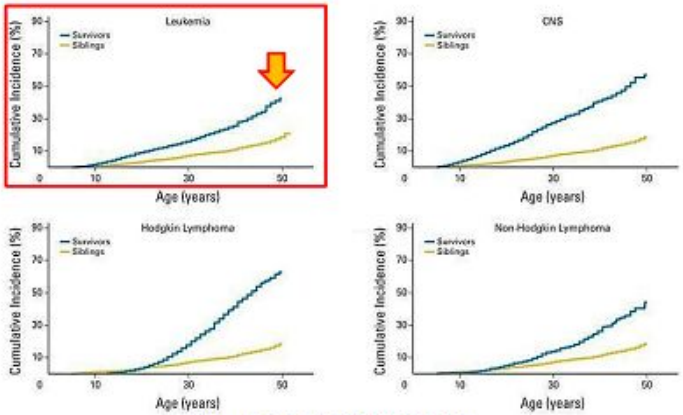
Острые лейкозы у детей Перспективы

- Общая выживаемость достигла 90% при ОЛЛ и 65% при ОМЛ
- С 1990 годов значимых улучшений не было
- Интенсификация терапия не привела к улучшению эффективности, но значимо ухудшила качество жизни.

Основные факторы, снижающие результаты терапии острых лейкозов

- 1. Рецидивы

- 2. Отдалённые осложнения



J Clin Oncol. 2014 April 20;32(12):1218-1227.

Частота возникновения тяжелой сердечной недостаточности, обусловленной лечением онкологических заболеваний, возникших в детском возрасте

Figure 2. Identical Twins at 26 Years of Age.
The twin on the right was treated for childhood acute lymphoblastic leukemia at 4 years of age. She received many of the therapies that were described in the text, including 24 Gy of cranial radiation.

Lisa Diller, M.D.
N ENGL J MED 365;15 NEJM.ORG OCTOBER 13, 2011

Сестры-близнецы, 26 лет
Одна из сестер в возрасте 4 лет лечилась от ОЛЛ (ХТ+лучевая терапия)

Результаты длительного наблюдения за пациентами. перенесшими онкологические заболевания в детском возрасте

J Natl Cancer Inst (2008) 100 (19): 1368-1379

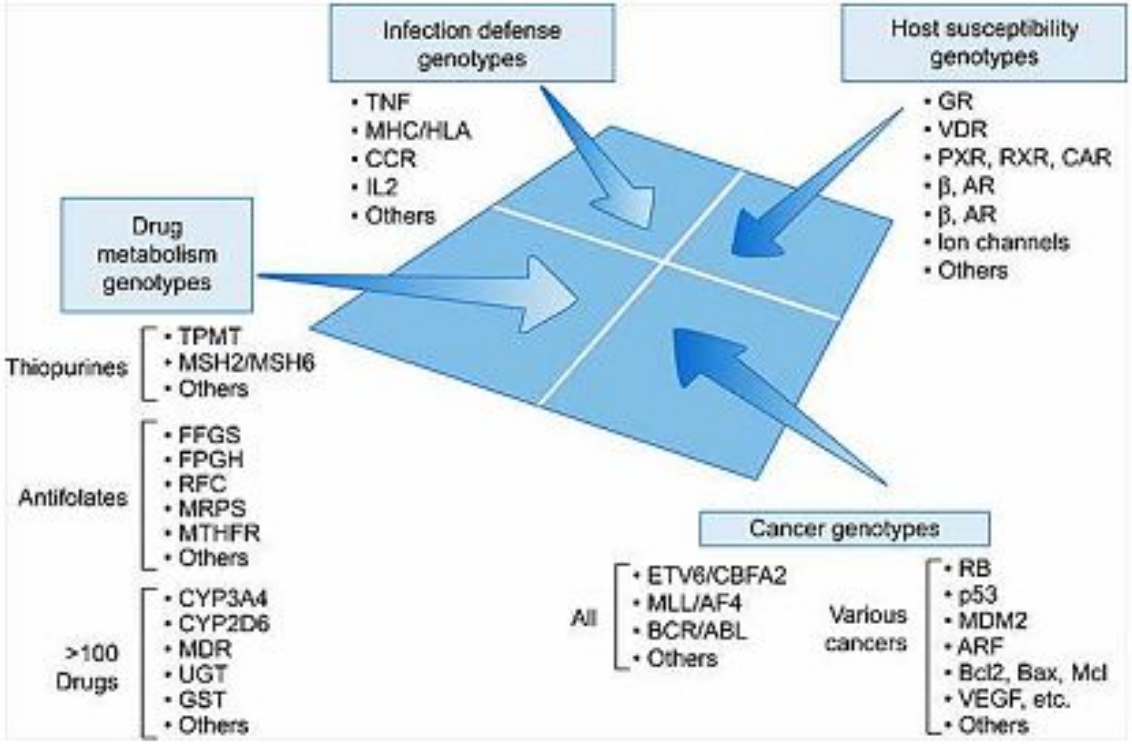
Основные направления терапии

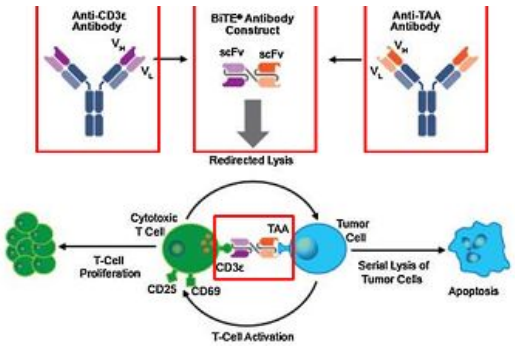
- **Увеличение дозы химиопрепаратов и лучевого воздействия не может рассматриваться в перспективе повышения результатов лечения**
- **Разработка и внедрение новых препаратов – неларабин, клофорабин и др.**
- **Новые схемы лечения –** ХТ + ИТК + G-CSF (CLAG) 2-CDA+Ara-C+G-CSF
- **Таргетная терапия – ингибиторы тирозинкиназ (иматиниб, нилотиниб, дазатиниб), ингибиторы цитокиновых рецептеров FLT3/ITD, c-KIT: CEP-701 (Cephalon), MLN518 (Millenium), PKC412 (Novartis), ингибитор протеосом (бортезомиб), ингибитор m-TOR (сиролимус, эверолимус), Fms-like тирозин-киназы (лестауртиниб), NOTCH1 ингибиторы, JAK2 ингибитор (лестауртиниб)**
- **Эпигенетическая терапия: АТРА, гипометилирующие препараты (децитабин, азацитидин), ингибитора гистонацетилазы (вориностат, вальпроевая кистота)**

Иммунотерапия - **не имеет перекрестной резистентности с цитостатической, лучевой и таргетной терапией**

1. ***Моноклональные антитела – epratuzumab, rituximab, alemtuzumab, Brentuximab Blinatumomab***
2. ***CAR, CIK (индуцированные цитокинами NK), регуляторные T-cells, CAR NK, CAR CIK, дендритные клетки***
3. ***Интерлейкины, цитокины, иммуномодуляторы (IL2, GM-CSF, interferon)***
4. ***Вакцины***
5. ***Алло-ТГСК с последующей иммуноадоптивной терапией***

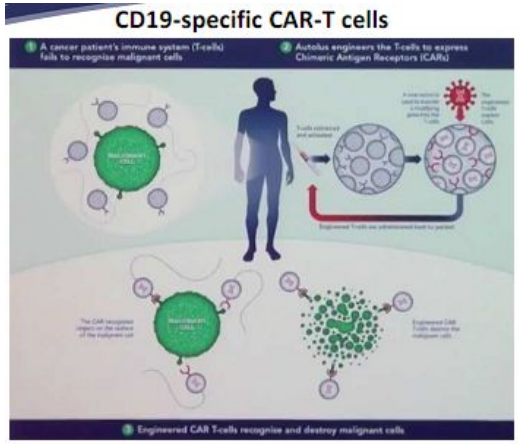
Персонализация терапии ОЛ





Molecular Immunology, Volume 67, Issue 2, Part A, 2015, 58–66

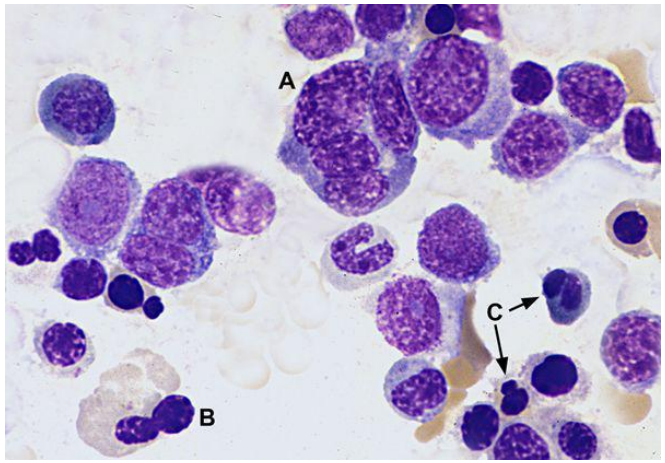
Имунноадоптивная терапия (алло-ТГСК)

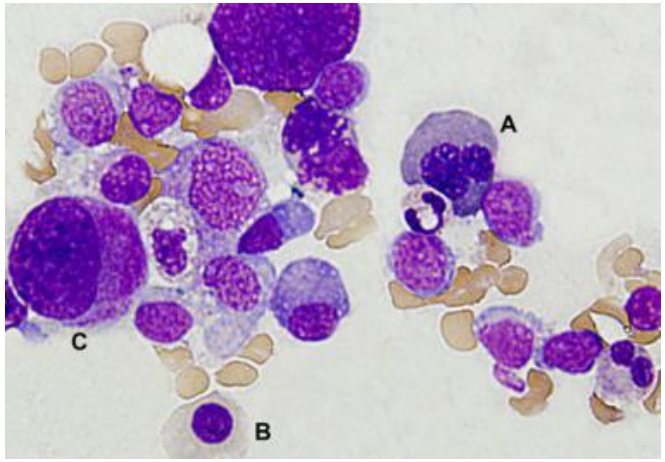


autolus.com/technology/

МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИЙ СИНДРОМ (МДС)

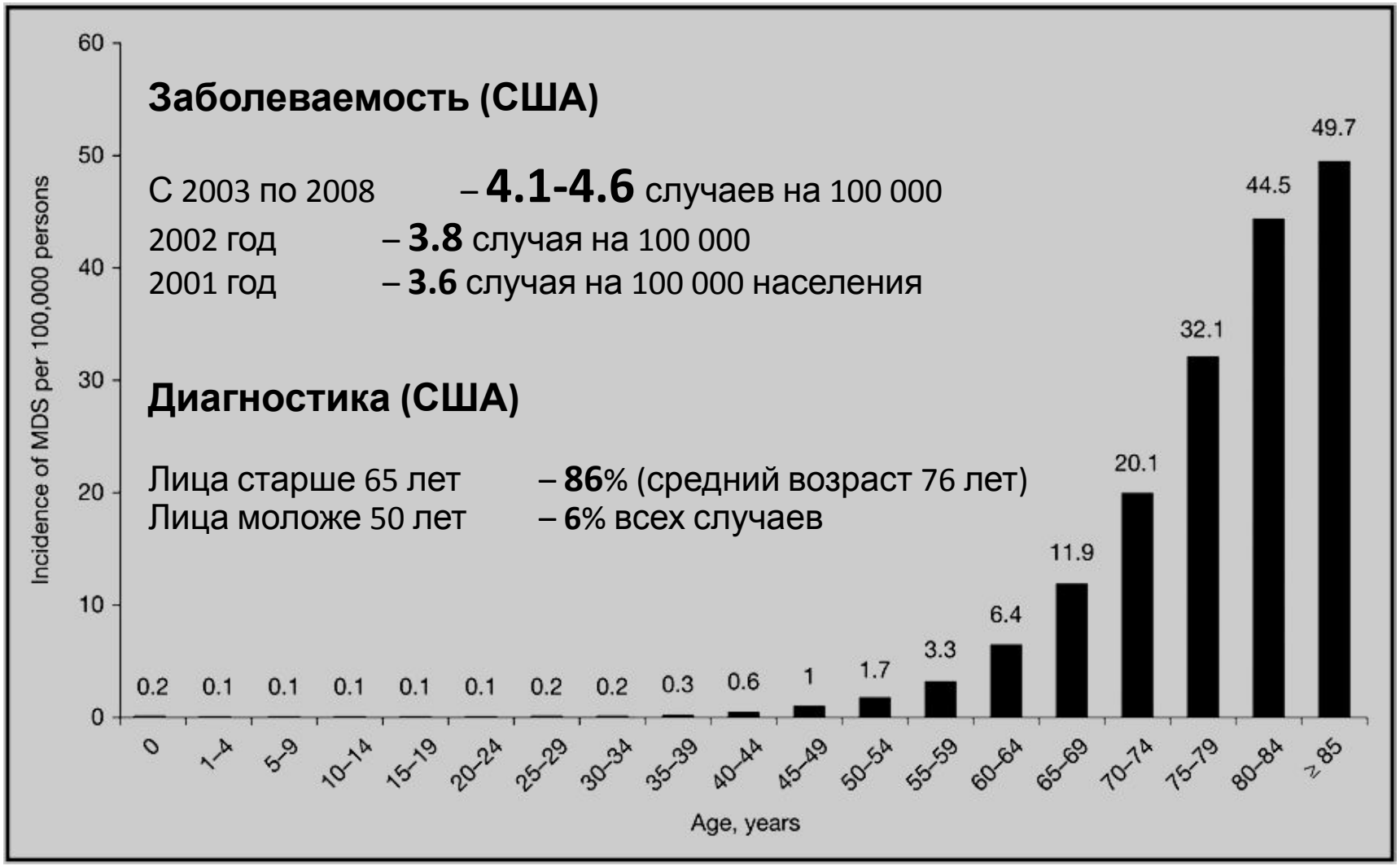
- МДС у детей составляет 5% от всех системных заболеваний крови.
- Первичный обычно на фоне наследственных заболеваний, вторичный после воздействия внешних факторов (химиотерапия, облучение)
- Клиническая картина: анемия (25%), нейтропения (50%), тромбоцитопения (90%) + гепатоспленомегалия
- Единственный эффективный метод лечения – аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток.





David Head, MD

Эпидемиология МДС



Ma X. Am J Med.2012 Jul;125(7 Suppl):S2-5.
doi: 10.1016/j.amjmed.2012.04.014.

МДС у детей

Первая публикация в мире, предположившая существование МДС у детей

The Preleukemic Syndromes (Hematopoietic Dysplasia) in Childhood*

E. Kleihauer

Eur. J. Pediatr. 133, 5–10 (1980)

1982 – Первая публикация в России, подтвердившая существование МДС у детей

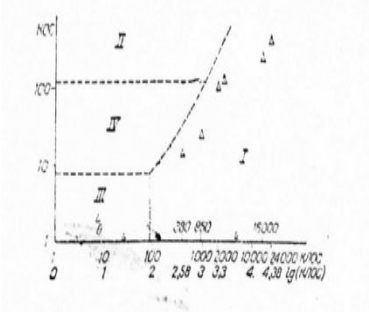
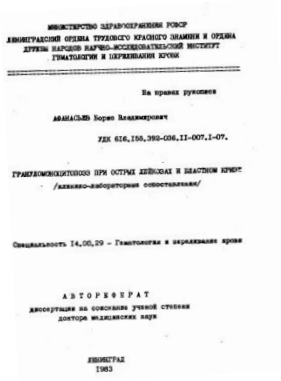
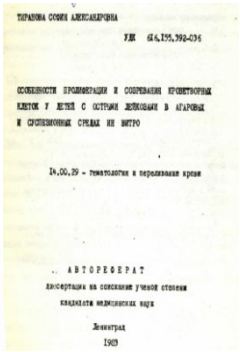


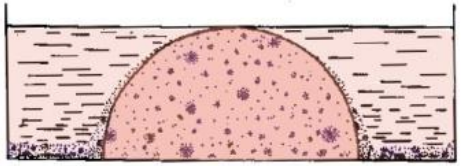
Рис. 1. Тип роста костного мозга больных с различными формами ГД в двухслойной агаровой системе.
I – лейкемический тип роста, II – гиперпластический, III – гипопластический, IV – нормальный.

Рис.7. Взаимосвязь между различными типами гемопоэтических дисплазий.

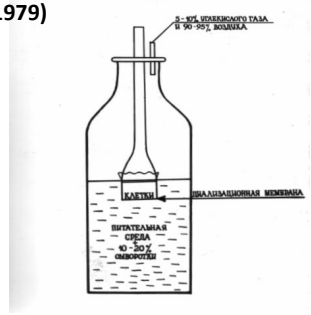


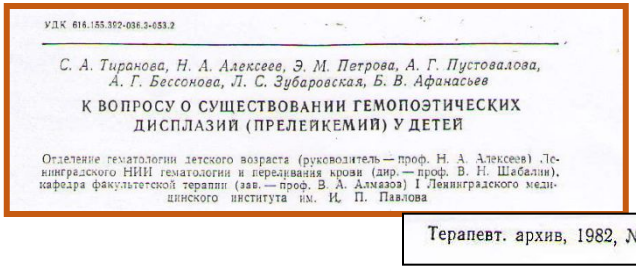


Клонирование ГСК в двух-слойной агаровой системе (Pike&Robinson) и системе “агаровая капля-жидкая среда” (модификация Афанасьев Б.В., 1976, 1982)



Система Marbrook культивирования в жидкой среде (Golde&Cline, 1973, модификация Афанасьев Б.В., 1979)





УДК 616.155.392-036.3-053.2

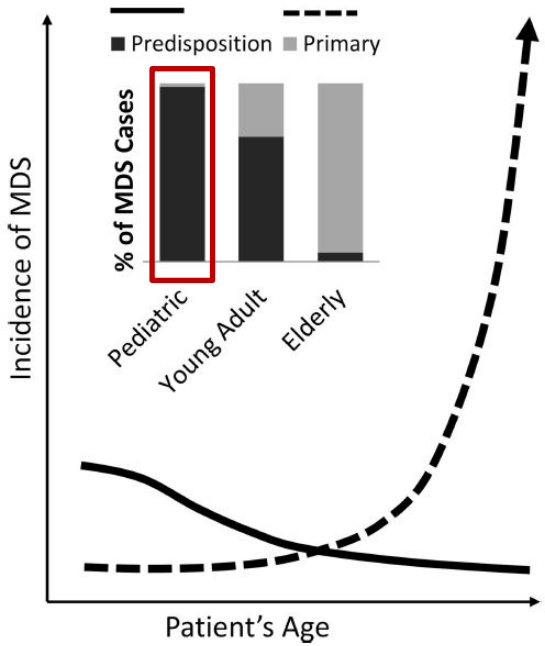
С. А. Тиранова, Н. А. Алексеев, Э. М. Петрова, А. Г. Пустовалова, А. Г. Бессонова, Л. С. Зубаровская, Б. В. Афанасьев

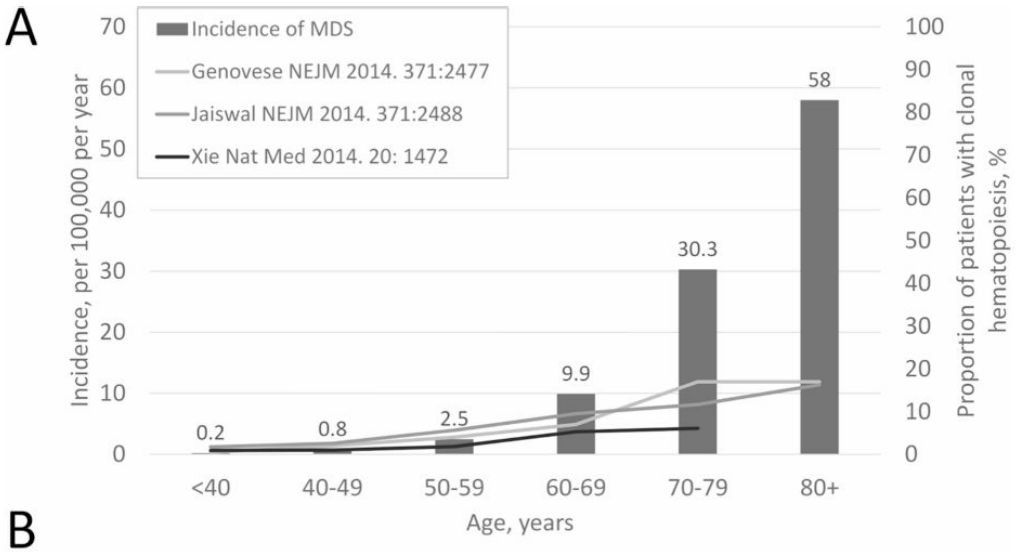
К ВОПРОСУ О СУЩЕСТВОВАНИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ ДИСПЛАЗИЙ (ПРЕЛЕЙКЕМИЙ) У ДЕТЕЙ

Отделение гематологии детского возраста (руководитель — проф. Н. А. Алексеев) Ленинградского НИИ гематологии и переливания крови (дир. — проф. В. Н. Шабалин), кафедра факультетской терапии (зав. — проф. В. А. Алмазов) I Ленинградского медицинского института им. И. П. Павлова

Терапевт. архив, 1982, № 8, 1—160

Эпидемиология МДС





Genetic predisposition to myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children and young adults

Babushok D., Bessler M. Best Pract Rec Clin Haematol. 2015; 28 (1), 55-68

Наследственные синдромы

Врожденные синдромы костно-мозговой недостаточности

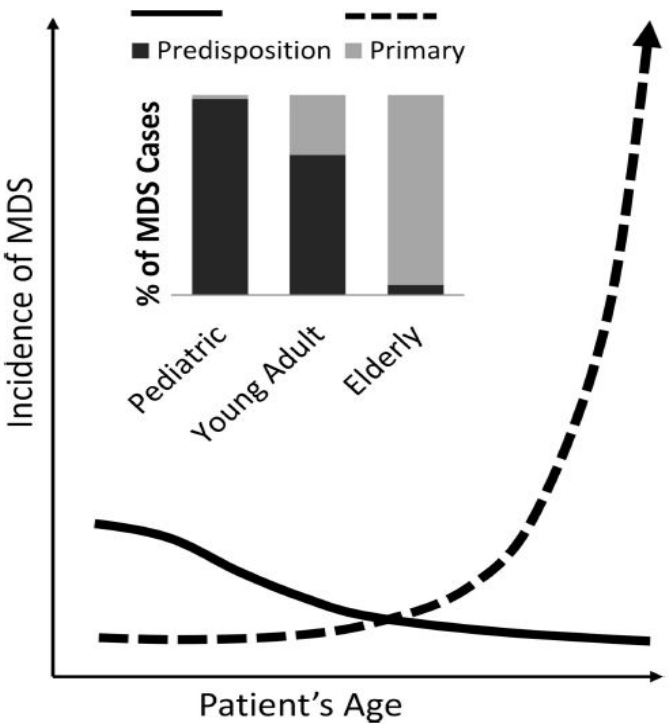
Анемия Фанкони
Анемия Блекфана-Даймонда
Синдром Швахмана-Даймонда
Теломеропатии
Врожденная амегакариоцитарная тромбоцитопения
Врожденные нейтропении

Наследственная предрасположенность к тромбоцитарным расстройствам

Миелоидные неоплазии с зародышевой линией RUNX1 мутацией
Миелоидные неоплазии с зародышевой линией ANKRD26 мутацией
Миелоидные неоплазии с зародышевой линией ETV6 мутацией

Миелоидные неоплазии с наследственной предрасположенностью

Миелоидные неоплазии с зародышевой линией GATA2 мутацией
МДС с зародышевой линией SAMD9/SAMD9L мутацией



Babushok D., Bessler M. Best Pract Rec Clin Haematol. 2015; 28 (1), 55-68

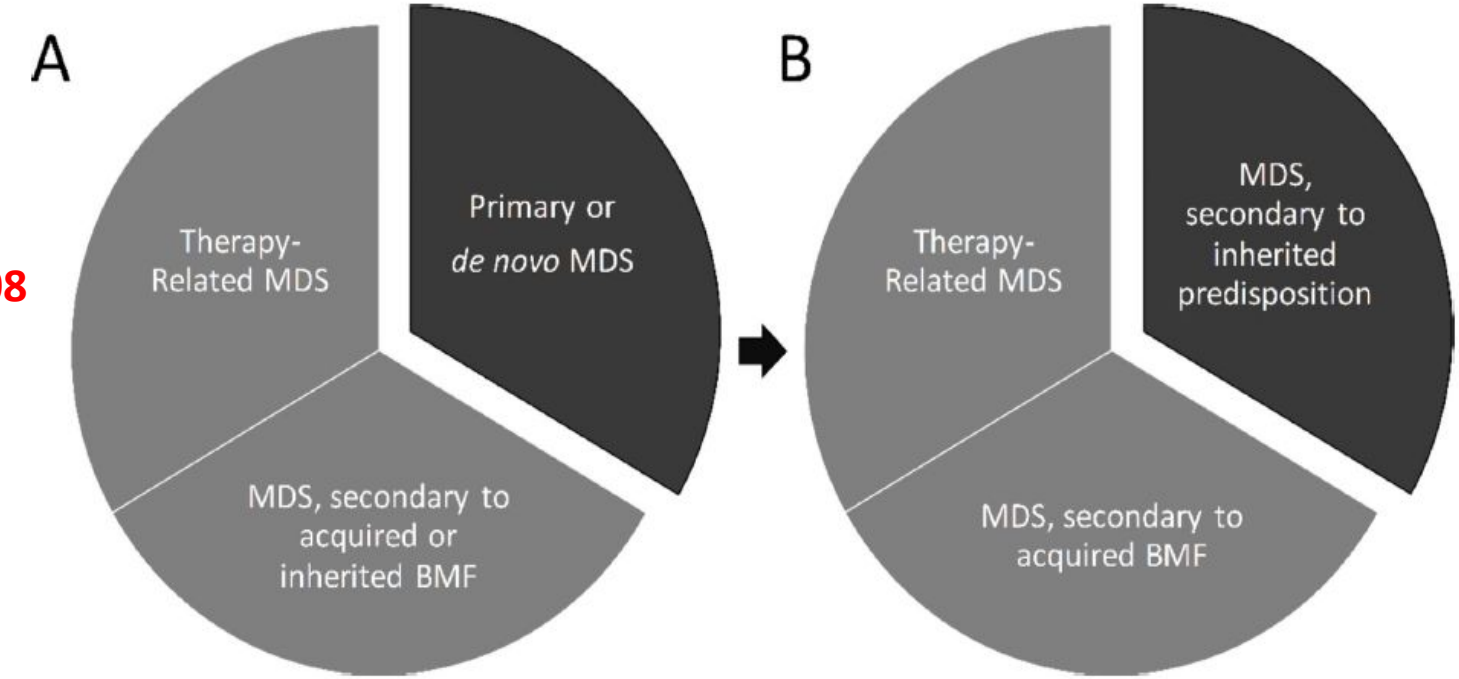
How I treat myelodysplastic syndromes of childhood Franco Locatelli and Brigitte Strahm. Blood 2018 131:1406-1414.

Классификация у детей и молодых взрослых

Daria V. Babushok[1,2], Monica Bessler[1,2], and Timothy S. Olson[2,3]

Leuk Lymphoma. 2016 March ; 57(3): 520–536

2008



2014

Swerdlow, SH.; Campo, E.; Harris, NL.; Jaffe, ES.; Pileri, SA.; Stein, H. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.

Genovese G, Kahler AK, Handsaker RE, et al. Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. The New England journal of medicine. 2014; 371:2477–2487.

Различия МДС у детей и взрослых

Характеристика	Дети	Взрослые
Встречаемость на 1,0 млн.	1-2	40
Наследственная генетическая предрасположенность	1/3	< 5%
Морфологические группы		
Рефрактерная анемия с кольцевыми сидеробластами	< 2%	25%
Гипопластический вариант МДС	Часто	Редко
МДС/МПН	ЮММЛ	ХММЛ
Цитогенетические изменения	60%	40%
-7/del(7q)	30-40%	10%
-5|del(5q)	1-2%	20%
Мутация в *RAS* гене	Редко (кроме ЮММЛ)	Часто
Гиперметилирование	>50%	>50%
Сплайсосомная генная аберрация	<2%	Часто
Цель лечения	Выздоровление	Часто паллиативное

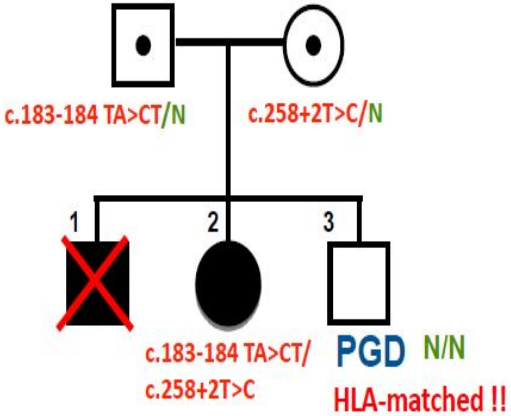
Hasle H. Myelodysplastic and myeloproliferative in childhood. Hematology, 2016, p.598-604.

Клинический случай

- Пациентка А., 7 лет
- В неонатальном периоде тяжелая анемия, нейтропения, экзема, задержка развития
- Брат перенес сепсис в 2 мес, умер от пневмонии в 4 года
- 2009 год: зафиксирована стеаторея, снижение сывороточного уровня панкреатических ферментов, в миелограмме гипоклеточный костный мозг с повышением количества бластов до 15%
- Выявление мутации гена SBDS c.183-184 TA>CT/c.258+2T>C
- 2010 год: нарастание тяжести цитопении, инфекционные осложнения
- Выполнена алло-ТГСК с немиелоаблативным РК от гаплоидентичного донора (отец); осложнения: оРТПХ, реактивация ЦМВ
- Отторжение трансплантата на Д+135 с восстановлением собственного гемопоэза
- Персистирующая цитопения, инфекции

Клинический случай

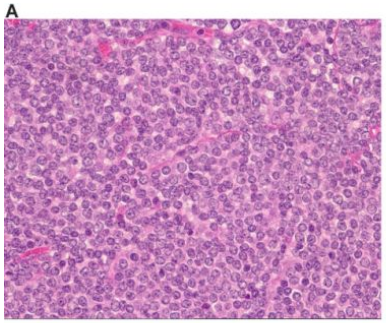
ИНСТИТУТ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

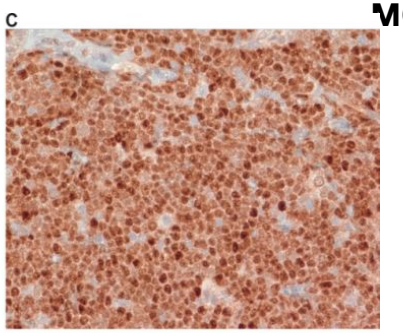


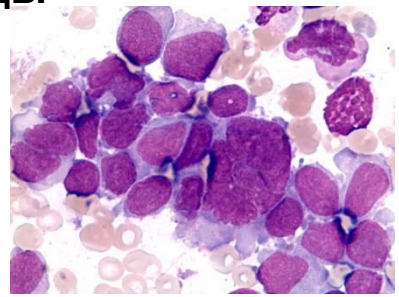
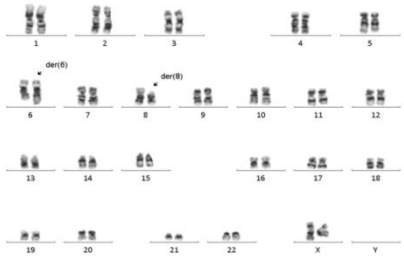
- 2016 год: алло-ТГСК от совместимого по HLA-системе брата, рожденного методом инвитро фетилизации-преимплантационной диагностики
- РК сниженной токсичности: Флюдарабин 150 мг/м^2 + Треосульфан 42 г/м^2 + Тиотепа 10 мг/кг
- Источник ГСК: Костный мозг + пуповинная кровь
- На Д+25 зафиксирован полный донорский химеризм
- Отсутствие значимой токсичности и признаков РТПХ

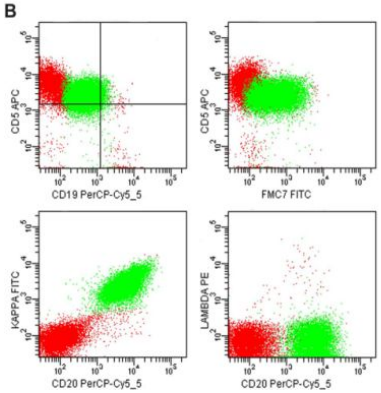
Лаборатории НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им.Р.М. Горбачёвой

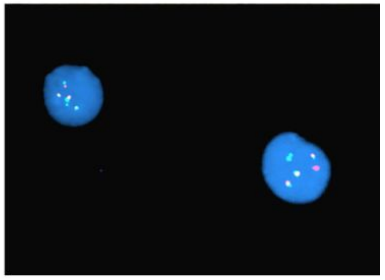
Методы диагностики: морфология, гистология, иммуногистохимия, стандартная цитогенетика, FISH, молекулярно-биологические методы

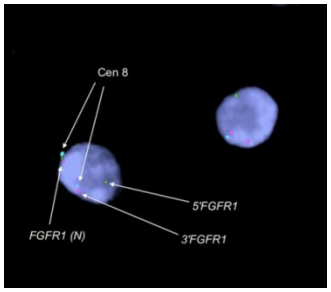










Цитология: дисплазия в периферической крови и костном мозге согласно диагностическим критериям ВОЗ

Дизэритропоз

Ядро

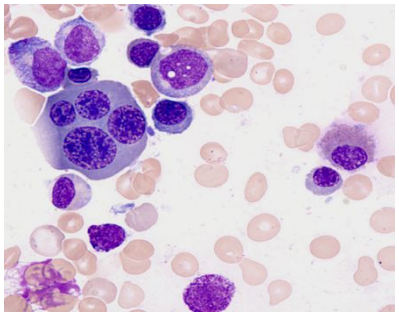
Межъядерные /цитоплазматич мостики

Кариорексис

Многоядерность

«budding»-формы

Мегалобластоидность хроматина



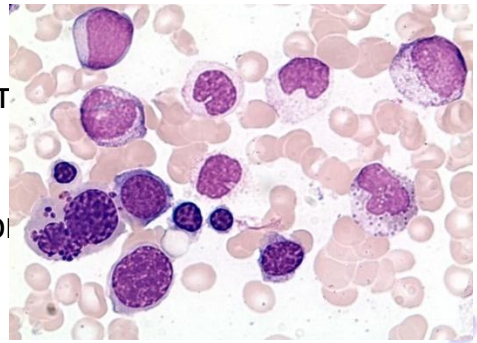
Цитоплазма

Кольцевые сидеробласт

Вакуолизация

Позит. ПАС р-ция

с Шифф-йодной кислото



Дисгранулопоэз

Маленькие или чрезмерно больш клетки

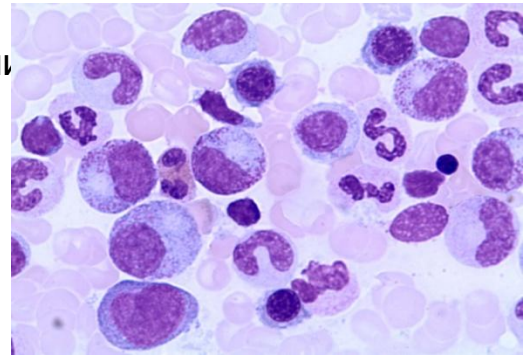
Гиполобулярность ядер с псевдопельгеровскими формами

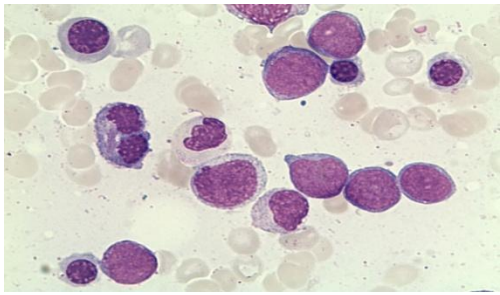
Гиперсегментация

Гипо-/дегрануляция цитоплазмы

Гранулы псевдо Чедиак-Хагаси

Палочки Ауэра



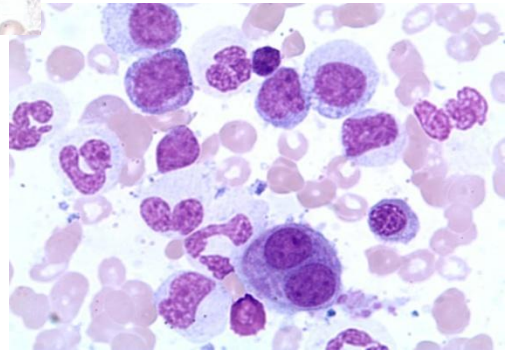


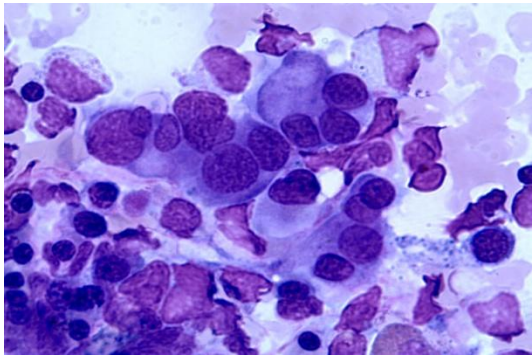
Дисмегакариоцитопоэз

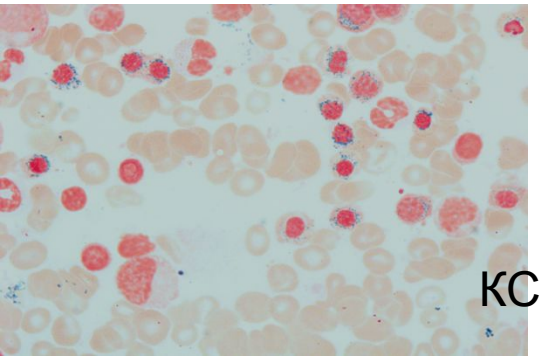
Микромегакариоциты

Гиполобулярные ядра

Многоядерность с полиплоидией







КС

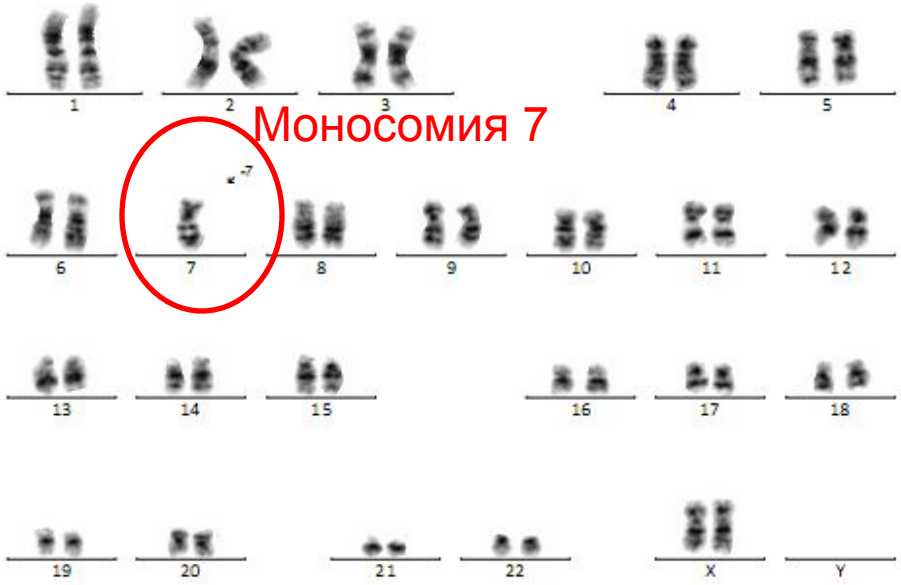
Biologi and Prognastic Factors of Myelodysplastic Syndrome, Raphael Itzykson, Lionel Ades, ASCO, 2011 Educational book June 3-7, 2011.

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова
Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой
Лаборатория цитогенетики и диагностики генетических заболеваний
Тел.: (812) 233-12-43, Факс: (812) 233-96-01

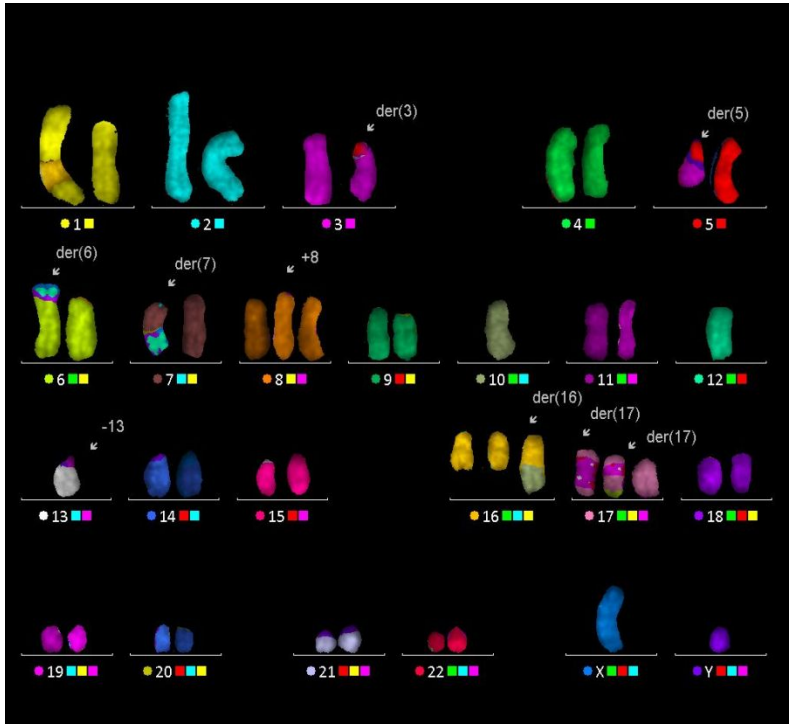
РЕЗУЛЬТАТ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

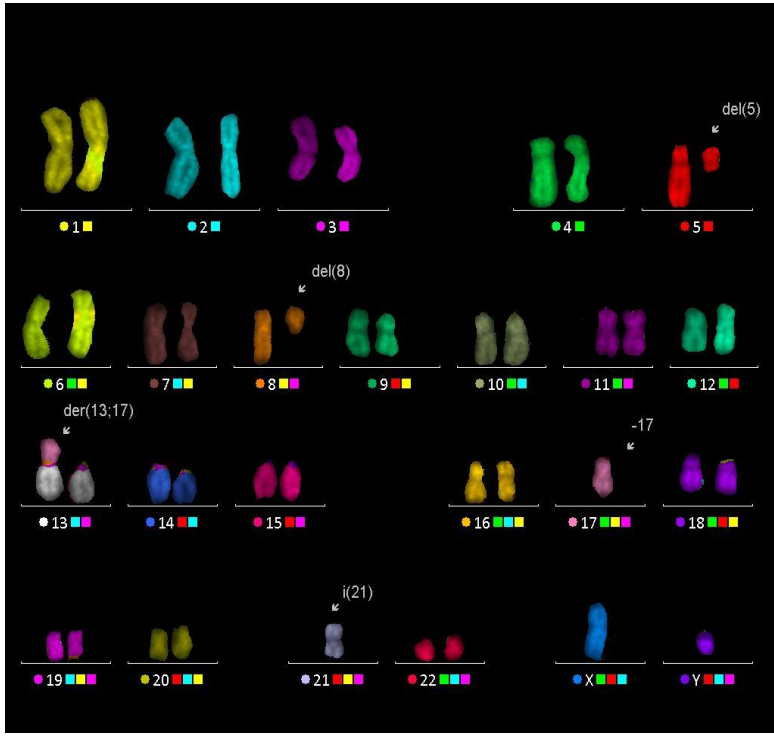
ФИО пациента: Войтенко О.В.
No. препарата: B206
Диагноз: ХММЛ
Возраст: 35 лет
Материал: костный мозг (культура 24 часа)
Дата взятия материала: 17.03.10
Стационар: СПбГМУ ИДГиТ
Отделение: ОТКМ
Палата:
ФИО леч. врача: Рудницкая Ю.В.
Кариотип: 45,XX,-7[20]

Заключение: Патологический клон с моносомией 7 хромосомы выявлен в 100% метафаз.



Дата исследования: 26.03.10 **Врач цитогенетик:** Гиндина Т.Л.





А. несбалансированные транслокации t(3;5), t(6;12), t(7;12), t(10;16), трисомия 8, моносомия 13, два деривата 17 хромосомы с инсерциями 13 хромосомы

Б. делеция длинного плеча 5 хромосомы, делеция длинного плеча 8 хромосомы, несбалансированная транслокация t(13;17), изохромосома 21 по длинному плечу i(21)

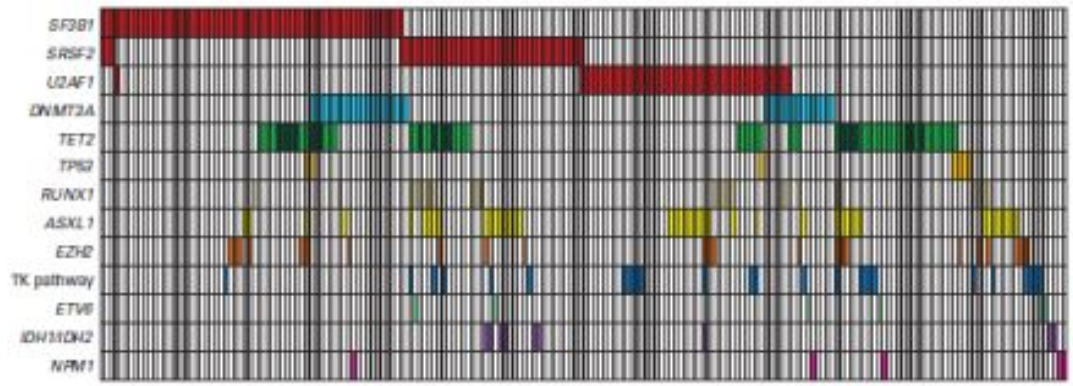
Комплексные хромосомные аберрации у пациентов с РАИБ-т mFISH

Данные предоставлены к.м.н.Гиндиной Т. Л.

Молекулярная генетика

Gene	N	%
TET2	90	21%
ASXL1	63	14%
RUNX1	38	9%
TP53	33	8%
EZH2	28	6%
NRAS	16	4%
JAK2	13	3%
ETV6	12	3%
CBL	10	2%
IDH2	9	2%
NPM1	8	2%
IDH1	6	1%
KRAS	4	1%
GNAS	3	
PTPN11	3	
BRAF	2	
PTEN	1	
CDKN2A	1	

Определен ряд повторяющихся мутаций



51% пациентов с МДС имеют хотя бы одну мутацию

52% пациентов с МДС с нормальным кариотипом имеют хотя бы одну мутацию

Bejar, NEJM 2011

Соматические мутации у детей с миелодиспластическим синдромом

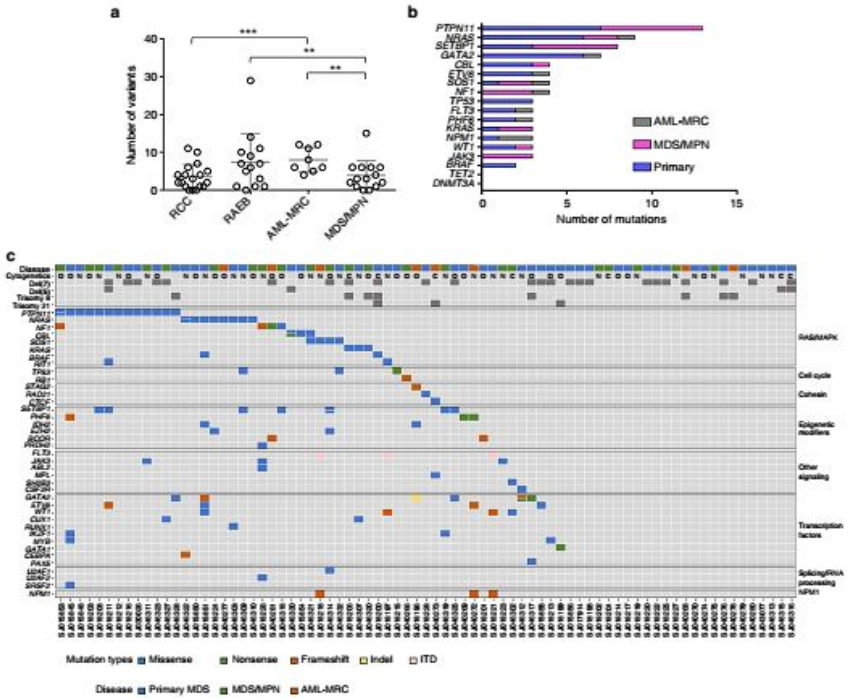


Fig. 2 Somatic mutations in pediatric MDS and related neoplasms. **a** Total number of somatic variants per patient in the 54 patients with WES data (includes silent, nonsense, missense, frame shifts, indels, ITD, and mutations within 3′ and 5′ UTR). **: $p = 0.02$; ***: $p = 0.003$ (student's t-test). **b** The most common genes with somatic mutations in the full cohort of 77 patients (includes WES and targeted amplicon sequencing). Only somatic mutations with presumed functional consequences are shown. **c** Heat map showing the somatic mutational profile of the pediatric MDS cohort separated by gene functional groups. Only somatic mutations with presumed functional consequences are shown. Split cells indicate multiple mutations. O, other karyotype findings not listed separately; C, complex karyotype; N, normal karyotype

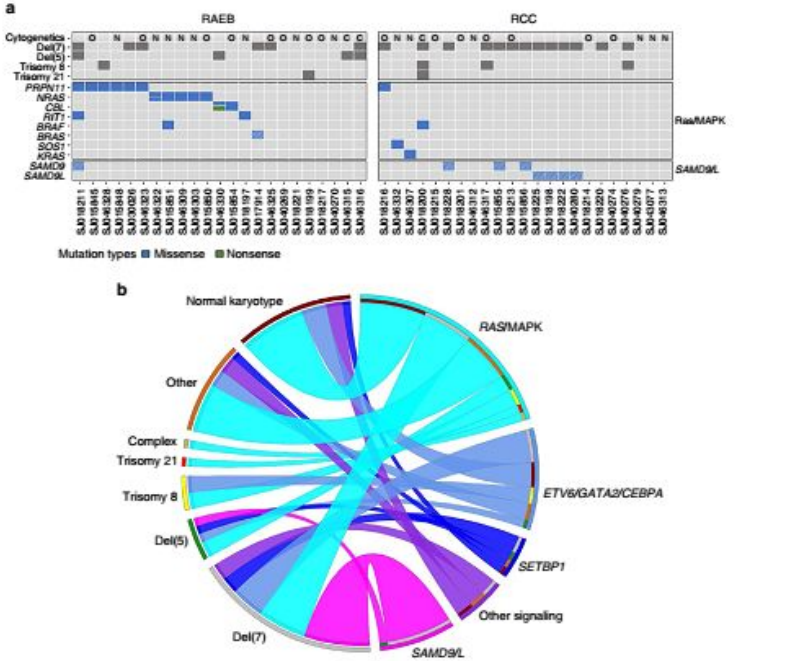


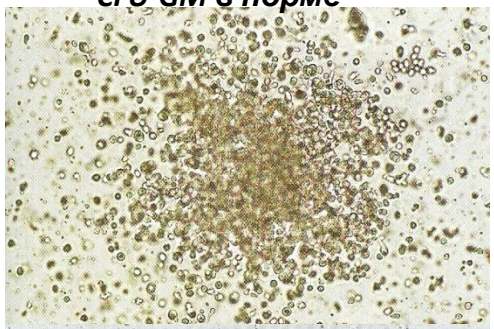
Fig. 6 The genomic landscape of pediatric primary MDS. **a** Heat map indicating primary MDS patients, subdivided into RCC and RAEB categories, with somatic mutations, germline variants (cells with hatched lines), and transcript fusions. Ras/MAPK mutations are enriched in the RAEB subgroup (65% vs 17%, $p = 0.002$, Fisher's exact test) **b** Ribbon plot showing associations between cytogenetic abnormalities and recurrent mutations in myeloid neoplasms. Data from WES and targeted amplicon sequencing of the primary MDS cohort ($n = 46$) was used to build the plot. Associations between a cytogenetic abnormality and a mutation are connected by a ribbon, the width of which is proportional to the frequency of that association

По мере повышения доступности молекулярной диагностики, в частности панелей
для таргетного секвенирования генов, мутации в которых ассоциированы
с предрасположностью к онкогематологическим заболеваниям, появляется
все больше пациентов и целых семей с лабораторным подтверждением диагноза.
Ряд мутаций вероятно ассоциирован с развитием

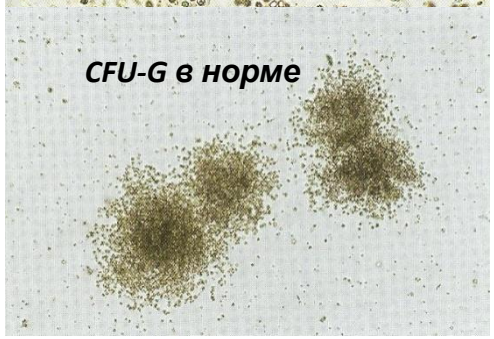
The genomic landscape of pediatric myelodysplastic syndromes Jason R. Schwartz et al ,Nature Communications 2017,8,1557

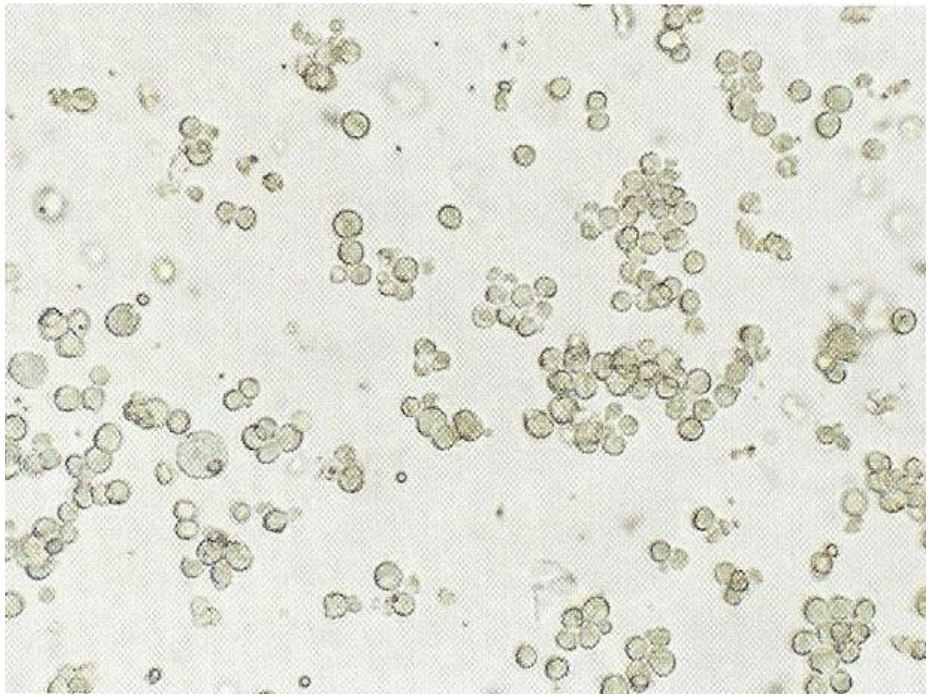
Культивирование клеток костного мозга

CFU-GM в норме

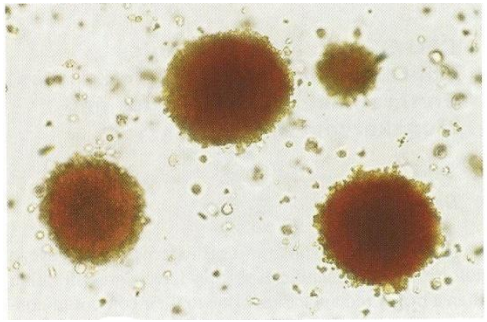


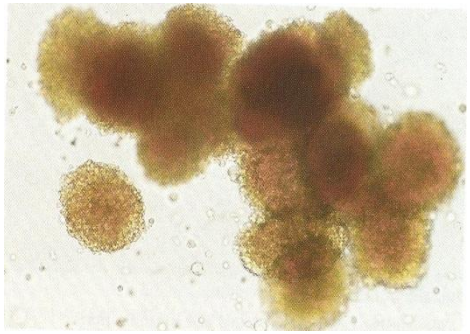
CFU-G в норме





Лейкемический рост





***BFU-Er* в норме**

Данные предоставлены Бабенко Е. В.

МДС. Варианты терапии

Низкий риск

Факторы прогноза

Высокий ри́ск

ИЦНЗ
КЦНЗ
КГНП

- Наблюдение

РА
РЦМД
РЦМД-КС
РАКС

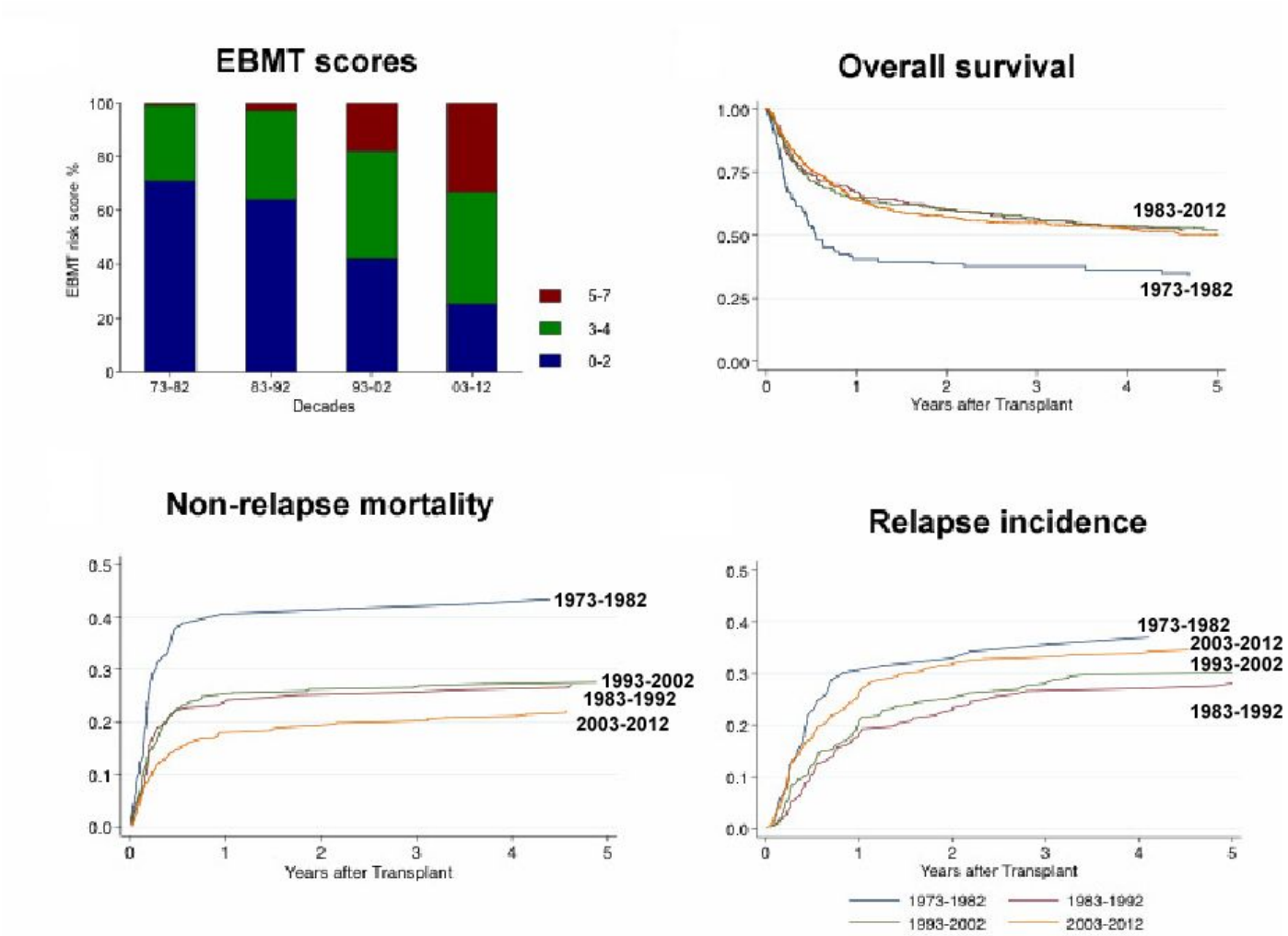
- Наиболее доступная терапия, хелаторная терапия
- Факторы роста
- Иммуносупрессивная терапия
- Дифференцировочная терапия

РАИБ-1
РАИБ-2

- Ингибиторы фарнесилтрансферазы
- Талидомид/леналидомид
- Эпигенетическая терапия
- Ингибиторы иммунных контрольных точек
- Низкие дозы химиотерапии
- Высокодозная химиотерапия
- Аллогенная трансплантация костного мозга

ИЦНЗ/ICUS - idiopathic cytopenias of undetermined significance
КЦНЗ/CCUS - clonal cytopenias of undetermined significance
КГНЗ/CHIP - clonal hematopoiesis of indeterminate potential

Повышение общей выживаемости пациентов за 1973-2012 гг. связано со снижением летальности, связанной с алло-ТГСК

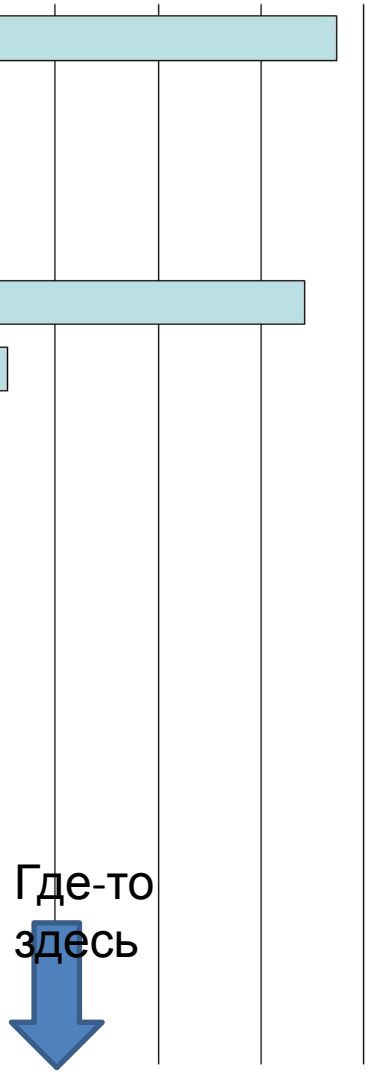


O'Meara A et al., Swiss Med Wkly. 2014 Feb 24

Хронический миелолейкоз у детей

Эпидемиология

ОЛЛ 23,7
ОМЛ 4,9
Болезнь Ходжкина 3,6
Неходжкинские лимфомы 5,9
Опухоли ЦНС 22,1
Нейробластома 7,7
Ретинобластома 3,1
Нефробластома 5,9
Гепатобластома 1,4
Остеогенная саркома 2,5
Саркома Юинга 1,5
Рабдомиосаркома 3,4
Саркомы мягких тканей 3,6
ГКО 3,4
Рак щитовидной железы 1,2
Меланома 1,2



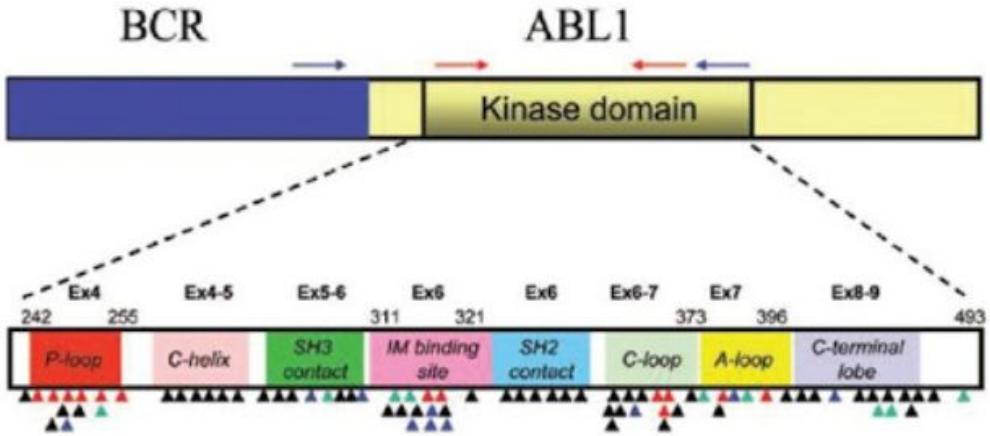
WORLD HEALTH ORGANIZATION
EUROPE

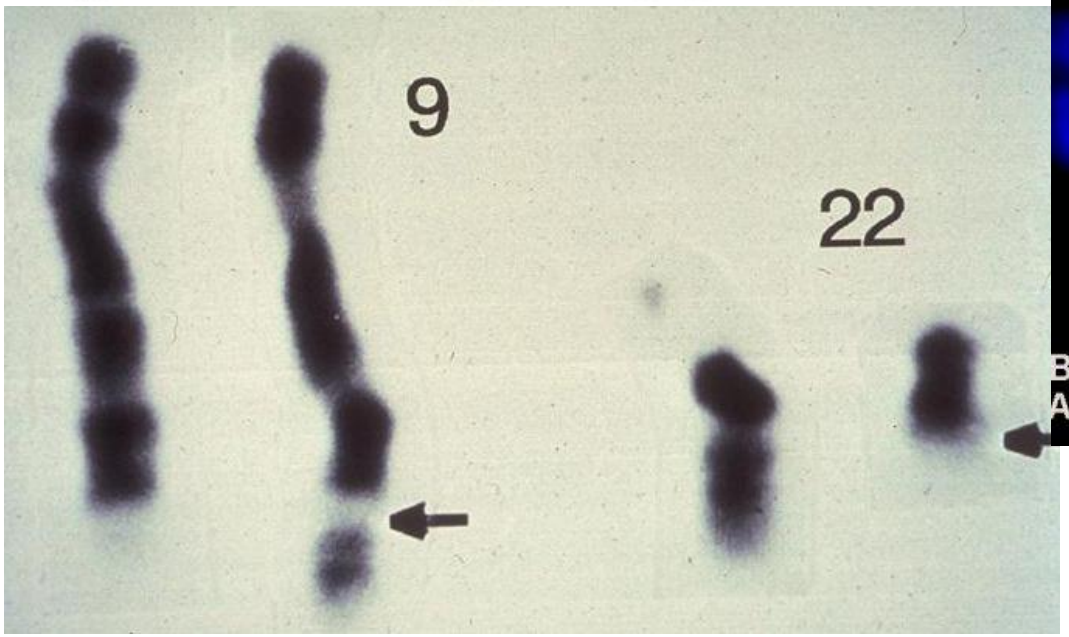
- Менее 3% от детских лейкозов
- Заболеваемость 0,7 на 1 млн в возрасте до 14 лет, 1,2 на 1 млн в возрасте 14-18 лет
- Медиана возраста 11-13 лет

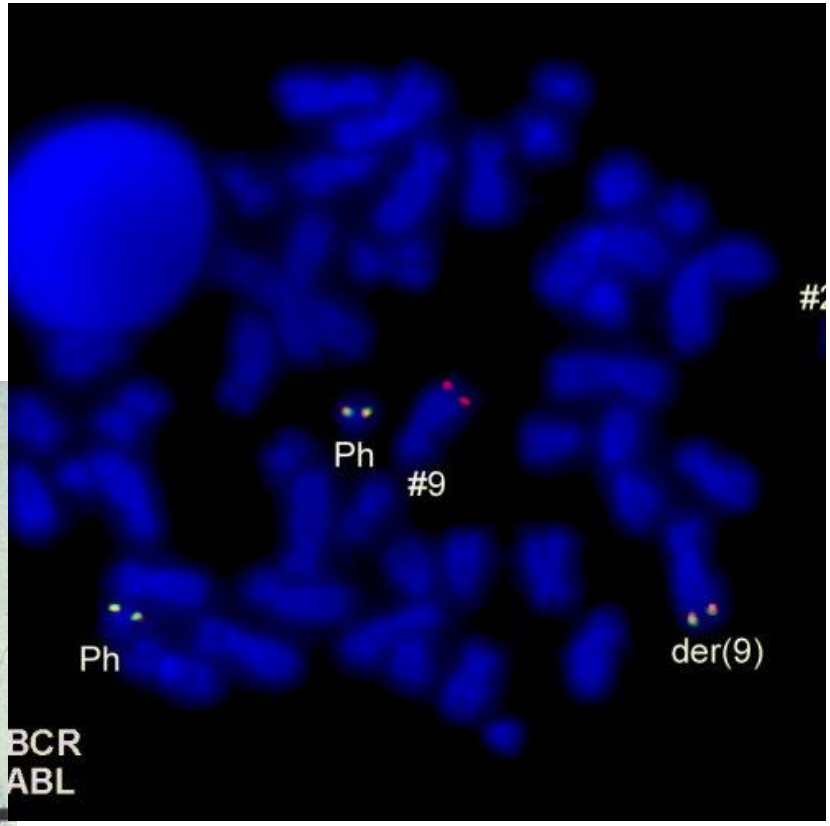
www.euro.who.int/ENHIS

De la Fuente J, Baruchel A, Biondi A, et al. Br J Haematol. 2014;167:33–47.

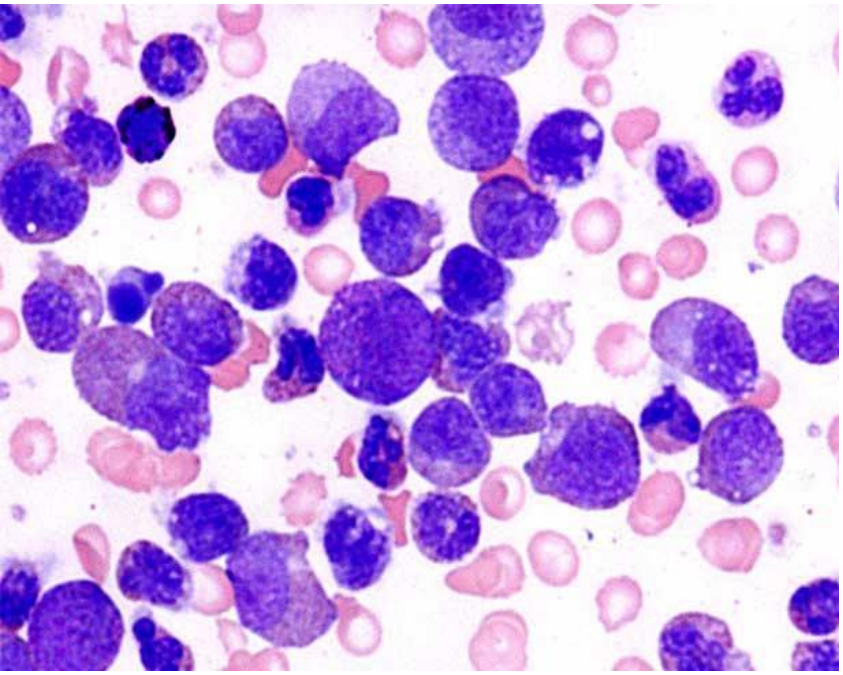
Филадельфийская хромосома

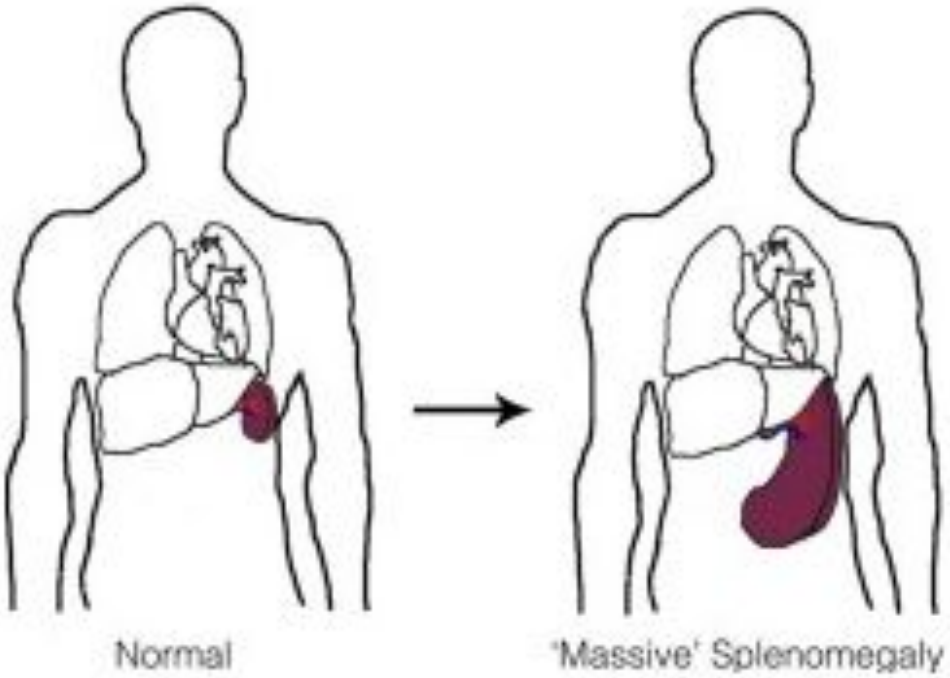






Клинические проявления





Фазы ХМЛ

ХМЛ-ХФ	ХМЛ-ФА	ХМЛ-БК
Диагноз устанавливают при наличии всех критериев	Диагноз устанавливают при наличии 1 или более критериев	Диагноз устанавливают при наличии 1 или более критериев
Обнаружение t (9;22) или химерный ген Bcr-Abl	10–19 % бластных клеток в периферической крови или костном мозге	Наличие в периферической крови и/или в костном мозге ≥ 20 % бластных клеток
Бласты в периферической крови или костном мозге < 10%	Количество базофилов в крови ≥ 20 %	Экстрамедуллярные инфильтраты бластных клеток
Отсутствие критериев ФА или БК	Персистирующая тромбоцитопения с числом тромбоцитов <100 x 10^9/л, не связанная с терапией или не отвечающая на терапию	Крупные скопления бластных клеток в костном мозге
	Увеличение размеров селезенки, лейкоцитоз	
	Клональные цитогенетические аномалии в Ph-позитивных клетках на фоне лечения	
	Ретикулиновый или коллагеновый фиброз в костном мозге	

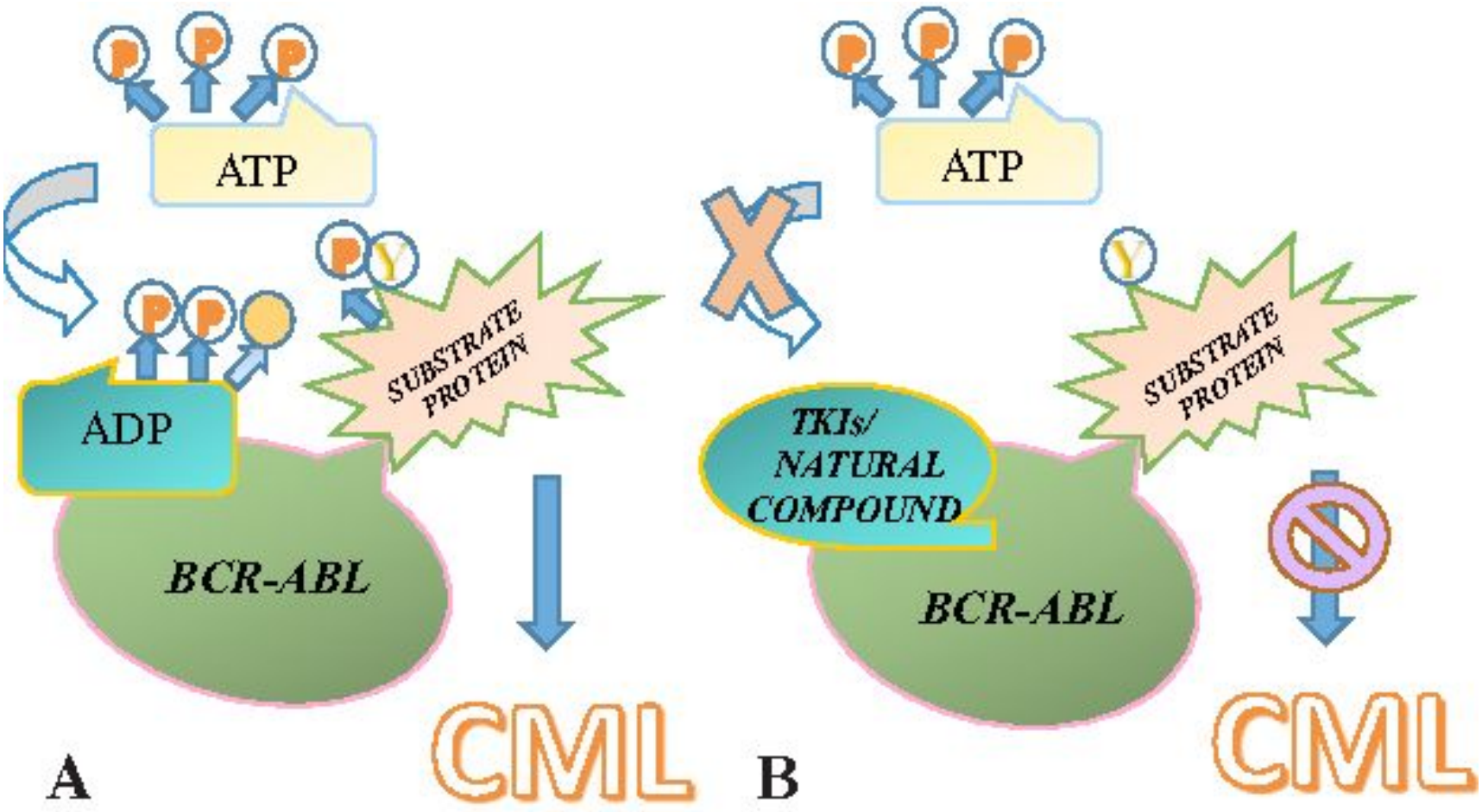
Jeffrey R. Andolina et al. How I treat childhood CML. Blood. 2012.119: 1821-1830.doi:10.1182/blood-2011-10-380774

Особенности клинического течения у детей

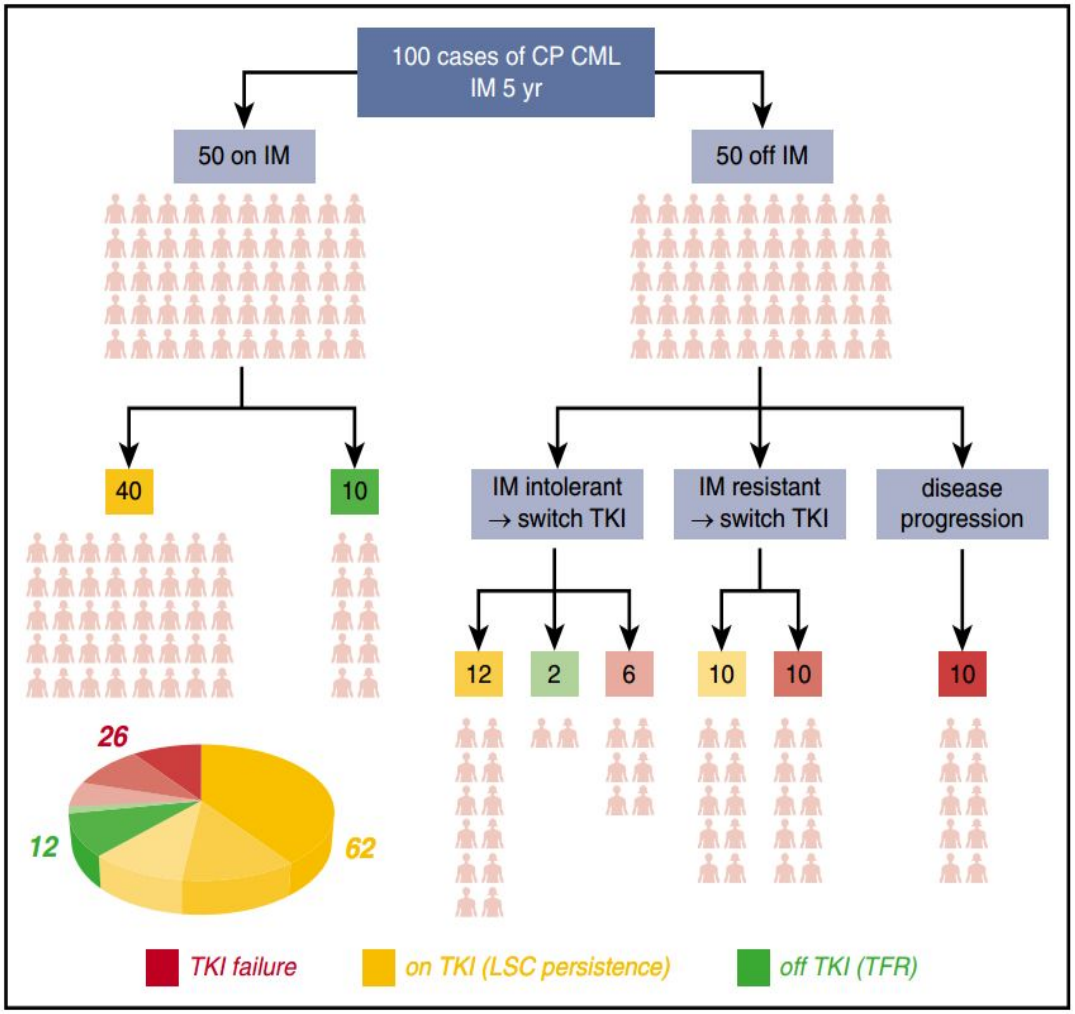
- Более агрессивное клиническое течение
- Чаще диагностируется на «продвинутых» стадиях
- Более выраженная спленомегалия
- Более выраженный лейкрцитоз (средний 250 x 10^9)

Nobuko Hijiya et al. Blood.2016 Jan 28;127(4):392-9.doi:10.1182/blood-2015-06-648667

Ингибиторы тирозинкиназ



Прогноз пациентов с ХМЛ



Пятилетнее течение заболевания в условной группе из 100 пациентов в ХФ ХМЛ : ответ на терапию иматинибом, возможность отмены терапии, возможные причины перехода на терапию ИТК второго поколения.

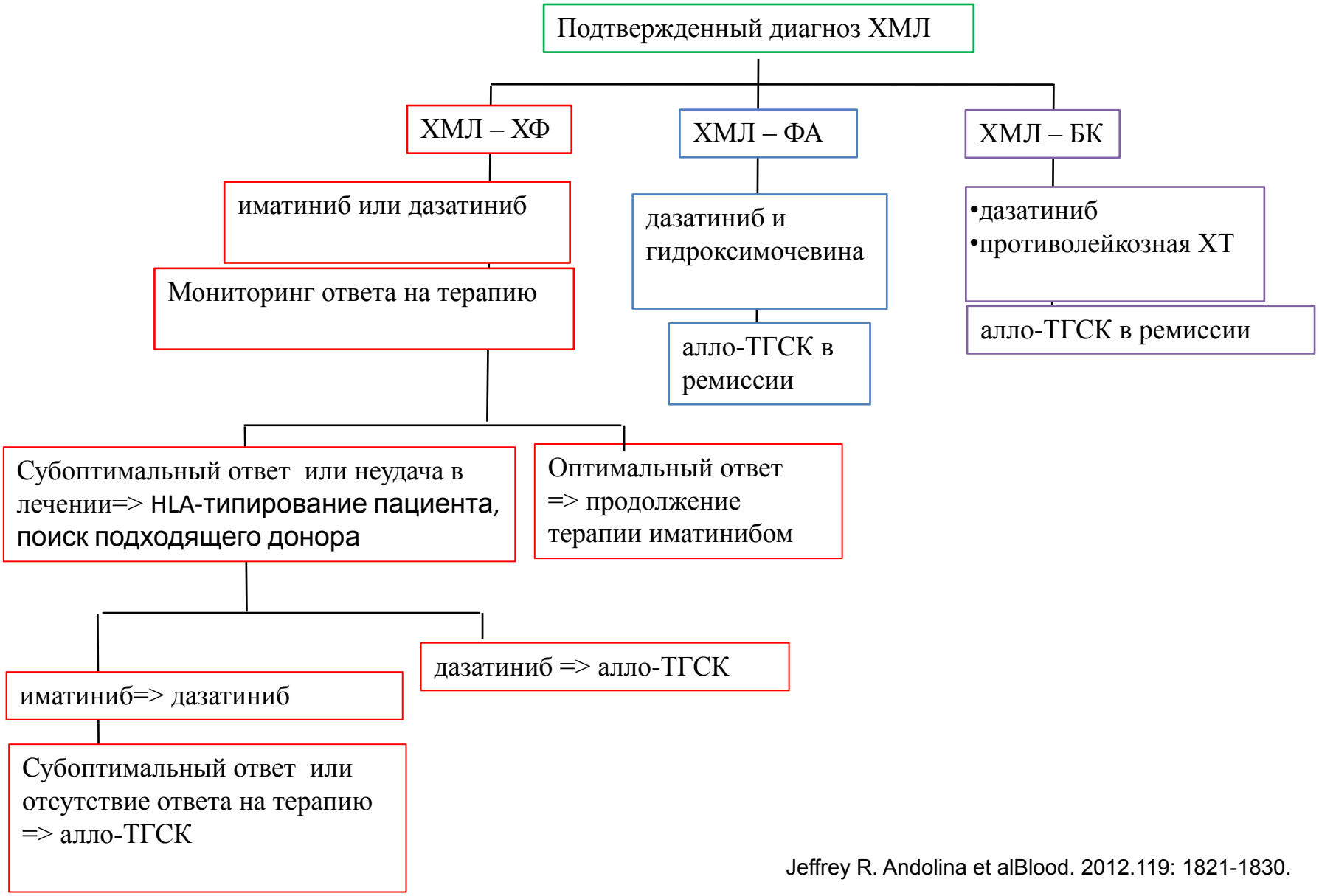
Как правило, через 5 лет с момента начала терапии терапию ИТК можно отменить у 12 пациентов из 100 (зеленый сегмент диаграммы).

Терапия окажется неэффективной у 26/100 пациентов (красный сегмент диаграммы) даже при переходе на следующие линии терапии

В большинстве случаев (62/100, оранжевый сегмент диаграммы) требуется длительная терапия ИТК в связи с персистированием ЛСК в костном мозге ХМЛ.

Holoyake TL, Vetrie D. The chronic myeloid leukemia stem cell: stemming the tide of persistence. Blood 2017 Mar 23;129(12):1595-1606.

Тактика у пациентов с ХМЛ

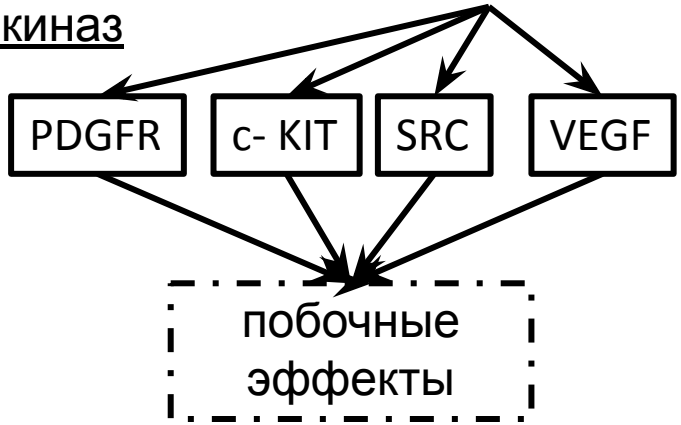


Jeffrey R. Andolina et alBlood. 2012.119: 1821-1830.

Проблема долгосрочных побочных эффектов

Основная терапевтическая мишень ИТК -> белок $p210^{BCR-ABL}$

<u>Постоянная ингибиция физиологически активных тирозинкиназ</u>



эндокринопатии:

- Задержка роста,нарушение метаболизма и минерализации костной ткани;
- дисфункция щитовидной железы;
- нарушение полового созревания и фертильности

Samis et al. Pediatr Blood Cancer 2016;63:1332–1338

Спасибо за внимание!