

# Ασθενής με λευκοκυττάρωση

## Οξείες λευχαιμίες Ταξινόμηση Επιδημιολογία

Αλέξανδρος Σπυριδωνίδης  
Καθηγητής

Διευθυντής Μονάδος Μεταμόσχευσης Μυελού Οστών  
Και Κέντρου Δοτών ΚΕΔΜΟΠ

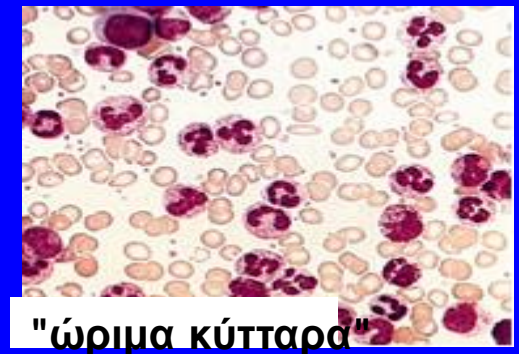
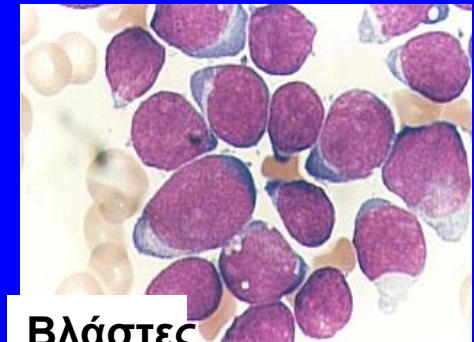
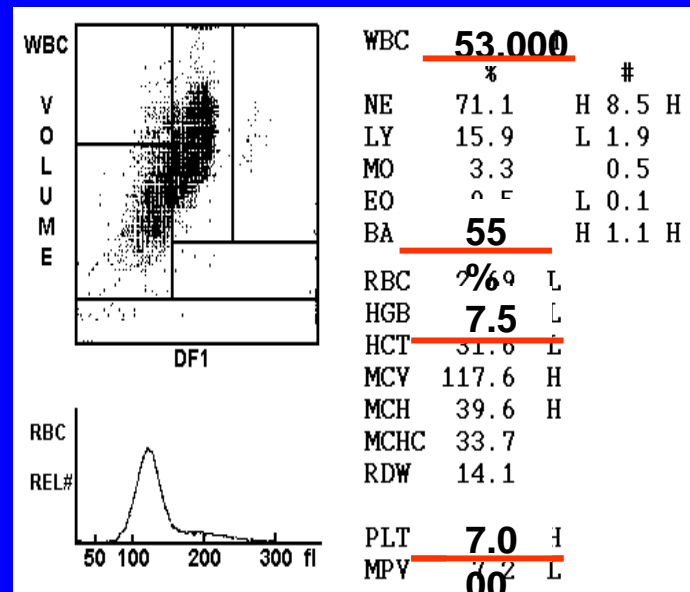
# Ιστορικό.....

Ανδρας 51 ετών, καταβολή, αδυναμία, ανορεξία, και ουλορραγίες από 10ημέρου.

Γ.Α. --> αναιμία, λευκοκυττάρωση και θρομβοπενία.

"Πλακάκι" --> Βλάστες

Μυελός --> 70% Βλάστες

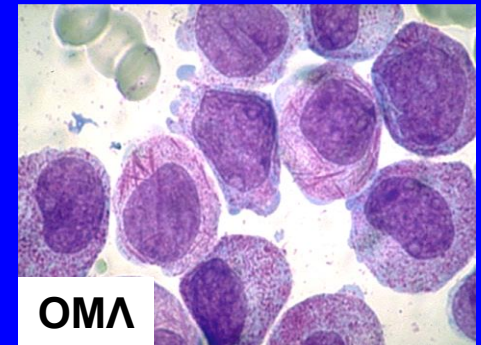
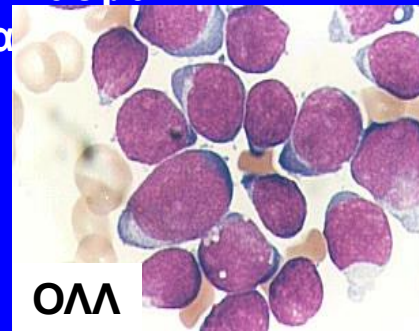


# Διάγνωση Οξείας λευχαιμίας--> Μυελογενής ή λεμφοβλαστική?

## -μορφολογία

ΟΜΛ: Αιερ ραβδία, κοκκία στο κυτταρόπλασμα

ΟΛΛ: κυτταρόπλασμα χωρίς κοκκία



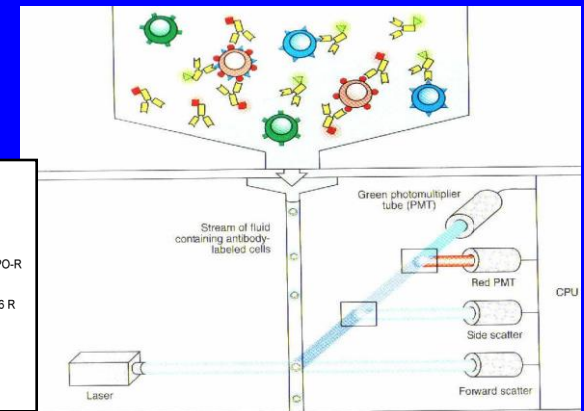
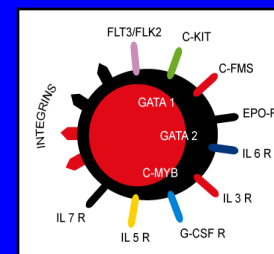
## - ΚΥΤΤΑΡΟΧΗΜΕΙΑ

μυελοπεροξειδάση, εστεράση κτλ.

(χρωματίζουν τα κοκκία που δεν είναι ορατά με το "γυμνό" μάτι)

## - ανοσοκυτταρομετρία (FACS)

Λεμφικά vs μυελογενή αντιγόνα



# ΚΥΤΤΑΡΟΧΗΜΕΙΑ

μορφολογική κατάταξη  
συμπληρώνεται με εξετάσεις  
(χρώσεις) που δείχνουν την  
λειτουργική διαφοροποίηση  
των βλαστών ανιχνεύοντας  
είτε κυτταροπλασματικά  
ένζυμα είτε

## **ΚΥΤΤΑΡΟΧΗΜΕΙΑ**

όξινη φωσφατάση → Τ σειρά

μυελοπεροξειδάση (MPO) → μυελική σειρά

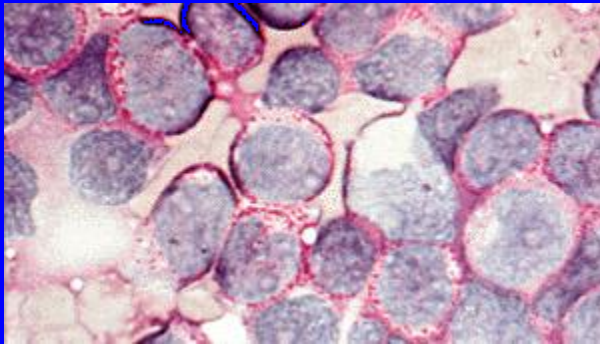
εστεράσες → μονοκυτταρική σειρά

λυσοζύμη → μονοκυτταρική σειρά

PAS → Β λεμφική σειρά

# ΚΥΤΤΑΡΟΧΗΜΕΙΑ

PAS ++



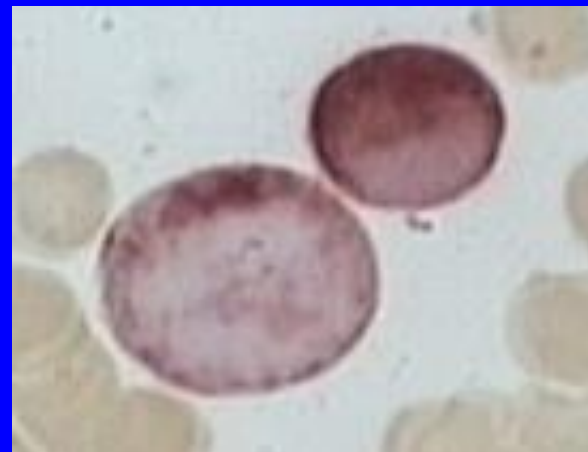
Οξίνη φωσφατάση ++



Μυελοπεροξειδάση



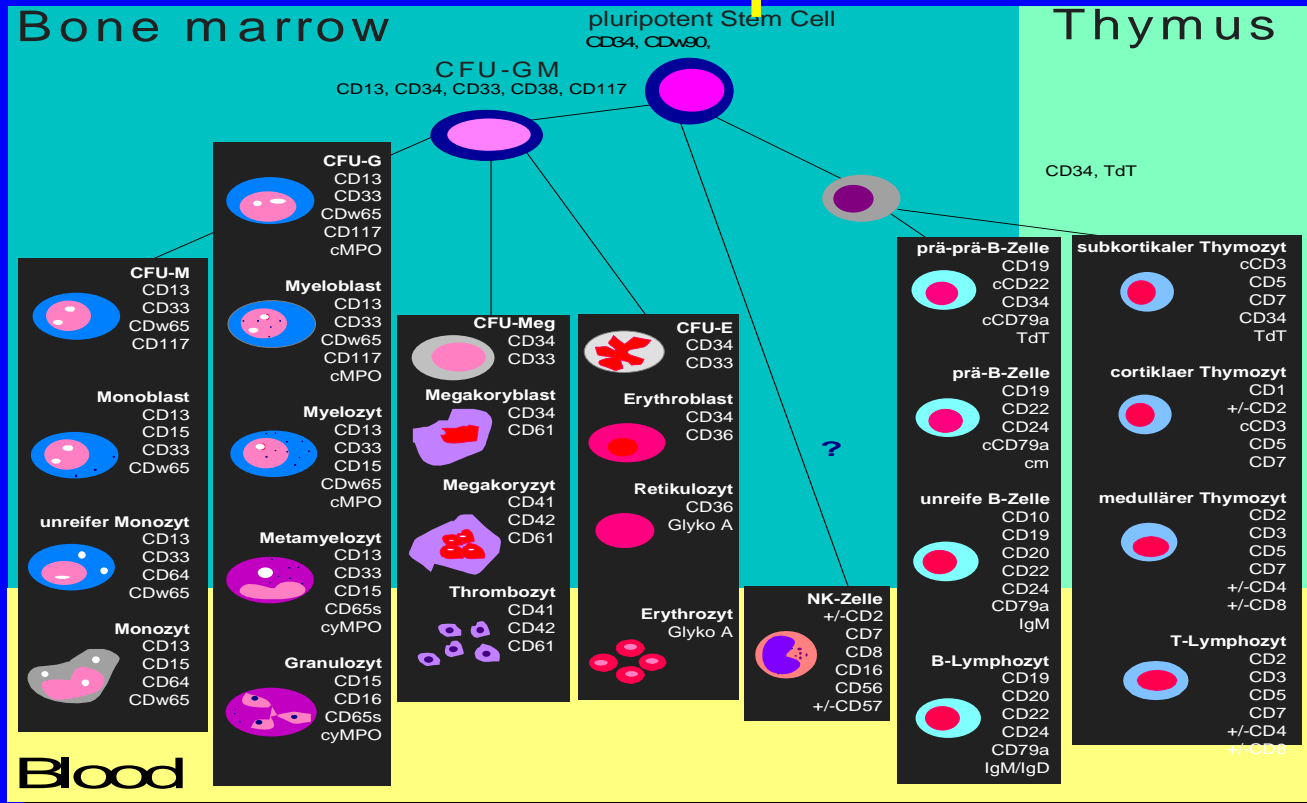
Εστεράση



# Ανοσοφαινότυπος

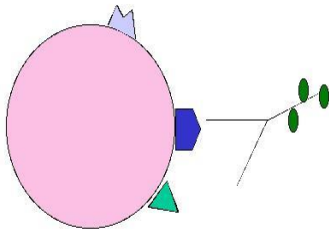
Ανοσοφαινότυπος είναι η μελέτη της αντιγονικής έκφρασης των κυττάρων με την χρήση αντισωμάτων

## CD Αντιγόνα



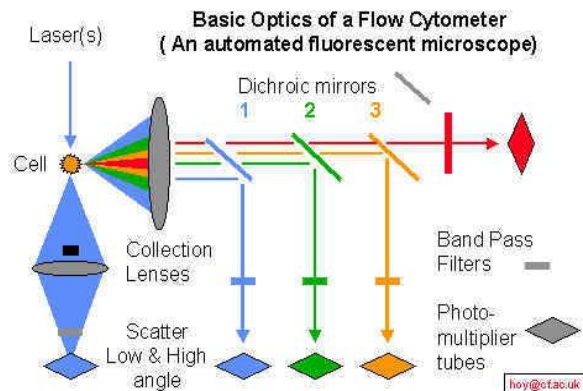
# ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΗΤΗΣ ΡΟΗΣ

## Direct staining



- Fluorescent probe attached to antibody
- Specific signal: weak, 3 dyes/site
- Nonspecific binding: low

Data from Dr. Carleton Stewart



# Διάγνωση λευχαιμιών βάσει της έκφρασης των αντιγόνων

## **B λευχαιμία**

CD19

CD20

CD10

κυτταροπλασματικό CD79a

## **T λευχαιμία**

CD3

CD7

CD5

CD4+CD8

## **Μυελοκυτταρικής λευχαιμία**

- CD33, CD13

## **Μονοκυτταρική**

- CD64, CD14

## **Ερυθρολευχαιμία**

- CD71, γλυκοφορίνη

## **Μεγακαρυοκυτταρική**

- CD41, CD61

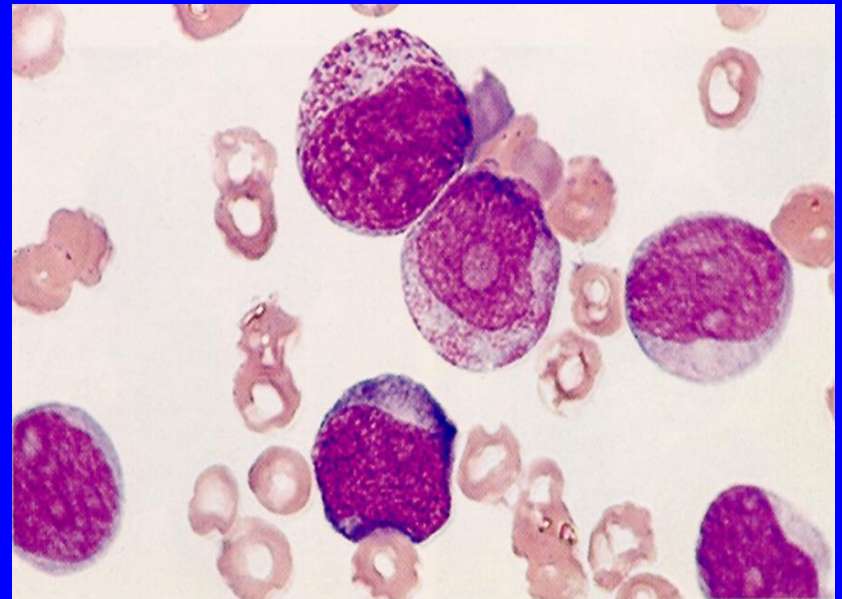


# Ιστορικό..... οξεία μυελογενής λευχαιμία

---

Ανδρας 51 ετών, καταβολή, αδυναμία, ανορεξία, και ουλορραγίες από 10ημέρου.

Γ.Α. --> αναιμία, λευκοκυττάρωση και θρομβοπενία.  
"Πλακάκι" --> Βλάστες  
Μυελός --> 70% Βλάστες **με κοκκία,**  
Κυτταροχημεία **Μυελουπεροξειδάση θετική**  
FACS: CD34+, CD33+



# Οξεία Λευχαιμία

---

## Χρειάζεται άμεση θεραπεία?

### Λευκόσταση?

σε WBC  $\gg 100 \times 10^9/L$

κλινική διάγνωση

απόφραξη μικροκυκλοφορίας από βλάστες

πνεύμονες: υποξαιμία, πνευμονικές διηθήσεις

ΚΝΣ: εμφρακτο

### Διαταραχές Πήξης (DIC)?

απελευθέρωση "προπηκτικών" παραγόντων από τους βλάστες (ιδιαίτερα από τα κοκκία, ειδικά στην προμυελοκυτταρική ΟΜΛ)

# Οξεία Λευχαιμία

---

• Χρειάζεται άμεση θεραπεία (εντός ωρών)?

Λευκόσταση, DIC

• Ποια είναι η θεραπεία?

• Ποιά είναι η πρόγνωση?

**Οξείες λευχαιμίες= ετερογενείς παθήσεις**

## Ταξινόμηση οξείων μυελοβλαστικών λευχαιμιών

---

### Ανάλογα με την μορφολογία και την κυτταροχημεία

#### FAB classification of AML (1976)

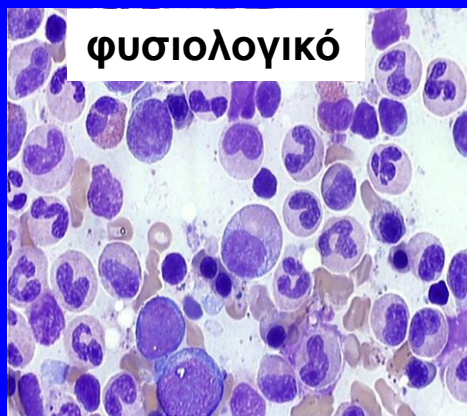
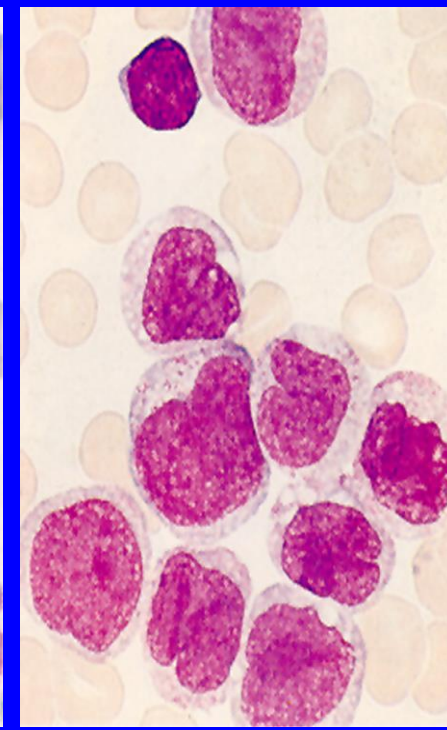
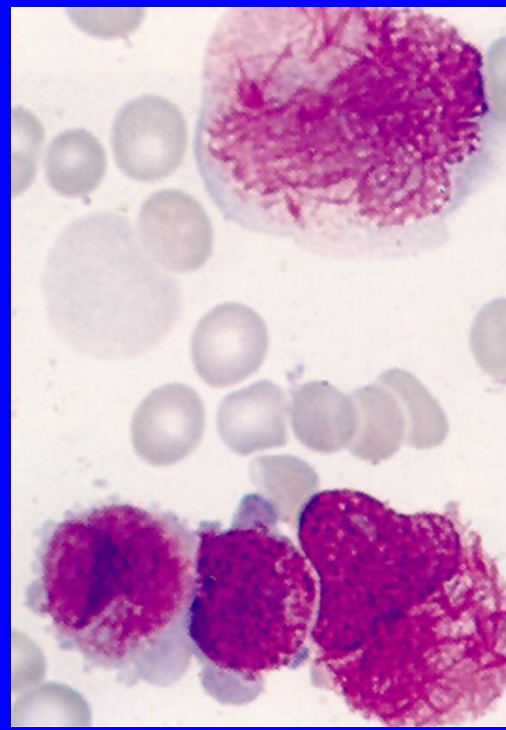
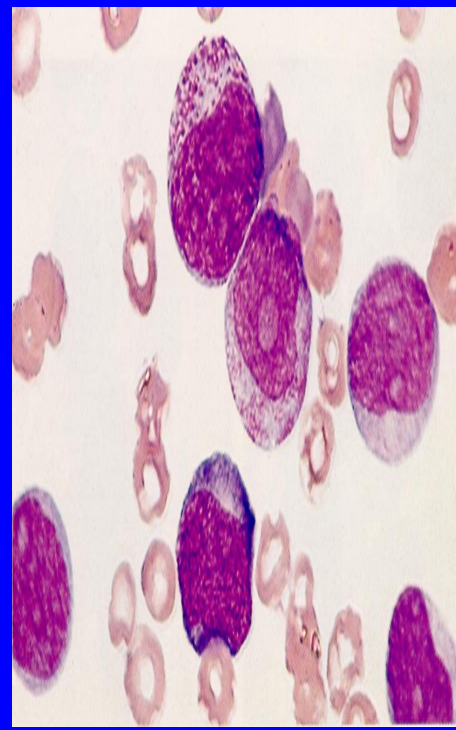
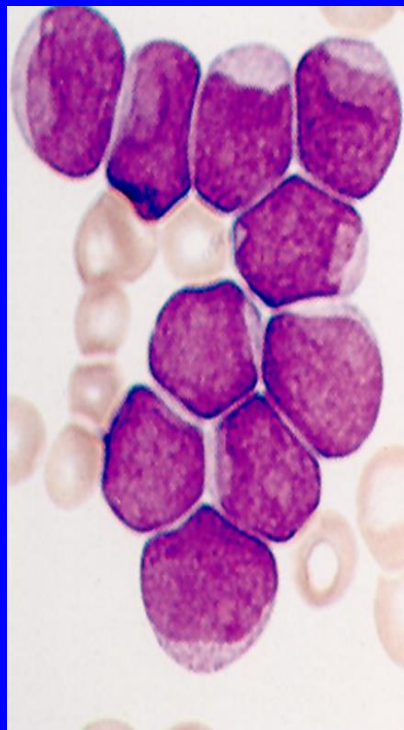
- ΟΜΛ ελάχιστα διαφοροποιημένη M0
- ΟΜΛ χωρίς ωρίμανση M1
- ΟΜΛ με ωρίμανση M2
- Οξεία προμυελοκυτταρική M3
- Οξεία μυελομονοκυτταρική M4
- Οξεία μονοβλαστική και μονοκυτταρική M5α & M5β
- Οξεία ερυθρολευχαιμία M6
- Οξεία μεγακαρυοβλαστική M7

# AML - M1

# AML - M2

# AML - M3

# AML - M5



## Προβλήματα της FAB ταξινόμησης

---

- Μορφολογικά κριτήρια --> Υπάρχει πολλές φορές ασυμφωνία μεταξύ ερευνητών
- Δεν μπορεί απόλυτα να ξεχωρίσει κάποιες λευχαιμίες π.χ. M1 με M7 (εδώ χρειάζεται η βοήθεια της FACS/ ανοσοιστοχημείας)
- εκτός από την προμυελοκυτταρική (M3) δεν έχει καμιά προγνωστική αξία

# ΟΜΛ στο παρελθόν

ACUTE LEUKEMIA IN ADULTS • *Clarkson et al.*

777

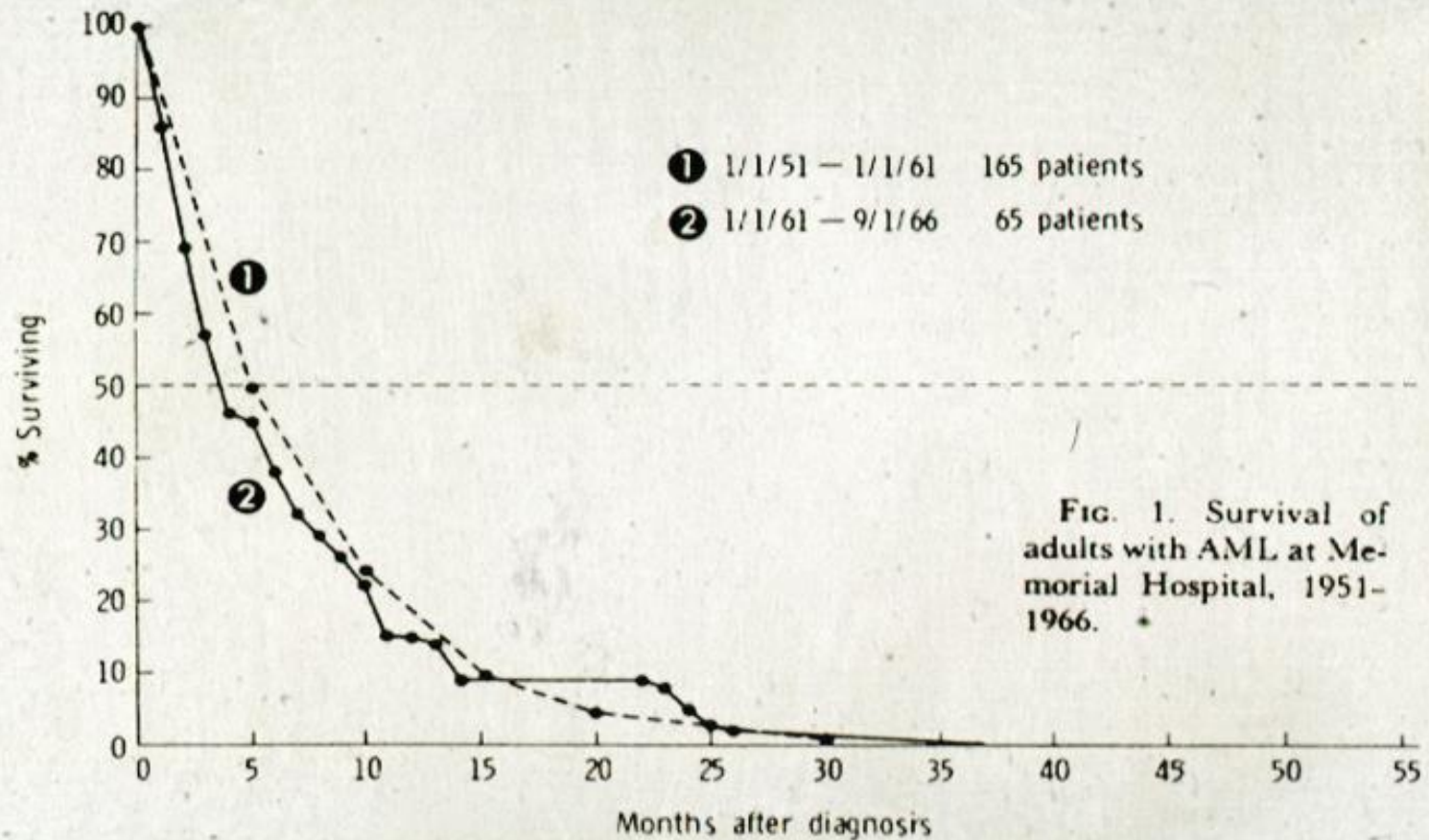
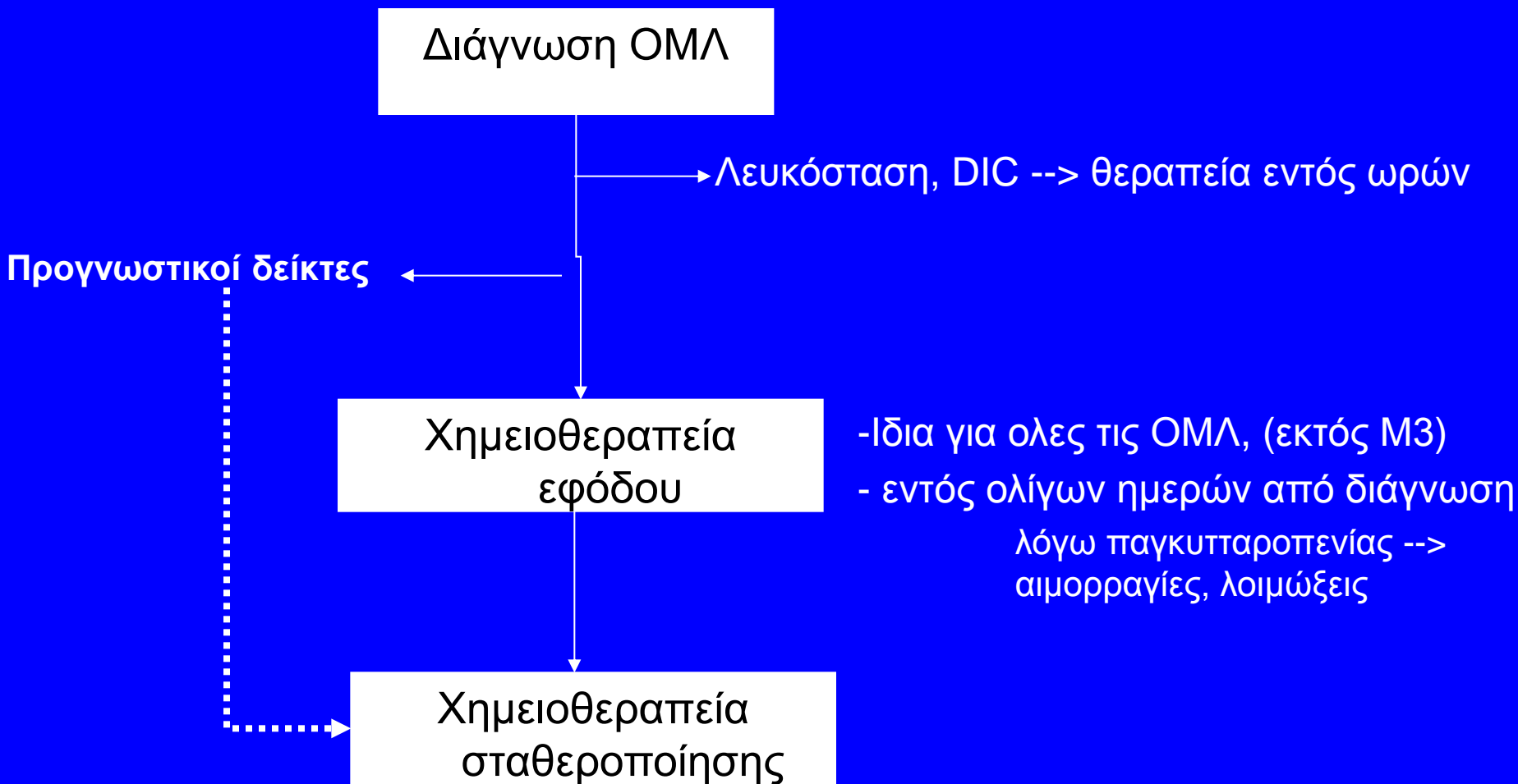


FIG. 1. Survival of adults with AML at Memorial Hospital, 1951-1966. \*

# Θεραπεία της ΟΜΛ

---





## Προγνωστικοί Δείκτες στην ΟΜΛ (κατά την διάγνωση)

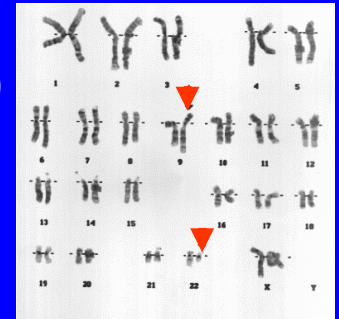
---

<b>FAB</b>	<b>OXI (εκτός από M3)</b>
<b>LDH</b>	<b>OXI</b>
<b>WBC</b>	<b>OXI</b>
<b>FACS</b>	<b>OXI</b>

# Μέθοδοι ελέγχου κυτταρογενετικής ανωμαλίας

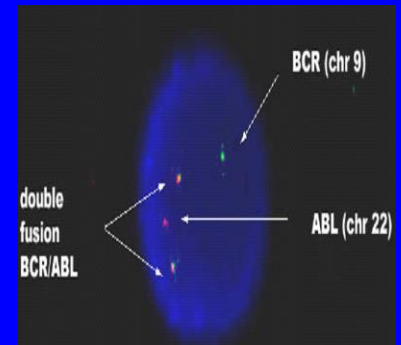
## Κλασσική κυτταρογενετική:

- : χρονοβόρα, ευαισθησία 5 %, μόνο σε μεταφάσεις  
(-->προηγείται κυτταροκαλλιέργεια η οποία δεν είναι πάντα δυνατή)
- +: ελέγχει ταυτόχρονα την ύπαρξη πολλών ανωμαλιών



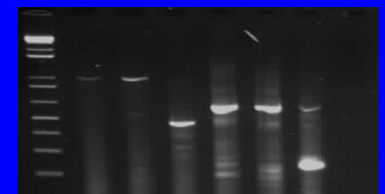
## FISH (φθορίζων υβριδισμός)

- + : γρήγορη, ευαισθησία 1%, δεν χρειάζεται διαίρεση του κυττάρου
- : ελέγχει την ύπαρξη μόνο μιας ανωμαλίας

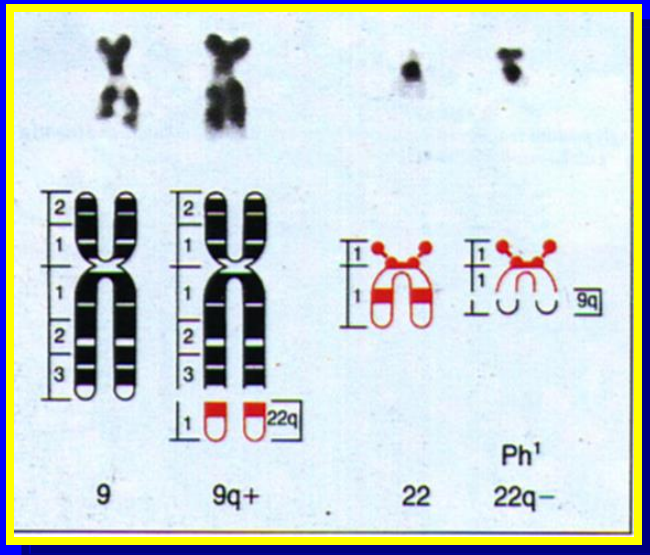


## PCR (μοριακός έλεγχος)

- + : γρήγορη, ευαισθησία % 1, δεν χρειάζεται διαίρεση του κυττάρου
- : ελέγχει την ύπαρξη μόνο μιας ανωμαλίας

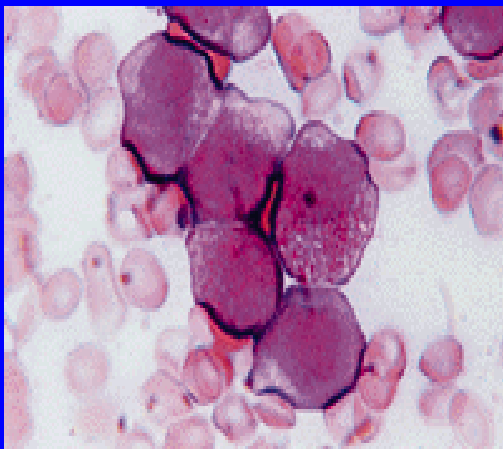


# ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ

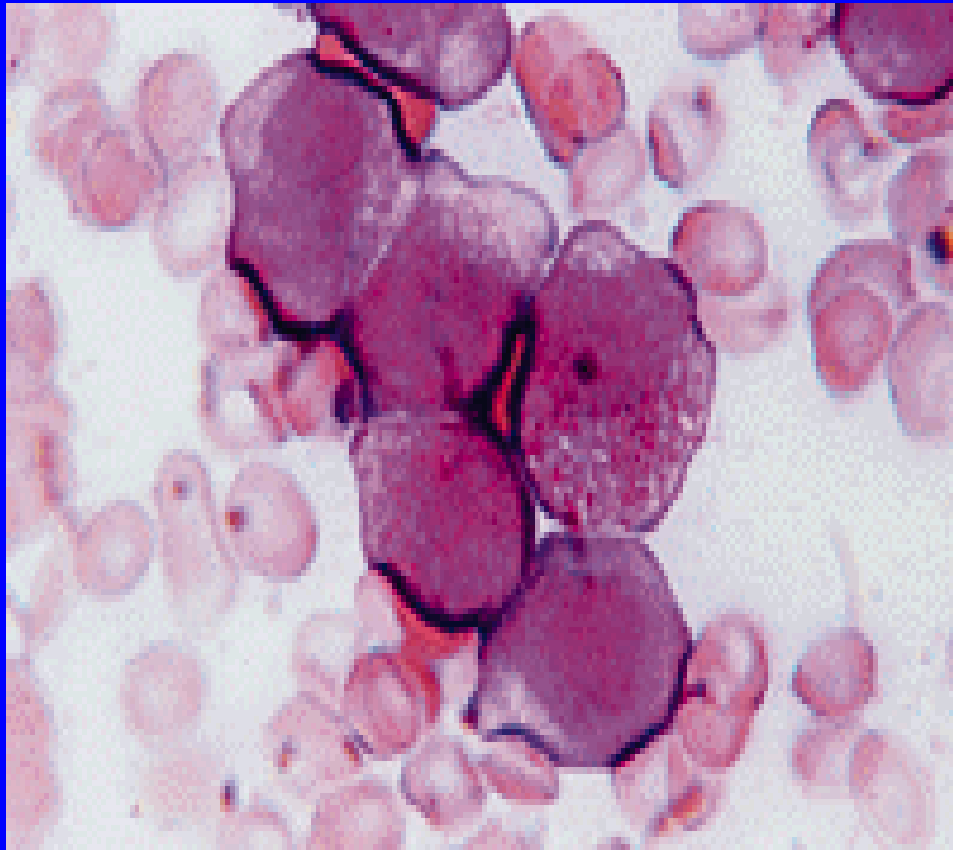


Η ανίχνευση των χρωμοσωματικών διαταραχών των βλαστικών κυττάρων έχει

- ❖ διαγνωστική σημασία
- ❖ προγνωστική σημασία

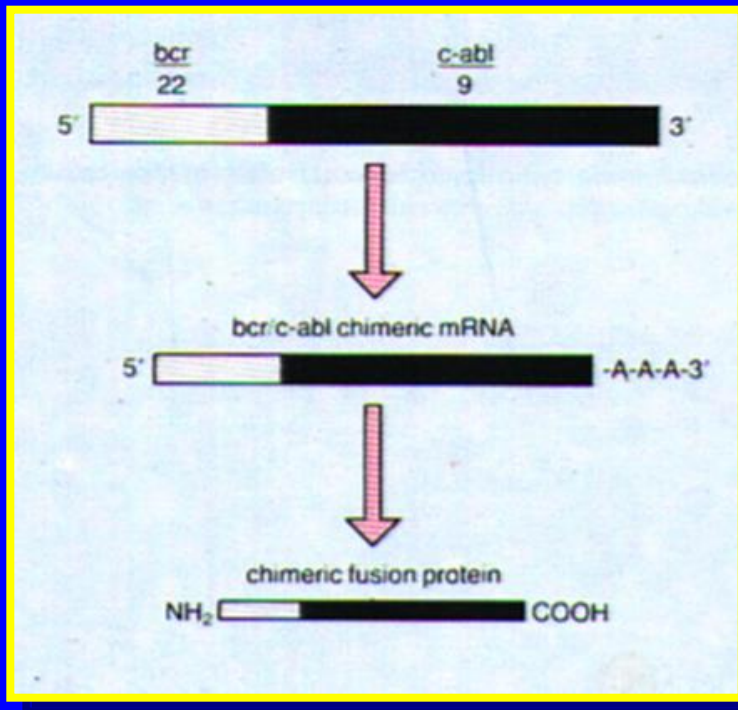


# ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ

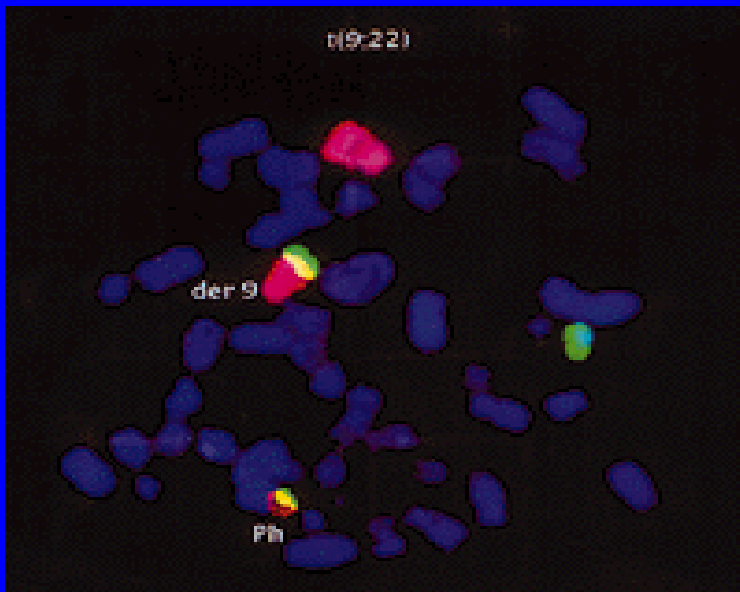
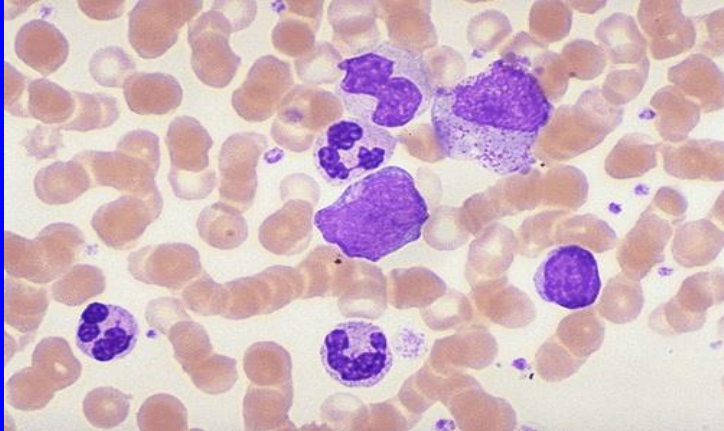


# PCR

Εφόσον έχει  
χαρακτηρισθεί η  
κυτταρογενετική βλάβη  
στην συνέχεια μπορεί  
να χρησιμοποιηθεί PCR  
για την  
παρακολούθηση της  
υπολειμματικής νόσου



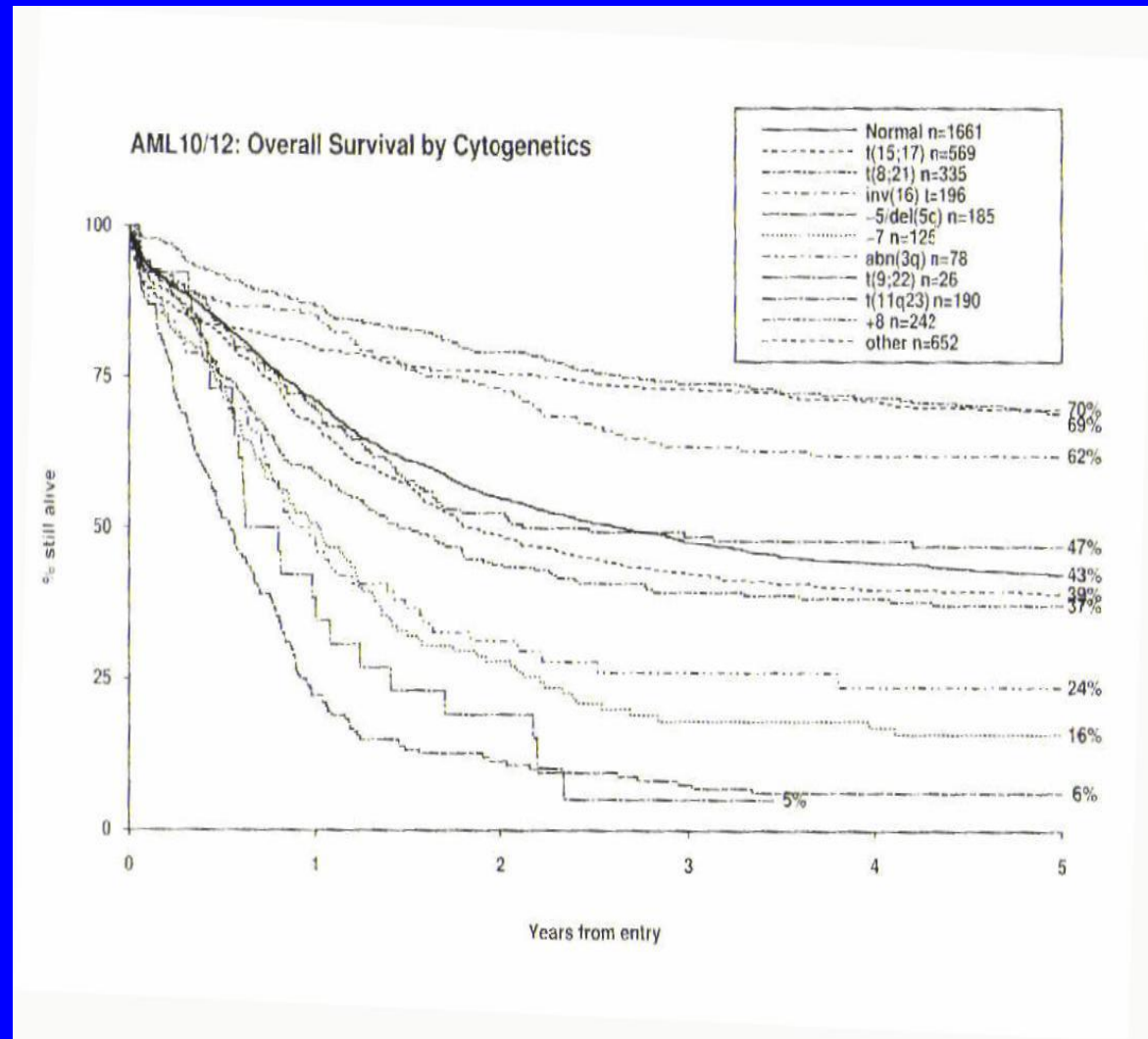
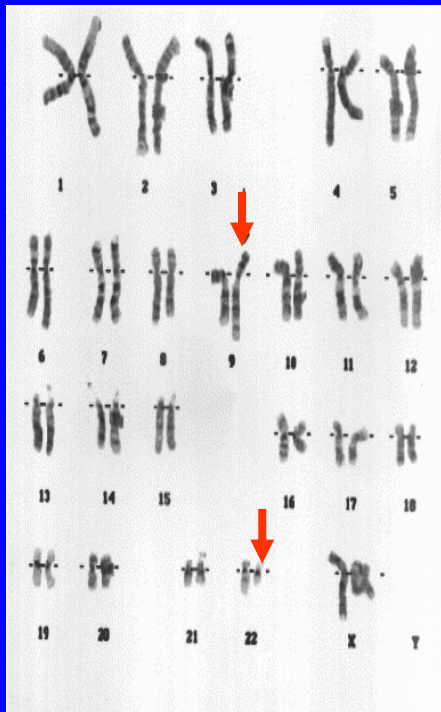
# FISH



Μέθοδος που ανιχνεύει ανωμαλίες των χρωμοσωμάτων με συμπληρωματικούς φθορίζοντες ανιχνευτές

Το πλεονέκτημα της μεθόδου σε σχέση με την συμβατική κυταρογενετική είναι ότι το κύτταρο δεν χρειάζεται να βρίσκεται σε διαίρεση

# Οι κυτταρογενετικές ανωμαλίες είναι ο σημαντικότερος προγνωστικός δείκτης στην ΟΜΛ (κατά την διάγνωση)



# Κυτταρογενετική και ολική επιβίωση στην ΟΜΛ

## AML (<60 y)

Stratification according to cytogenetics

### good risk

t(15;17)

inv 16

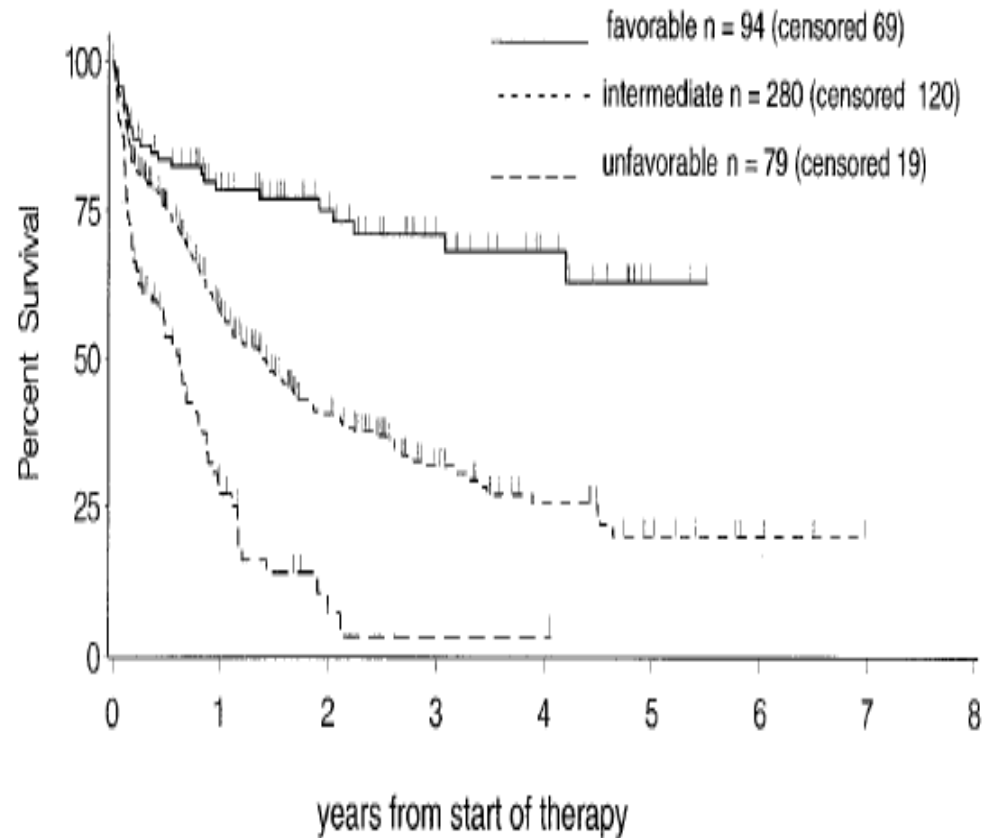
t(8; 21)

### standard risk

normalcaryotype

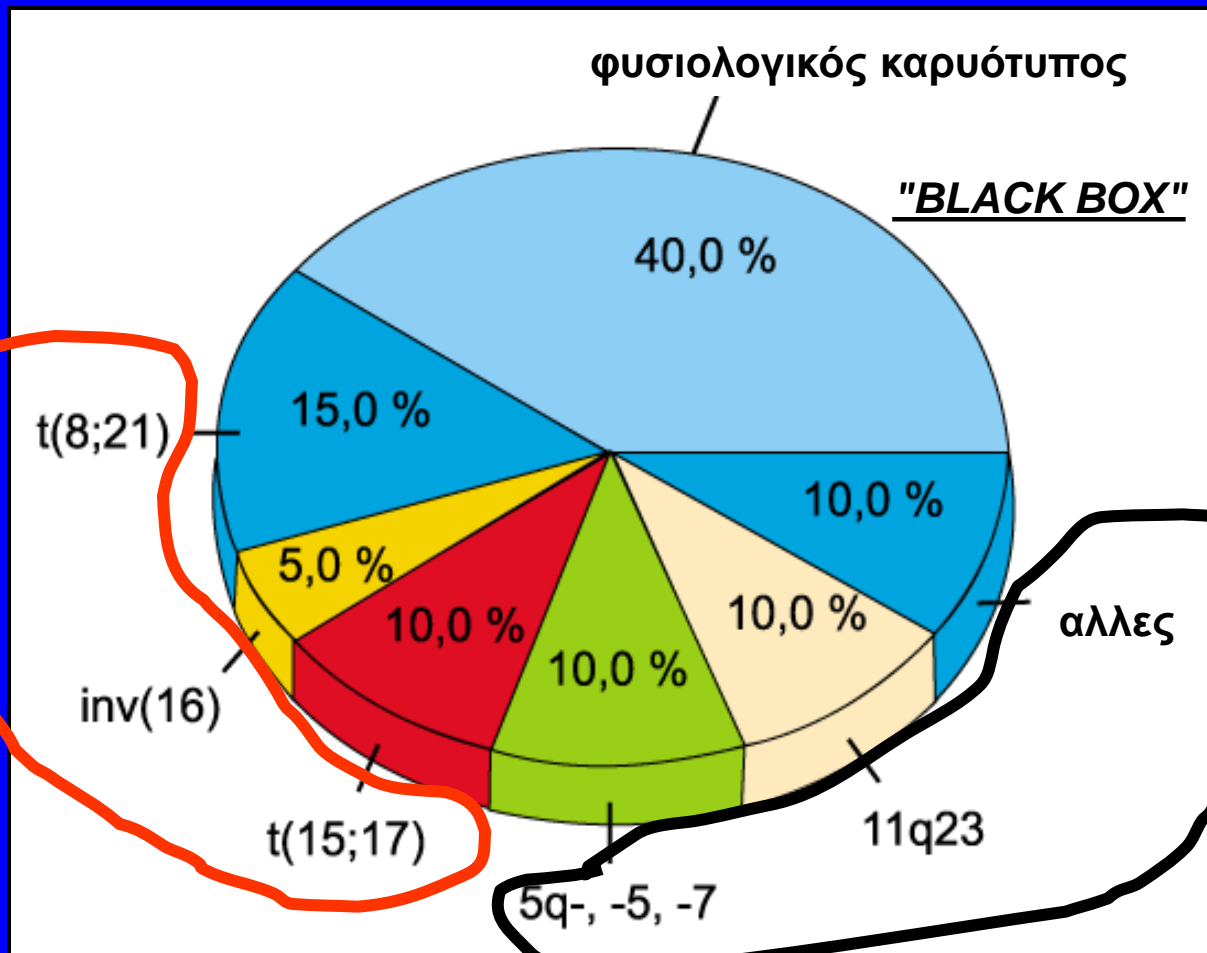
### high risk

-5/del(5q), inv(3q), del (9q), abn 11q23, abn 20q, abn 21q, abn 17p, t(9;22), complex caryotype ( $\geq 3$  abnormalities)





# Κυτταρογενετικές ανωμαλίες στην ΟΜΛ



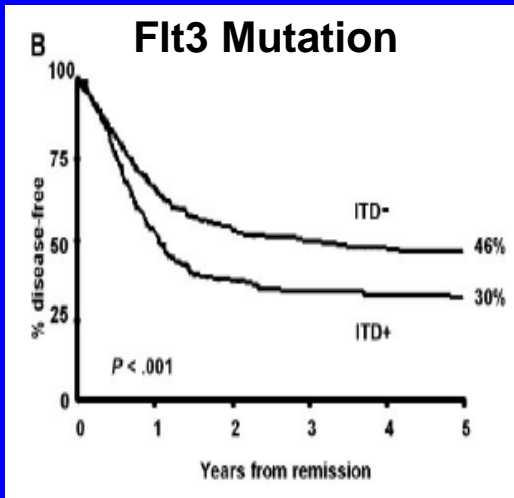
ενδιάμεσης  
πρόγνωσης

καλής  
πρόγνωσης

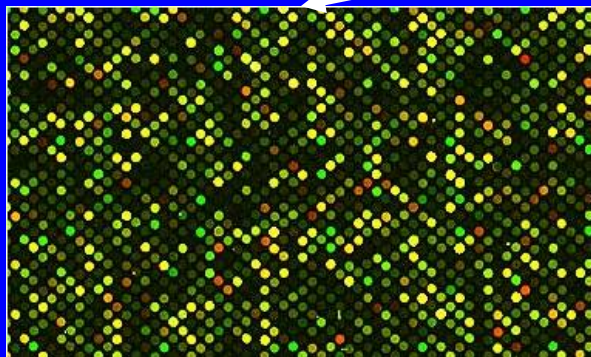
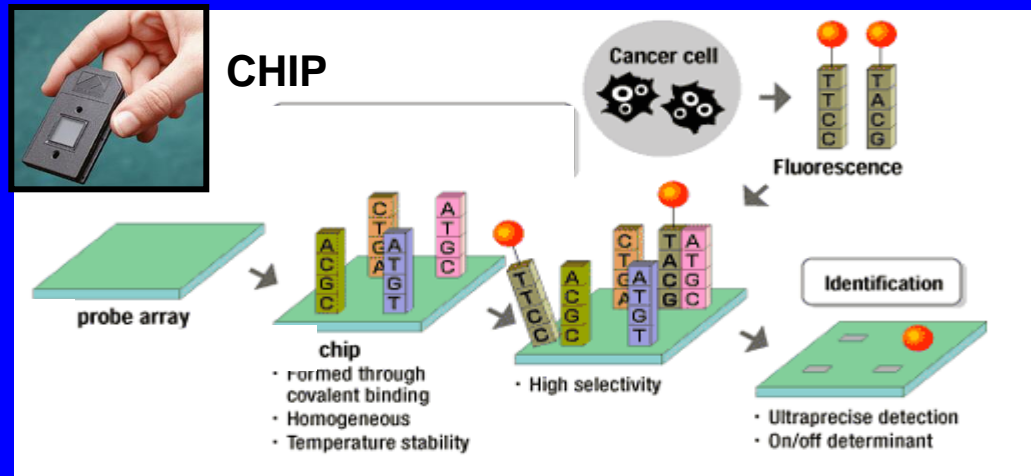
κακής  
πρόγνωσης

# Γονιδιακές ανωμαλίες στην ΟΜΛ με φυσιολογικό καρυότυπο

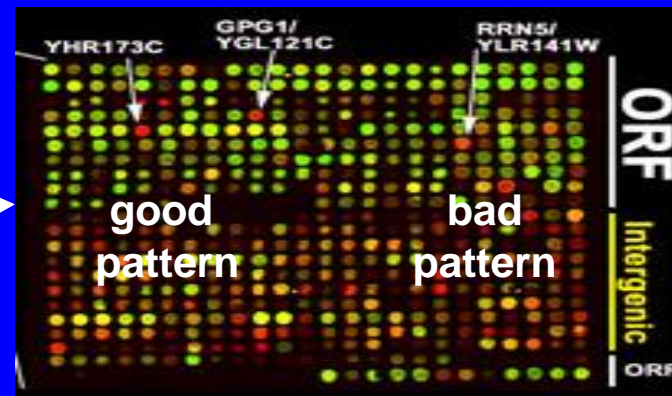
## Ελεγχος ενός γονιδίου



## Ελεγχος πολλών γονιδίων



microarray analysis



expression patterns

## Προγνωστικοί δείκτες στην ΟΜΛ (κατά την διάγνωση)

### Καλοί

- <60 χρ
- De novo AML
- καλές κυτταρογενετικές "ανωμαλίες"

### Κακοί

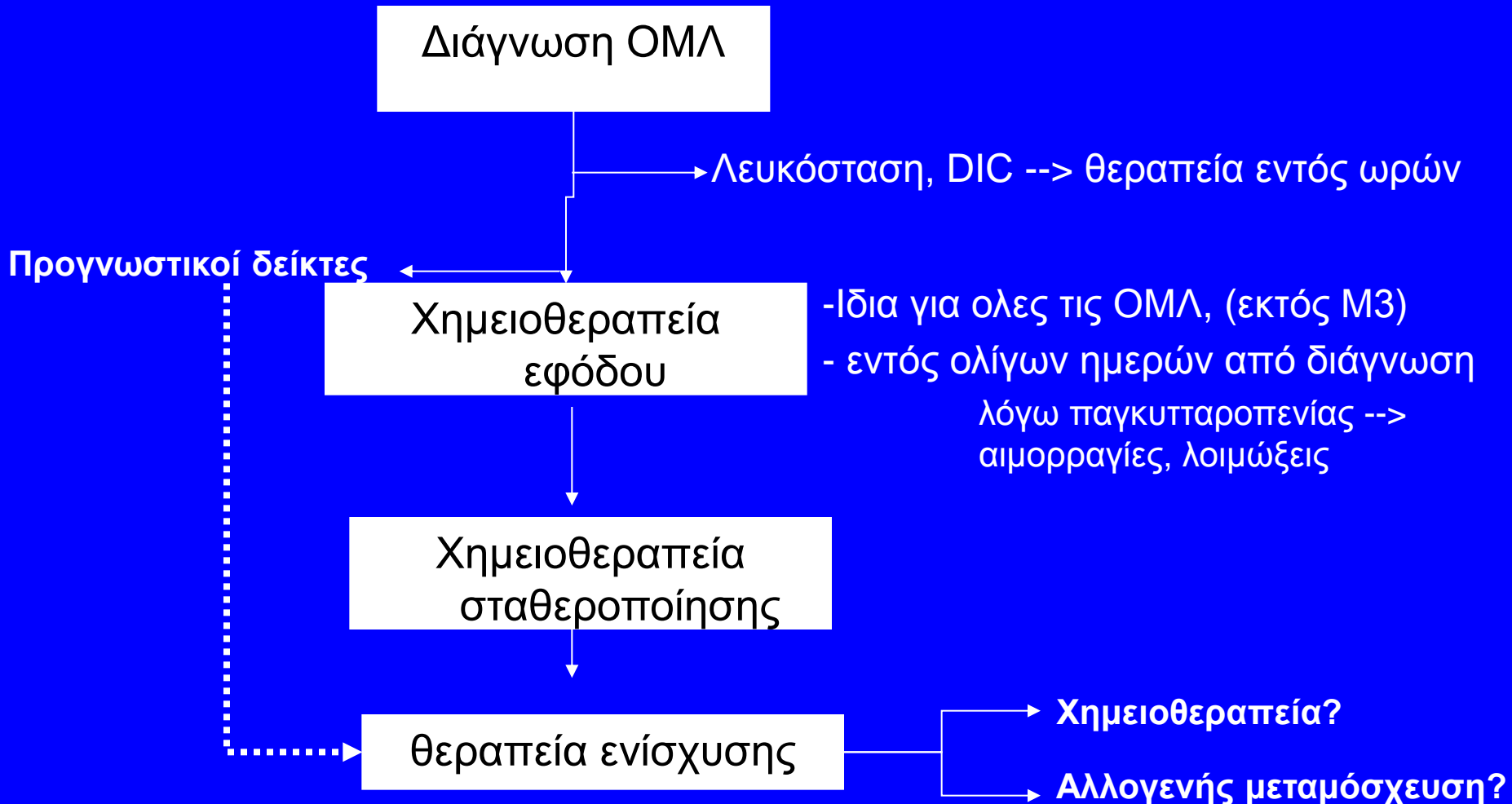
- >60 χρ
- δευτερογενής ΟΜΛ
- κακές κυτταρογενετικές "ανωμαλίες"

## Νέα Ταξινόμηση ΟΜΛ κατά WHO

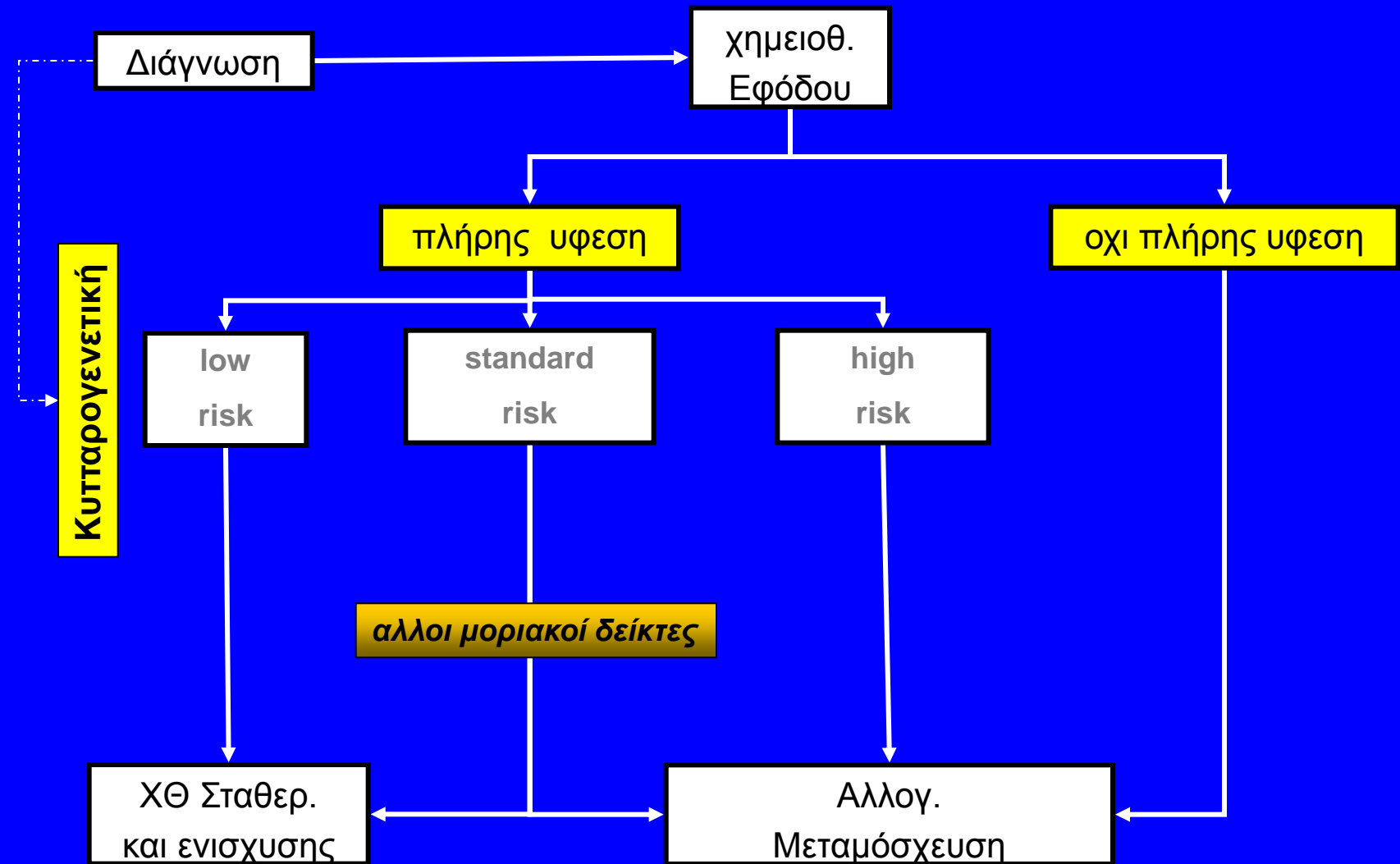
---

- με συγκεκριμένες κυτταρογενετικές ανωμαλίες
  - t8;21, inv 16 Core binding factor AML
  - t15;17 AML
- δευτερογενής AML
- ΟΜΛ ηλικιωμένων
- άλλες

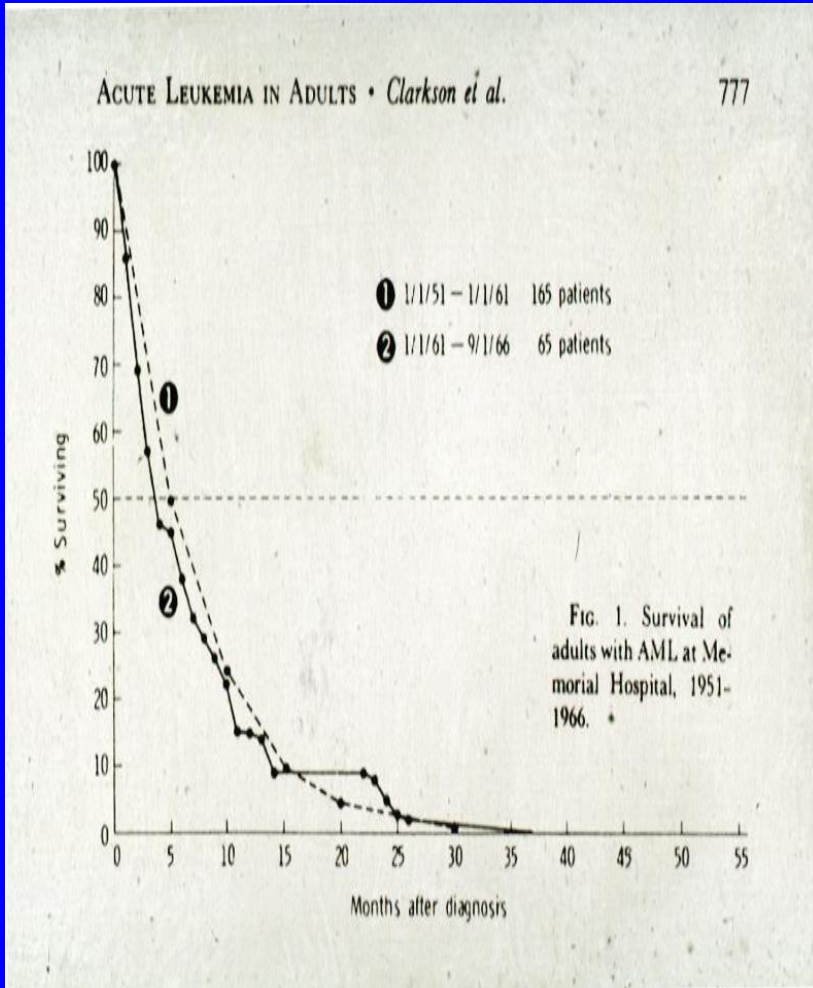
# Θεραπεία της ΟΜΛ



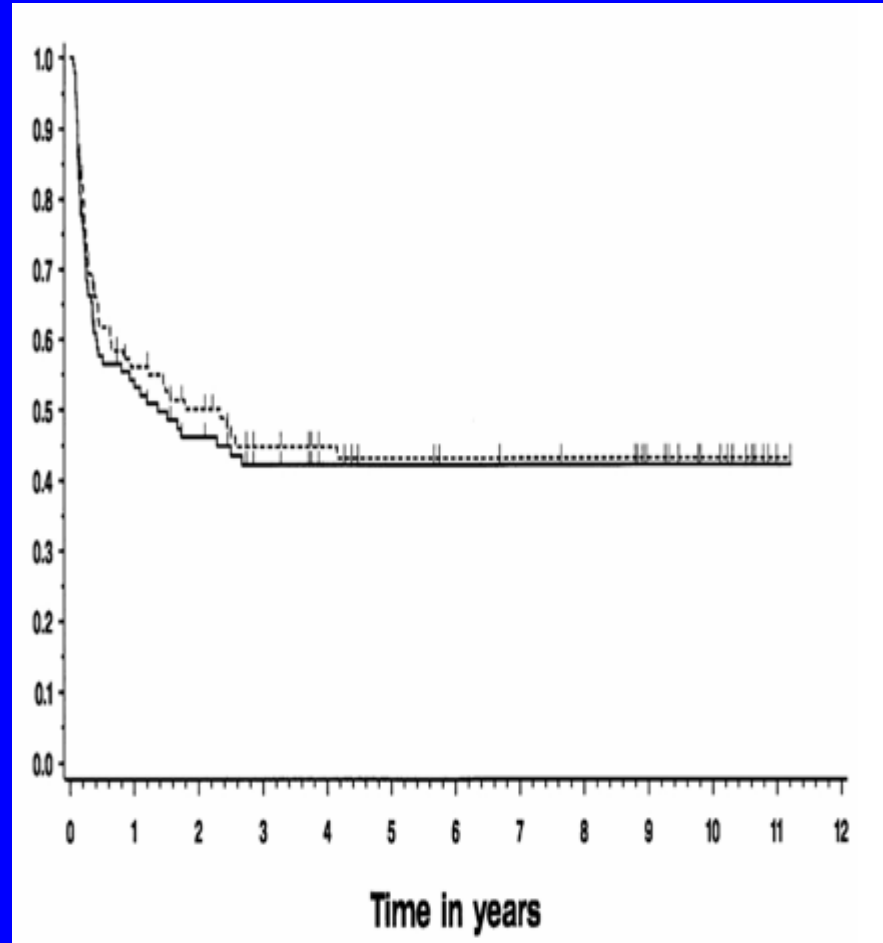
# Θεραπεία ΟΜΛ ανάλογα με τους προγνωστικούς δείκτες



στο παρελθόν



σήμερα



## ΟΜΛ..... στο μέλλον

---

- Καλύτερη μοριακή κατανόηση της νόσου

- Μείωση της τοξικότητας της θεραπείας

βελτίωση της υποστηρικτικής αγωγή (λοιμώξεις, αυξητικοί παράγοντες)

Βελτίωση ανοχής στην χημειοθεραπεία.

- Πιο αποτελεσματικές θεραπείες

κανούρια φάρμακα

Μείωση της φαρμακευτικής αντοχής

targeted therapy

μονοκλωνικά αντισωμάτα

Αναστολείς σημάτων επαγωγής

Farnesyl-transferase αναστολείς

Ρυθμιστές της απόπτωσης



## ΟΜΛ.....ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ.

---

- κάθε παγκυτταροπενία (με ή χωρίς λευκοκυττάρωση) πρέπει να ελέγχεται με εξέταση μυελού για τον αποκλεισμό μιας οξείας λευχαιμίας
- η ΟΜΛ θεωρείται πλέον δυνητικά ιάσιμη νόσος
- σημαντικότερος προγνωστικός δείκτης είναι η κυτταρογενετική ανωμαλία
- ασθενείς με κακούς προγνωστικούς δείκτες πρέπει να υποβάλλονται σε αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων

# Ιστορικό.....

---

Ανδρας 51 ετών, καταβολή, αδυναμία, ανορεξία, και ουλορραγίες από 10ημέρου.

Γ.Α. --> αναιμία, λευκοκυττάρωση και θρομβοπενία.

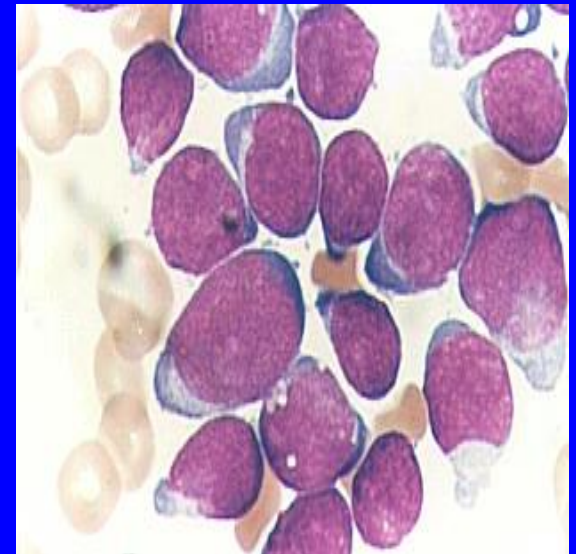
"Πλακάκι" --> Βλάστες

Μυελός --> 70% Βλάστες **χωρίς κοκκία,**  
Κυτταροχημεία **Μυελουπεροξειδάση αρνητική**

FACS: CD19+, Tdt+

Κυτταρογενετική t 9;22

Μοριακός έλεγχος (PCR) bcr-abl



**οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία**

# Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία

---

• Χρειάζεται άμεση θεραπεία (εντός ωρών)?

Λευκόσταση, DIC

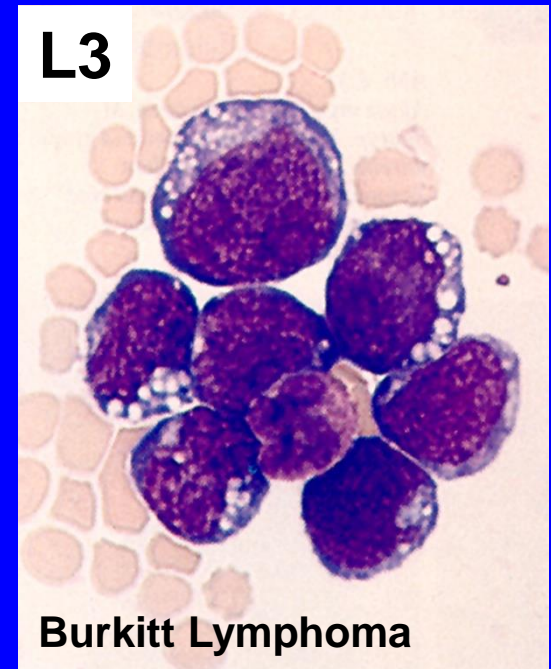
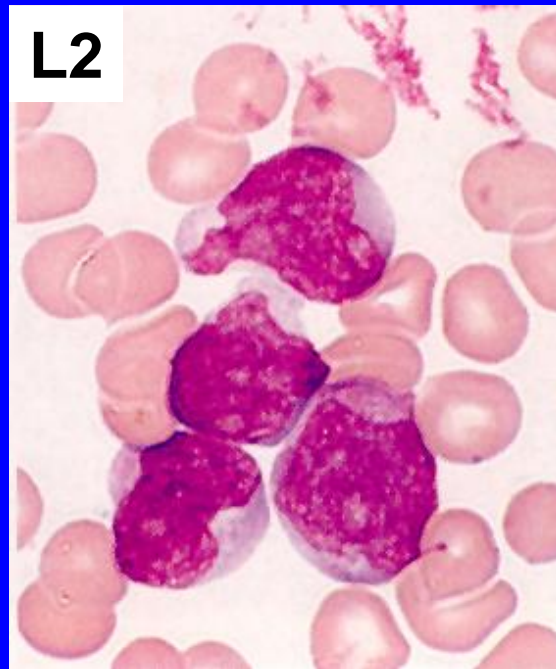
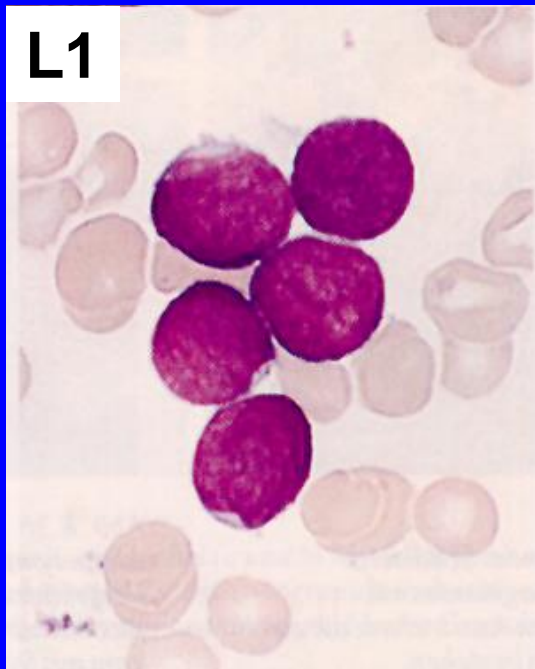
• Ποια είναι η θεραπεία?

• Ποιά είναι η πρόγνωση?

# Ταξινόμηση οξείων λεμφοβλαστικών λευχαιμιών

---

## Ανάλογα με την μορφολογία (FAB classification)



ταξινόμηση χωρίς προγνωστική σημασία

# Ανοσολογική Ταξινόμηση οξείων λεμφοβλαστικών λευχαιμιών

European Group for the Immunological Classification of ALL:, WHO

## Β ΟΛΛ

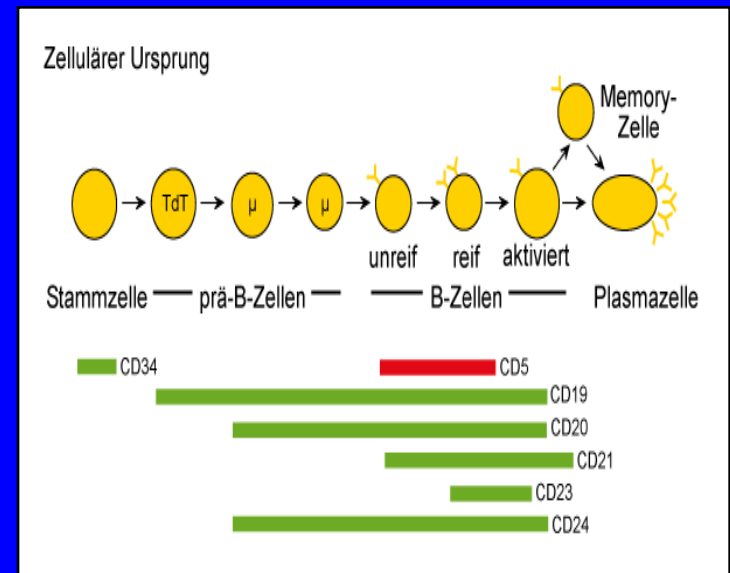
πρώιμη Β  
κοινή Β  
προ-Β  
ώριμη

κακή πρόγνωση

## Τ -ΟΛΛ

πρώιμη Τ ΟΛΛ  
θυμική Τ ΟΛΛ  
ωριμη Τ -ΟΛΛ

κακή πρόγνωση  
καλή πρόγνωση  
κακή πρόγνωση



## Ταξινόμηση οξείων λεμφοβλαστικών λευχαιμιών ανάλογα με ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗ

---

	Translocation	
<b>B-ALL</b>	t(9;22)(q34;q11)	πολύ κακή πρόγνωση
<b>B-ALL</b>	t(8;14)(q24;q32)	
	t(2;8) (q11;q24)	
	t(8;22)(q24;q11)	
<b>T-ALL</b>	t(8;14)(q24;q11)	
<b>B-ALL</b>	t(11;14)(q13;q32)	κακή πρόγνωση
<b>c-ALL</b>	t(14;18)(q21;q32)	
<b>T-ALL</b>	inv(14)(q11;q32)	
<b>T-ALL</b>	t(11;14)(q13;q32)	

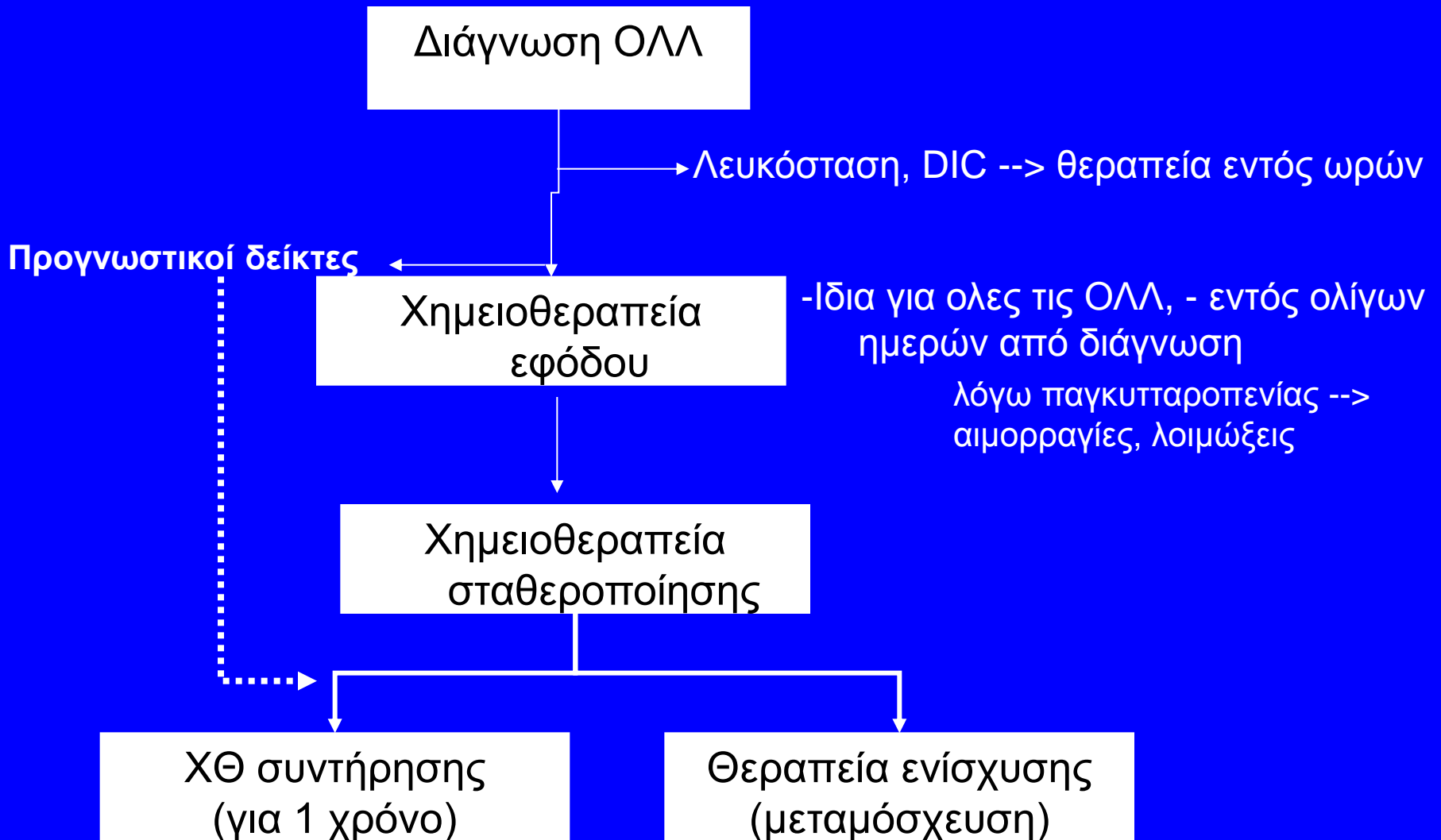
## Προγνωστικοί δείκτες ΟΜΛ

---

δεν υπάρχει ομοφωνία, στοιχεία ανάλογα με GMALL Study Group

- αριθμός λευκών αρχικά
- ανοσολογικός τύπος
- κυτταρογενετική

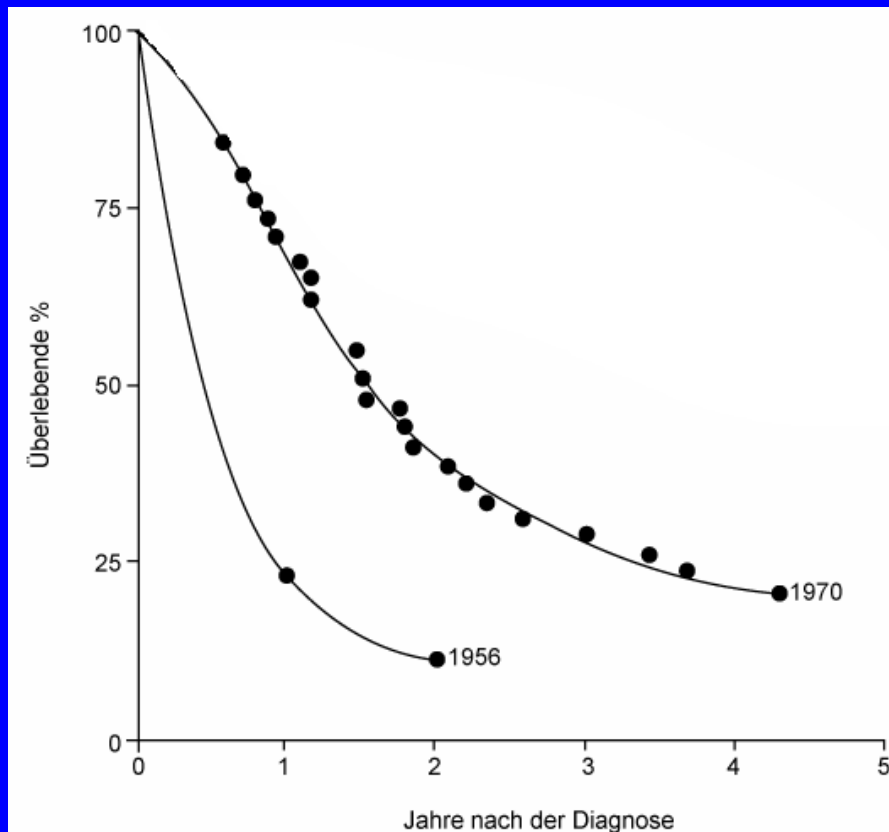
# Θεραπεία της ΟΛΛ



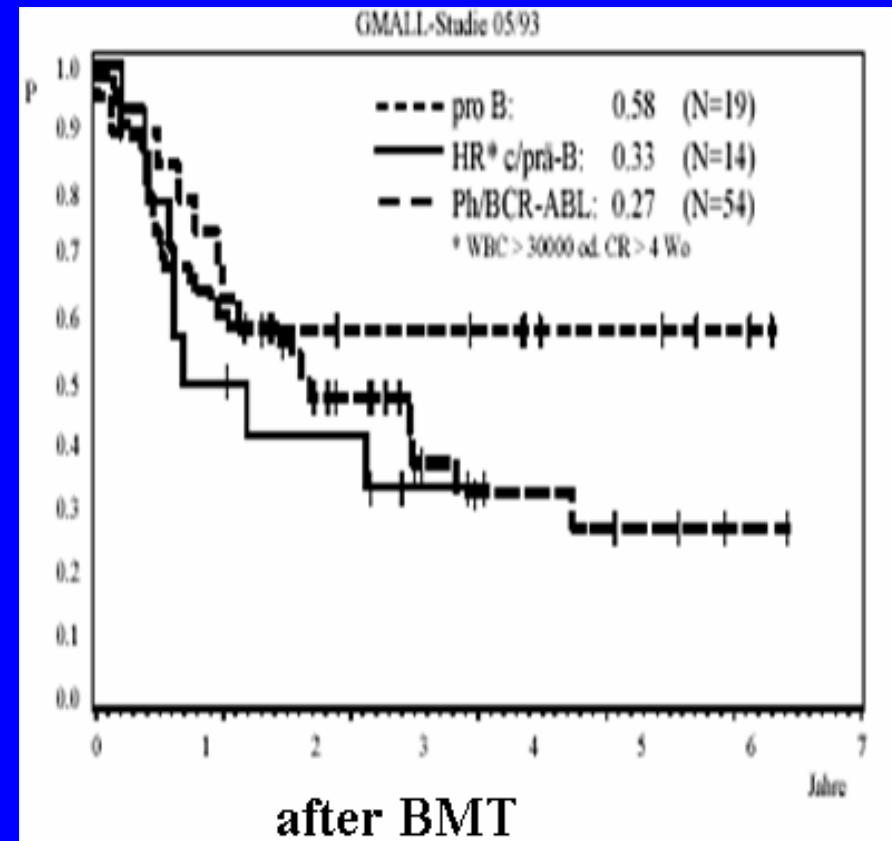


# Θεραπεία της ΟΛΛ

..... στο παρελθόν



..... τώρα



# Οξείες λευχαιμίες

---



# Ιστορικό

---

Ανδρας 51 ετών, καταβολή, αδυναμία, ανορεξία, και ουλορραγίες από 10ημέρου.

Γ.Α. --> αναιμία, λευκοκυττάρωση και θρομβοπενία.  
"Πλακάκι" --> Βλάστες  
Μυελός --> 70% Βλάστες με κοκκία,  
Κυτταροχημεία Μυελουπεροξειδάση θετ., **ΟΜΛ, FAB M2**  
FACS: CD33+  
Κυτταρογενετική t8;21 **low risk**  
Μοριακός έλεγχος (PCR) AML1-ETO

**ΧΘ εφόδου** λοίμωξη απο Pseudomonas, αιμμοραγίες  
ψυχολογική υποστήριξη  
επανασταδιοποίηση (μυελός) **πλήρης ύφεση**

**ΧΘ σταθεροποίησης** καμμία επιπλοκή

**ΧΘ ενίσχυσης** καμμία επιπλοκή  
επανασταδιοποίηση (μυελός) **πλήρης ύφεση**

παρακολούθηση αρχικά κάθε μήνα, μετά 3μηνο, έως και 5 χρόνια  
έλεγχος απώτερων επιπλοκών **ΧΘ** **ιαση**

## AML Epidemiology

- Risk factors:
  - Exposure to ionizing radiation
  - Chronic exposure to benzene
  - Cigarettes & second-hand smoke
  - Prior chemotherapy and/or radiation
- Incidence increases with age
- 90% of adult acute leukemias

## Incidence AML

