

2.4. Ostra białaczka limfoblastyczna i chłoniaki limfoblastyczne

Anna Czyż, Sebastian Giebel

2.4.1. Wprowadzenie

Do rozwoju ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) i chłoniaka limfoblastycznego (LBL, *lymphoblastic lymphoma*) dochodzi w wyniku transformacji nowotworowej komórki prekursorowej limfocytów. Oba te schorzenia — ALL/LBL — charakteryzują się klonalną proliferacją, zaburzeniem dojrzewania i kumulacją limfoblastów w szpiku kostnym, krwi obwodowej i innych narządach. Jeśli stopień nacieczenia szpiku jest niższy niż 20%, to zgodnie z klasyfikacją Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) chorobę definiuje się jako chłoniaka limfoblastycznego (obie choroby wg WHO są uważane za tę samą jednostkę chorobową) [1, 2].

2.4.2. Epidemiologia

Ostre białaczki limfoblastyczne są uznawane za białaczki wieku dziecięcego, ponieważ 80% wszystkich przypadków jest rozpoznawanych u dzieci, a tylko 20% u osób dorosłych, wśród których zachorowalność roczna wynosi 1–1,5 na 100 tys. populacji. Według danych pochodzących z rejestrów europejskich roczny wskaźnik zachorowalności na ALL i LBL u osób dorosłych wynosi 1,28 na 100 tys. populacji i wykazuje znaczne zróżnicowanie związane z wiekiem (odpowiednio: 0,53, 1,0 i 1,45 dla populacji w wieku 45–54 lat, 55–74 i 75–99) [3, 4].

2.4.3. Patogeneza

Przyczyny pojawienia się ALL nie są dotychczas do końca poznane. Do wielostopniowego procesu transformacji nowotworowej mogą się przyczyniać różne czynniki. Narażenie się na działanie niektórych substancji chemicznych, takich jak benzen, wcześniejsze leczenie cytotatykami lub kontakt z promieniowaniem jonizującym, zwiększa ryzyko wystąpienia białaczek. Wśród innych czynników, które mogą wpływać na ryzyko transformacji nowotworowej i wystąpienie ALL, wymienia się:

- czynniki genetyczne (< 5% ALL występuje w zespołach genetycznych, takich jak zespół Downa, zespół Klinefeltera, niedokrwistość Fanconiego czy zespół ataksja–teleangiektazja);
- zakażenia wirusowe — wykazano związek między zakażeniem wirusem Epsteina-Barr a ALL z dojrzałych komórek B, a także zakażeniem ludzkim wirusem białaczki T-komórkowej typu 1 a ALL/LBL z komórek prekursorowych limfocytów T;
- matczyne środowisko rozwoju płodu.

Ostra białaczka limfoblastyczna charakteryzuje się zaburzeniami genetycznymi, które hamują różnicowanie komórek prekursorowych limfocytów i sprzyjają ich proliferacji. Należą do nich tak zwane duże aberracje chromosomalne (m.in. translokacje, duże delecje itd.) oraz zmiany submikroskopowe, tj. aberracje typu zmiany liczby kopii fragmentów DNA ([CNA, *copy number alterations*], np. mikroinsercje, duplikacje, delecje) i substytucje pojedynczych nukleotydów (SNV, *single nucleotide variation*). Zdarzeniem inicjującym (tzw. pierwszym uderzeniem) mogą być takie aberracje strukturalne materiału genetycznego, które prowadzą do deregulacji genów — zwykle czynników transkrypcyjnych, receptorów cytokinowych, kinaz tyrozynowych lub modyfikatorów epigenetycznych, poprzez ich fuzję z innymi genami lub ich sekwencjami wzmacniającymi. Wtórne zaburzenie genomowe (tzw. drugie uderzenie), które przyczynia do progresji białaczki, wynika najczęściej z niestabilności genetycznej indukowanej przez pierwsze wydarzenie i może obejmować między innymi CNA (zwykle obejmujące geny czynników transkrypcyjnych limfocytów) i SNV.

2.4.4. Diagnostyka

2.4.4.1. Objawy podmiotowe i przedmiotowe

Najczęściej spotykane objawy w ALL, podobnie jak w ostrych białaczkach szpikowych (AML, *acute myeloid leukemia*), wiążą się przede wszystkim z nagromadzeniem się w szpiku i krwi komórek nowotworowych oraz wyparciem przez nie komórek dojrzałych, o prawidłowej morfologii, co prowadzi do niedokrwistości, neutropenii i małopłytkowości. Do najczęstszych objawów niewydolności hematopoezy należą:

- zakażenia z towarzyszącą gorączką spowodowane neutropenią oraz owrzodzenia neutropeniczne błony śluzowej jamy ustnej;
- objawy skazy małopłytkowej, takie jak wybroczyny, wylewy podskórne, krwawienia z nosa lub rzadziej z przewodu pokarmowego lub do ośrodkowego układu nerwowego (OUN);

— objawy niedotlenienia tkanek i narządów (takie jak osłabienie, nietolerancja wysiłku fizycznego, zmęczenie, kołatanie serca, duszność wysiłkowa lub spoczynkowa) spowodowane niedokrwistością.

W przebiegu ALL — częściej niż w AML — stwierdza się zajęcie tkanek i narządów pozaszpikowych, czyli węzłów chłonnych, wątroby, śledziony oraz OUN. Do objawów nacieczenia OUN należą: bóle i zawroty głowy, zaburzenia świadomości, wymioty, nudności, porażenia nerwów czaszkowych. W przebiegu ALL u mężczyzny może również dojść do zajęcia jąder.

Podobnie jak AML, ALL/LBL charakteryzują nagły początek i szybki przebieg. Nielezione prowadzą do śmierci już w ciągu kilku-, kilkunastu tygodni.

2.4.4.2. Badania laboratoryjne i obrazowe

Ustalenie rozpoznania wstępnego, określenie podtypu oraz stopnia zaawansowania choroby jest oparte na podstawowych i wysokospecjalistycznych badaniach laboratoryjnych i obrazowych przedstawionych w tabeli 2.4.1 [3].

Pierwszym etapem postępowania diagnostycznego jest ocena cytomorfologiczna szpiku. Obecność 20% limfoblastów w szpiku pozostaje podstawowym kryterium rozpoznania ALL. Należy jednak pamiętać o ograniczeniach oceny morfologicznej szpiku, której niezbędnym uzupełnieniem w ALL jest ocena szpiku metodą wieloparametrowej cytometrii przepływowej (MFC, *multiparameter flow cytometry*). Zastosowanie MFC jest niezbędne w diagnostyce ALL, ponieważ na podstawie wyników badania immunofenotypu komórek białaczkowych identyfikuje się linię komórkową, do której należą blasty, ustala się podtyp immunologiczny choroby (tab. 2.4.2) [5] oraz określa immunofenotyp związany z białaczką (LAIP, *leukemia associated immunophenotype*). Identyfikacja LAIP przed rozpoczęciem leczenia jest konieczna do monitorowania choroby resztkowej (MRD, *minimal residual disease*) metodą MFC po uzyskaniu remisji całkowitej (CR, *complete remission*). Należy podkreślić, że morfologia komórek białaczkowych we krwi i w szpiku może istotnie się różnić, dlatego ocena szpiku jest niezbędna do ustalenia ostatecznego rozpoznania ALL.

Przed rozpoczęciem leczenia należy również: wykonać badania biochemiczne w celu oceny czynności wątroby i nerek, oznaczyć aktywność dehydrogenazy mleczanowej, stężenia glukozy, kwasu moczowego, elektrolitów, przeprowadzić badania układu krzepnięcia oraz określić grupę krwi chorego. Niezbędne jest także wykonanie badań w kierunku obecności infekcji wirusowych, przede wszystkim wirusowego zapalenia wątroby typu B i C oraz infekcji ludzkim wirusem nabytego niedoboru odporności (HIV, *human immunodeficiency virus*).

2.4.4.3. Patomorfologia i biologia molekularna

Ocena morfologiczna i immunofenotypowa szpiku w zdecydowanej większości przypadków pozwala na ostateczne ustalenie rozpoznania ALL. Badanie histopatologiczne szpiku pobranego metodą trepanobiopsji wykonuje się u chorych na ALL/LBL, jeśli nie można uzyskać szpiku przy użyciu biopsji aspiracyjnej, a także u chorych na LBL w celu oceny stopnia nacieczenia szpiku. U chorych z podejrzeniem LBL w celu ustalenia osta-

Tabela 2.4.1. Badania diagnostyczne niezbędne do ustalenia rozpoznania ostrej białaczki limfoblastycznej/chłoniaka limfoblastycznego oraz oceny zajęcia narządów limfatycznych i pozalimfatycznych według wytycznych *European Society of Medical Oncology* (na podstawie [3])

Badanie diagnostyczne	Nieprawidłowości	Kategoria zaleceń do wykonania badania
Morfologia i rozmaz krwi z oceną mikroskopową	Leukocytoza lub leukopenia Cytopenie Obecność komórek blastycznych	Obligatoryjne
Ocena cytologiczna rozmazu szpiku	Obecność $\geq 20\%$ limfoblastów	Obligatoryjne
Ocena immunofenotypowa: — MPO — markery linii B: CD19, CD79a, cCD22, TdT, CD10, CD20, CD24, cIgM, sIg (kap-pa lub lambda) — markery linii T: cCD3, TdT, CD1a, CD2, CD5, CD7, CD4, CD8, TCR α/β , TCR γ/δ — markery komórek macierzystych i komórek mieloidalnych: CD34, CD13, CD33, CD117	MPO(–) Markery linii B lub T na $> 20\%$ komórek prekursorowych (CD3, CD79a $> 10\%$) Fenotyp prekursorów B Fenotyp prekursorów T Fenotyp ETP	Obligatoryjne
Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego: — ocena morfologiczna — ocena immunofenotypowa	Cechy zajęcia OUN	Obligatoryjne
RTG klatki piersiowej i/lub CT klatki piersiowej	Poszerzenie śródpiersia	Obligatoryjne
USG jamy brzusznej i/lub CT jamy brzusznej	Hepatomegalia Splenomegalia Powiększenie węzłów chłonnych w jamie brzusznej	Obligatoryjne
Rezonans magnetyczny głowy	Cechy zajęcia OUN	Celowe w przypadku objawów neurologicznych

OUN — ośrodkowy układ nerwowy; RTG — badanie radiologiczne; CT (*computed tomography*) — tomografia komputerowa; USG — badanie ultrasonograficzne; ETP (*early T-cell precursors*) — wczesne prekursory limfocytów T

tecznego rozpoznania niezbędne jest badanie histopatologiczne z oceną immunohistochemiczną węzła chłonnego lub innej zajętej tkanki pobranej chirurgicznie.

Kolejny ważny etap diagnostyczny stanowią badania cytogenetyczne i molekularne, które pozwalają na ustalenie podtypu genetycznego choroby według WHO oraz dostarczają informacji o znaczeniu prognostycznym. Badania cytogenetyczne wykonuje się w celu ustalenia podtypu ALL/LBL z powtarzalnymi nieprawidłowościami chromosomalnymi o znaczeniu rokowniczym (tab. 2.4.3). Zaburzenia kariotypu mogą dotyczyć nieprawidłowości zarówno liczbowych, jak i strukturalnych chromosomów. Wyróżnia się siedem

Tabela 2.4.2. Podział immunologiczny ostrych białaczek limfoblastycznych (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) (na podstawie [5])

Podtyp immunologiczny	Ekspresja antygenów*
ALL z prekursorów limfocytów B	
Pro-B ALL (B-I/pre-pre-B-ALL)	CD19+, cCD79a+, cCD22+
<i>Common</i> ALL (B-II)	CD19+, cCD79a+, cCD22+, CD10+, cIgM-
Pre-B ALL (B-III)	CD19+, cCD79a+, cCD22+, cIg+, sIg-
Fenotyp dojrzałych komórek B (B-IV)	CD19+, cCD79a+, cCD22+, sIg+
ALL z prekursorów limfocytów T	
Pro-T	cCD3+, CD7+
Pre-T ALL	cCD3+, CD7+, CD2+ i/lub CD5+
Tymocytowa (korowa) ALL	cCD3+, CD7+, CD2+, CD5+, CD1a+
Fenotyp dojrzałych komórek T	sCD3+, CD7+, CD2+, CD5+, CD1a-
Fenotyp ETP	Kryteria: CD7+, CD1-, CD8-, ≥ 1 marker komórek macierzystych lub mieloidalnych (CD34, CD117, DR, CD13, CD33, CD11b, CD65) Dodatkowo: zwykle cCD3+, CD2+ CD5-

*c — cytoplazmatyczna, s — powierzchniowa; ETP (*early T-cell precursors*) — wczesne prekursorzy limfocytów T

Tabela 2.4.3. Badania cytogenetyczne i molekularne niezbędne do ustalenia podtypu ostrych białaczek limfoblastycznych (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z powtarzalnymi nieprawidłowościami genetycznymi

Badanie diagnostyczne	Podtyp ALL	Kategoria zaleceń do wykonania badania
Badania cytogenetyczne/ /FISH/ /RT-PCR	ALL z obecnością niekorzystnych czynników rokowniczych: — z obecnością chromosomu Ph/ <i>BCR-ABL1</i> — z t(v;11q23); rearanżacją <i>KMT2A</i> (poprzednio <i>MLL</i>) — z t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i> — inne zaburzenia cytogenetyczne związane z wysokim ryzykiem (hipodiploidia, t(8;14), del(6q), del7(p), del17(p), -7, +8, złożone zaburzenia (≥ 5 klonalnych nieprawidłowości))	Obligatoryjne
CGH/ /SNP/ /GEP/ /NGS	ALL z obecnością niekorzystnych czynników rokowniczych: — ALL typu <i>BCR-ABL1-like</i> — ETP ALL — aberracje <i>IKZF1</i> , <i>CLRF2</i> , <i>MLL</i> , <i>TP53</i> , <i>CREBBP</i> , <i>RAS</i> — T-ALL z zaburzeniami <i>NOTCH/FBW7-unmutated/RAS/PTEN</i>	Rekomendowane w badaniach klinicznych

FISH (*fluorescence in situ hybridization*) — fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*; RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*) — reakcja łańcuchowa polimerazy poprzedzonej odwrotną transkrypcją; Ph (*Philadelphia*) — Filadelfia; CGH (*comparative genomic hybridization*) — hybrydyzacja genomowa do mikromacierzy; SNP (*single nucleotide polymorphism*) — ocena polimorfizmów pojedynczych nukleotydów; GEP (*gene expression profiling*) — oznaczenie ekspresji określonych genów; NGS (*next generation sequencing*) — sekwencjonowanie nowej generacji; ETP (*early T-cell precursors*) — wczesne prekursorzy limfocytów T; T-ALL (*T-cell acute lymphoblastic leukemia*) — T-komórkowa ostra białaczka limfoblastyczna

podtypów genetycznych B-komórkowej ostrej białaczki limfoblastycznej (B-ALL, *B-cell acute lymphoblastic leukemia*), które charakteryzują się nieprawidłowościami chromosomalnymi: aneuploidią (utrata lub nadmiarem całych chromosomów) lub określonymi w klasyfikacji WHO rearanżacjami chromosomów. Klasyczne badania cytogenetyczne są przydatne w identyfikacji powtarzalnych translokacji i zaburzeń związanych z utratą lub nadmiarem większej ilości materiału chromosomalnego. Głównym ograniczeniem tej techniki pozostaje trudność w uzyskaniu metafaz podziałów komórek białaczkowych. Badanie metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH, *fluorescence in situ hybridization*) pozwala na celowaną detekcję i wizualizację wybranych zaburzeń chromosomalnych według klasyfikacji WHO, także w przypadku braku metafaz. Czułość diagnostyczna tej metody w ALL sięga 99%.

Do najnowszych technik, które znajdują zastosowanie w diagnostyce ALL, należą macierze porównawczej hybrydyzacji genomowej (a-CGH, *array comparative genomic hybridization*), wysokoprzepustowe metody oceny polifomorfizmów pojedynczych nukleotydów, sekwencjonowanie nowej generacji (NGS, *next-generation sequencing*), a także macierze ekspresji genów. Metody te pozwalają na identyfikację submikroskopowych rearanżacji genomowych, które nie są wykrywalne konwencjonalnymi metodami cytogenetycznymi. Udowodniono, że zmiany te mogą istotnie wpływać na rokowanie i przeżycie chorych na ALL. Wykrycie tych zaburzeń i ich znaczenia rokowniczego doprowadziło do rozszerzenia klasyfikacji WHO o dwa nowe podtypy genetyczne B-ALL: *BCR-ABL1-like* oraz B-ALL z wewnątrzchromosomową amplifikacją chromosomu 21 (*iAMP21, Intrachromosomal amplification of chromosome 21*).

Zastosowanie technik biologii molekularnej umożliwia również wykrycie charakterystycznych dla nowotworu klonalnych rearanżacji genów łańcuchów immunoglobulin (Ig) lub receptora komórek T (TCR, *T-cell receptor*). Wykrycie tych rearanżacji może służyć monitorowaniu MRD w okresie leczenia poremisyjnego, podobnie jak badanie immunofenotypu metodą MFC. Czułość metod biologii molekularnej w ocenie MRD jest wyższa niż czułość MFC.

2.4.4.4. Kryteria rozpoznania i różnicowania

Rozpoznanie ALL/LBL opiera się na stwierdzeniu obecności nacieku limfoblastów w szpiku, krwi lub narządach i tkankach pozaszpikowych. Do ustalenia rozpoznania ALL niezbędne jest stwierdzenie obecności 20% lub więcej limfoblastów w szpiku. Jeśli stopień nacieczenia szpiku jest niższy niż 20%, to zgodnie z klasyfikacją WHO chorobę definiuje się jako chłoniaka limfoblastycznego. Ocena immunofenotypu metodą MFC umożliwia określenie pochodzenia limfoblastów oraz identyfikację nieprawidłowego immunofenotypu związanego z białaczką. Badania cytogenetyczno-molekularne służą określeniu podtypu choroby z powtarzalnymi nieprawidłowościami genetycznymi, w szczególności z obecnością chromosomu Filadelfia (Ph, *Philadelphia*) i/lub genu fuzyjnego *BCR/ABL1*.

Ostrą białaczkę limfoblastyczną należy różnicować z ostrą białaczką szpikową, przewlekłą białaczką limfocytową i postaciami białaczkowymi innych chłoniaków nie-Hodgkina. Służą temu badania cytomorfologiczne i immunofenotypowe szpiku i/lub krwi. Chłoniak limfoblastyczny wymaga różnicowania z innymi agresywnymi chłoniakami.

Niezbędne w tym celu jest badanie histopatologiczne z oceną immunohistochemiczną pobranych tkanek, najczęściej węzłów chłonnych.

Zgodnie z klasyfikacją WHO z 2016 roku [1, 2] wyróżnia się następujące podtypy ALL/LBL:

- B-ALL/LBL inaczej niesklasyfikowaną (NOS, *not otherwise specified*);
- B-ALL/LBL z powtarzalnymi zaburzeniami genetycznymi:
 - z t(9;22)(q34;q11.2);BCR-ABL1,
 - z t(v;11q23); rearanżacją *KMT2A* (poprzednio *MLL*),
 - z t(12;21)(p13;q22.1); *TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)*,
 - z hiperdiploidią,
 - z hipodiploidią,
 - z t(15;14)(q31.1;q32.1); *IL3-IGH*,
 - z t(1;19)(q23;p13.3); *TCF3-PBX1*,
 - B-ALL, *BCR-ABL1-like* (nowy tymczasowy podtyp wg uaktualnionej klasyfikacji WHO z 2016 roku),
 - B-ALL z *iAMP21* (nowy tymczasowy podtyp wg uaktualnionej klasyfikacji WHO z 2016 roku);
- T-komórkową ostrą białaczkę limfoblastyczną (T-ALL, *T-cell acute lymphoblastic leukemia*)/LBL:
 - białaczkę limfoblastyczną z wczesnych prekursorów limfocytów T (nowy tymczasowy podtyp),
 - białaczkę limfoblastyczną/chłoniak limfoblastyczny z komórek NK (nowy tymczasowy podtyp).

2.4.4.5. Określenie stopnia zaawansowania

Do oceny stopnia zaawansowania LBL stosuje się klasyfikację z Lugano (zmodyfikowana klasyfikacja z Ann Arbor). Dla ALL nie stosuje się stopniowania zaawansowania.

2.4.4.6. Czynniki predykcyjne i prognostyczne

Kryteria stratyfikacji ryzyka w ALL odzwierciedlają kliniczną, prognostyczną i biologiczną heterogenność tej choroby. Ocena ryzyka determinuje, których chorych należy poddać intensywniejszemu leczeniu z zastosowaniem przeszczepienia krwiotwórczych komórek krwiotwórczych (HSCT, *hematopoietic stem cell transplantation*). Klasyczne wyjściowe czynniki ryzyka obejmują: starszy wiek chorego, wysoką leukocytozę, niekorzystny immunofenotyp oraz niekorzystne zaburzenia genetyczne i cytogenetyczne (tab. 2.4.3). Jednak najsilniejszym, niezależnym czynnikiem ryzyka wznowy choroby, powszechnie uznanym za wskazanie do przeszczepienia allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT, *allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*), jest obecność minimalnej choroby resztkowej po uzyskaniu CR [3, 6–8]. Podobnie niezależnym niekorzystnym czynnikiem rokowniczym jest brak remisji hematologicznej po pierwszym cyklu leczenia indukującego. Monitorowanie MRD metodą MFC lub metodami molekularnymi jest konieczne u wszystkich chorych na ALL po uzyskaniu CR [3, 6–8].

Inne wyjściowe czynniki ryzyka, niezależne od uzyskanej odpowiedzi na leczenie, takie jak wysoka leukocytoza, niekorzystne zaburzenia genetyczne lub niekorzystny immunofenotyp blastów, mogą być uznane za wskazanie do allo-HSCT zgodnie z doświadczeniem i praktyką ośrodków leczących i/lub grup badawczych [3, 7].

Zgodnie z protokołem terapeutycznym Polskiej Grupy ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych (PALG, *Polish Adult Leukemia Group*) ALL7 do niekorzystnych czynników prognostycznych, których obecność stanowi wskazanie do przeprowadzenia allo-HSCT w pierwszej remisji, należą:

- MRD oceniana metodą MFC równa lub wyższa niż 0,1% po indukcji remisji;
- MRD oceniana metodą MFC równa lub wyższa niż 0,01% w trakcie i/lub po konsolidacji remisji;
- brak remisji po pierwszej indukcji remisji lub wznowa po leczeniu lub w jego trakcie;
- zajęcie OUN w przebiegu ALL;
- t(4;11)/ rearanżacja *MLL*;
- wyjściowa leukocytoza powyżej 30 G/l w ALL z prekursorów B-komórkowych i powyżej 100 G/l w ALL z prekursorów T-komórkowych.

Obecność t(9;22)/genu fuzyjnego *BCR-ABL1* uznaje się za niezależny czynnik bardzo wysokiego ryzyka i wskazanie do przeprowadzenia allo-HSCT w pierwszej remisji choroby, niezależnie od MRD. Chorzy, u których nie stwierdza się żadnego z wymienionych niekorzystnych czynników prognostycznych, są stratyfikowani do grupy ryzyka standardowego.

2.4.5. Leczenie

Leczenie ALL/LBL ma charakter radykalny i jest prowadzone z intencją wyleczenia chorego. Wybór schematu terapeutycznego głównie determinują obecność lub brak genu fuzyjnego *BCR-ABL1*/t(9;22) oraz wiek chorego. Ze względu na brak randomizowanych badań w tej stosunkowo rzadkiej chorobie u dorosłych nie istnieją powszechnie przyjęte standardy chemioterapii, a w poszczególnych krajach stosuje się protokoły terapeutyczne wypracowane przez wieloośrodkowe grupy badawcze. W Europie i na świecie przeprowadza się dwa typy programów chemioterapii: wielolekowe schematy wzorowane na protokołach pediatrycznych oraz program hyper-CVAD (IIA) [3, 9]. W protokołach podobnych do pediatrycznych leczenie opiera się na wielolekowej chemioterapii, która jest podzielona na 4 fazy: fazę przedleczenia, leczenie indukujące, konsolidujące i podtrzymujące remisję. Leczenie według programu hyper-CVAD polega na naprzemiennym podawaniu dwóch bloków chemioterapii: bloku A złożonego z dużych frakcjonowanych dawek cyklofosfamidu i dodatkowo winkrystyny, doksorubicyny i deksametazonu oraz bloku B złożonego z dużych dawek metotreksatu i dużych dawek arabinozydu cytozyny [9]. Leczenie hyper-CVAD wywiera silniejszy efekt mielosupresyjny i wiąże się z wyższym ryzykiem gorączki neutropenicznej, powikłań infekcyjnych, a także późnych powikłań, takich jak niepłodność, kardiomiopatia i wtórne nowotwory. Natomiast po leczeniu opartym na protokołach pediatrycznych częściej obserwuje się działania niepożądane charakterystyczne dla asparaginazy, takie jak toksyczność wątrobowa, zapalenie trzustki i powikłania zakrzepowo-zatorowe.

U chorych ze standardowym ryzykiem przez co najmniej 2 lata prowadzi się leczenie podtrzymujące remisję (IIA). W tej grupie można również rozważyć wykonanie przeszczepienia autologicznych krwiotwórczych komórek macierzystych (auto-HSCT, *autologous hematopoietic stem cell transplantation*) (IIIB) [3].

U pacjentów, u których stwierdza się ekspresję CD20 na co najmniej 20% blastów, równoległe do leczenia chemioterapią w trakcie indukcji, konsolidacji i leczenia podtrzymującego stosuje się również rytuksymab (IA) [10]. Skojarzone leczenie chemioterapią z rytuksymabem prowadzi do znamiennego zmniejszenia ryzyka nawrotu choroby i poprawy przeżycia wolnego od zdarzeń niepożądanych.

W leczeniu chorych na ALL z obecnością chromosomu Filadelfia/genu *BCR-ABL1* (ALL-Ph+) kluczowe jest stosowanie inhibitora kinaz tyrozynowych (TKI, *tyrosine kinase inhibitor*) [3]. Leczenie TKI jest kojarzone z chemioterapią o zredukowanej intensywności (IIA). Po uzyskaniu remisji należy jak najszybciej przeprowadzić allo-HSCT. Po transplantacji konieczne jest częste monitorowanie MRD [11]. W przypadku wykrycia transkryptu *BCR-ABL1* należy rozpocząć leczenie wyprzedzające TKI, optymalnie na podstawie analizy mutacji *BCR-ABL1*. Alternatywnie u wszystkich chorych po transplantacji można prowadzić leczenie podtrzymujące remisję z użyciem TKI, niezależnie do statusu MRD. U starszych chorych, u których nie jest możliwe przeprowadzenie HSCT, stosuje się przewlekłe TKI w leczeniu podtrzymującym remisję. U chorych, u których stwierdza się ekspresję CD20 na co najmniej 20% blastów, równoległe do leczenia chemioterapią i TKI w trakcie indukcji, konsolidacji i leczenia podtrzymującego również stosuje się rytuksymab (IA).

W ALL/LBL u wszystkich chorych równoległe do leczenia systemowego prowadzi się dokanałową profilaktykę zajęcia OUN (IIA).

U chorych, u których występują niekorzystne czynniki prognostyczne związane z wysokim ryzykiem nawrotu choroby po leczeniu konsolidującym, przeprowadza się allo-HSCT (IIA) [3, 7]. U pacjentów obciążonych ryzykiem standardowym przez co najmniej 2 lata prowadzi się leczenie podtrzymujące remisję (IIA) [3, 7]. W tej grupie można również rozważyć auto-HSCT (IIIB) [3, 7].

Ze względu na jego złożoność, intensywność i ryzyko powikłań leczenie ALL/LBL powinno być prowadzone w wysokospecjalistycznych ośrodkach hematologicznych, ściśle współpracujących z ośrodkami/oddziałami transplantacyjnymi. W Polsce leczenie jest koordynowane przez PALG, która opracowuje i uaktualniana protokoły lecznicze. Leczenie według protokołu PALG u chorych na ALL Ph(-) wzoruje się na protokołach pediatrycznych. W leczeniu chorych na ALL Ph(+) kluczowe jest stosowanie TKI i utrzymywanie dawki imatynibu stosowanego w leczeniu pierwszej linii. Intensywność chemioterapii jest istotnie zmniejszona w porównaniu z leczeniem ALL Ph(-) [12–14]. U pacjentów, u których stwierdza się ekspresję CD20 na co najmniej 20% blastów, równoległe do leczenia TKI i chemioterapii w trakcie indukcji stosuje się również rytuksymab, podobnie jak w postaciach ALL Ph(-) [10].

2.4.5.1. Leczenie pierwszej linii w ALL bez obecności genu fuzyjnego *BCR-ABL1*

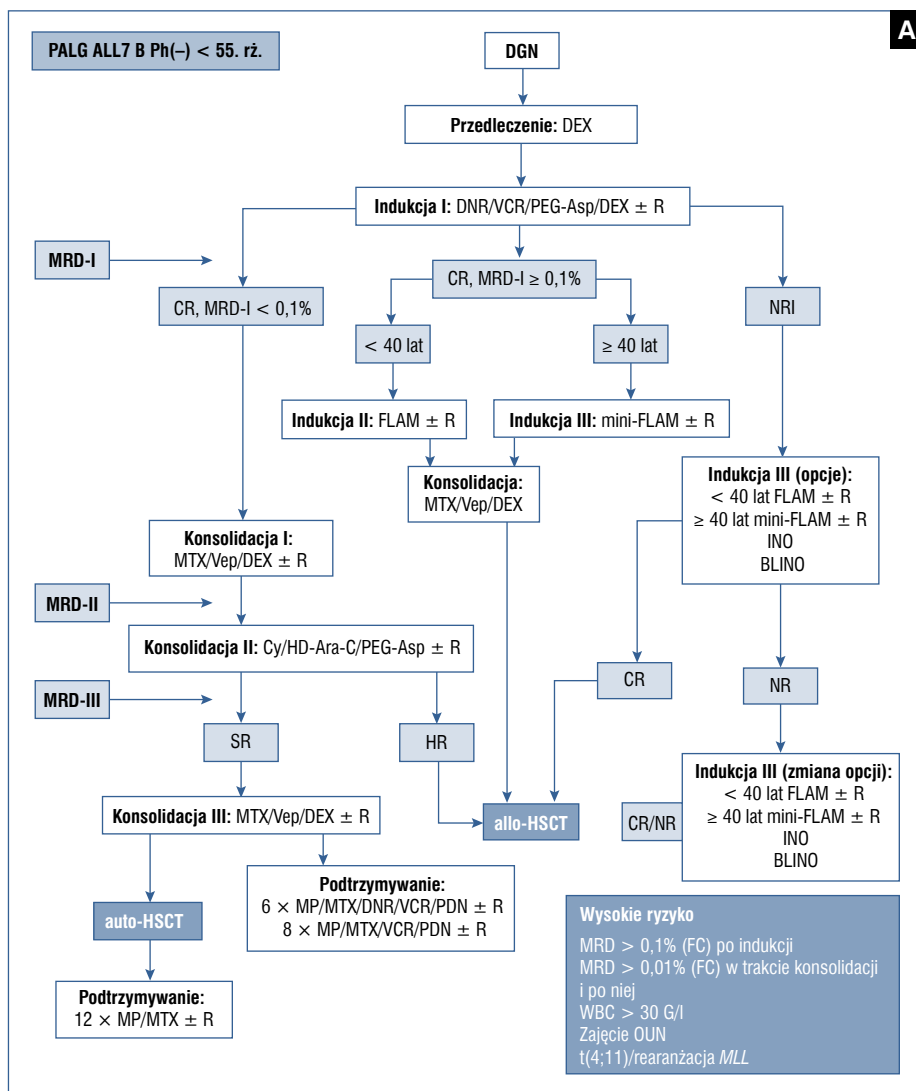
2.4.5.1.1. Faza przedleczenia i indukcja remisji

Dwa pierwsze ściśle związane czasowo ze sobą etapy leczenia to faza przedleczenia i indukcja remisji. Celem stosowania przedleczenia jest redukcja masy guza i zmniejszenie ryzyka wystąpienia zespołu lizy guza w czasie leczenia indukującego. Faza przedleczenia trwa 5–7 dni i polega na stosowaniu kortykosteroidu, najczęściej prednizonu lub deksametazonu. Do leczenia kortykosteroidem można dołączyć cyklofosamid lub etopozyd. W tym okresie, podobnie jak w czasie indukcji remisji, niezbędne jest intensywne nawadnianie chorego i stosowanie allopurinolu lub rasburykazy. Po zmniejszeniu masy guza rozpoczyna się leczenie indukujące remisję, którego celem jest uzyskanie całkowitej remisji hematologicznej, optymalnie z ujemną, czyli niewykrywalną dostępnymi metodami, MRD.

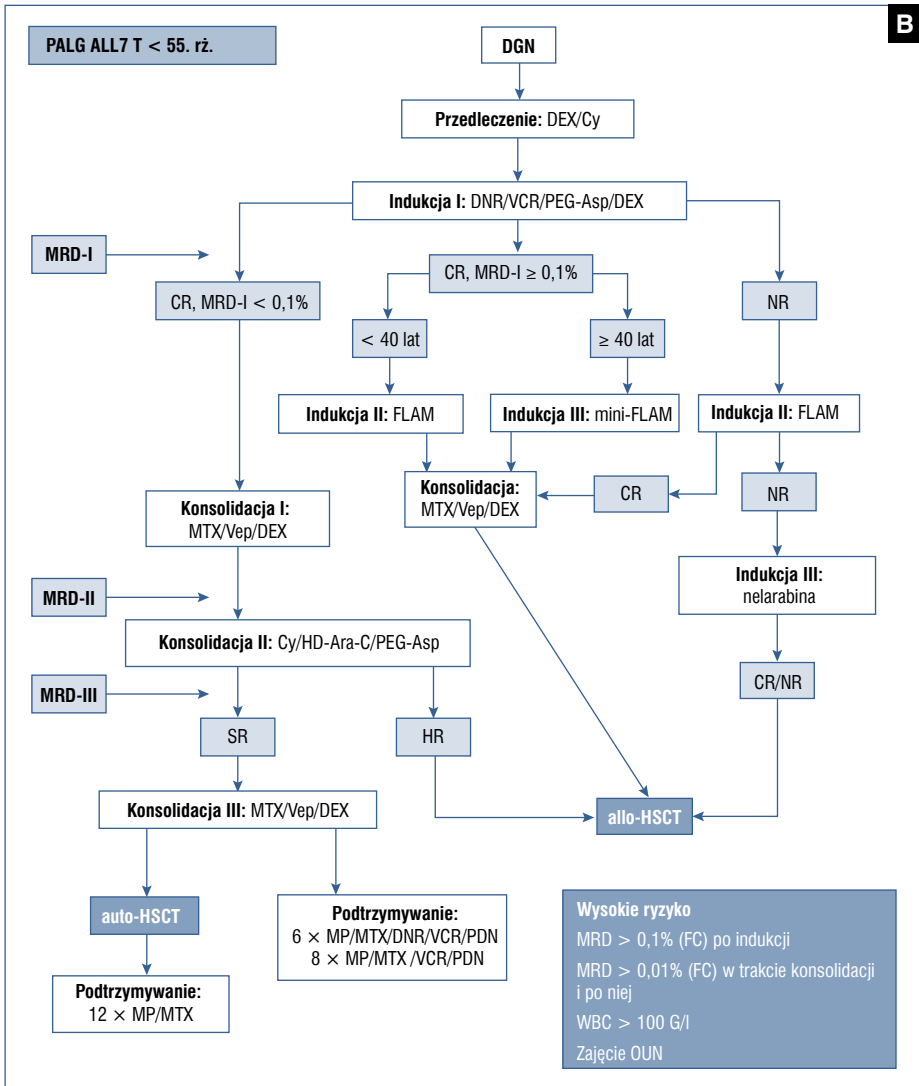
Do podstawowych leków stosowanych w indukcji zalicza się: kortykosteroid (najczęściej deksametazon pulsacyjnie lub prednizon *à la longue*), winkrystynę, antracyklinę i L-asparaginazę w postaci natywnej lub pegylowanej. W protokołach niektórych grup badawczych wymienione leki kojarzy się dodatkowo z cyklofosamidem. W trakcie polichemioterapii niezbędne jest intensywne leczenie wspomagające, w tym konsekwentne podawanie czynnika wzrostu kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*) w odpowiednich interwałach między stosowaniem cytostatyków w celu utrzymania zaplanowanej gęstości dawki. Konieczne jest również profilaktyczne leczenie przeciwinfekcyjne.

Schemat ideowy leczenia indukującego remisję według protokołu PALG stosowany u chorych na ALL Ph(–) w wieku do 55 lat przedstawiono na rycinie 2.4.1, a u pacjentów powyżej 55 lat — na rycinie 2.4.2. Szczegóły protokołu PALG zaprezentowano w tabelach 2.4.4 i 2.4.5.

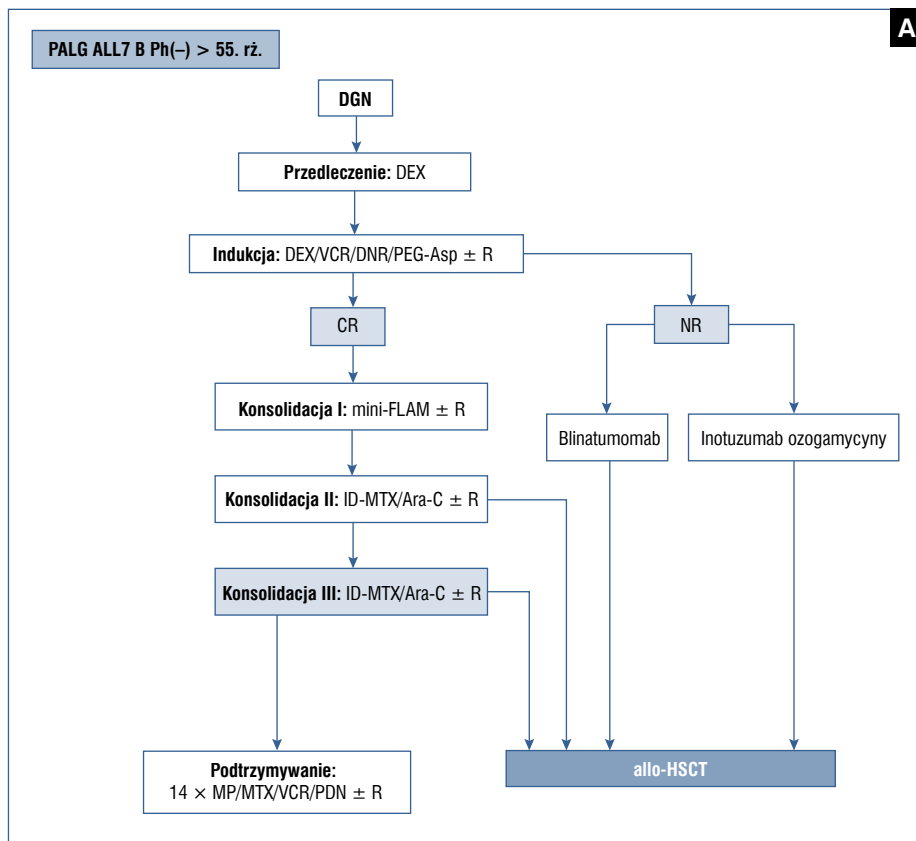
Zgodnie z protokołem PALG ALL7 przedleczenie u chorych na B-ALL obejmuje stosowanie deksametazonu, a u osób chorych na T-ALL — dodatkowo cyklofosfamidu. Pierwsza indukcja jest jednakowa u wszystkich chorych na ALL Ph(–) w wieku do 55 lat. U chorych z ekspresją CD20 na co najmniej 20% komórek blastycznych równoległe z chemioterapią stosuje się rytuksymab. Rytuksymab w tej grupie pacjentów podaje się również w kolejnych etapach leczenia. Po zakończeniu pierwszej indukcji należy ocenić stan remisji hematologicznej oraz MRD metodą MFC. Chorzy, którzy uzyskują CR z poziomem MRD poniżej 0,1%, przechodzą bezpośrednio do fazy konsolidacji. U tych, u których po zakończeniu pierwszej indukcji i uzyskaniu remisji wykrywa się MRD na poziomie równym 0,1% lub wyższym, jest przewidziana druga indukcja według programu FLAM (fludarabina, cytarabina i mitoksantron) lub mini-FLAM, w zależności od wieku chorego (odpowiednio: do 40 lat i powyżej). Podobnie chorzy, którzy nie uzyskali CR, jako drugą indukcję otrzymują chemioterapię według programu FLAM lub mini-FLAM (odpowiednio do wieku pacjenta). U osób chorych na B-ALL, które nie uzyskały CR po indukcji, w przypadku dostępności nowych przeciwciał monoklonalnych należy rozważyć zastosowanie inotuzumabu ozogamycyny, przeciwciała skierowanego przeciw antygenowi CD22 związanego kowalencyjnie z pochodną kalicheamycyny lub blinatumumabu, bispecyficznego przeciwciała anty-CD19 i anty-CD3. Po drugiej indukcji remisji należy ponownie ocenić



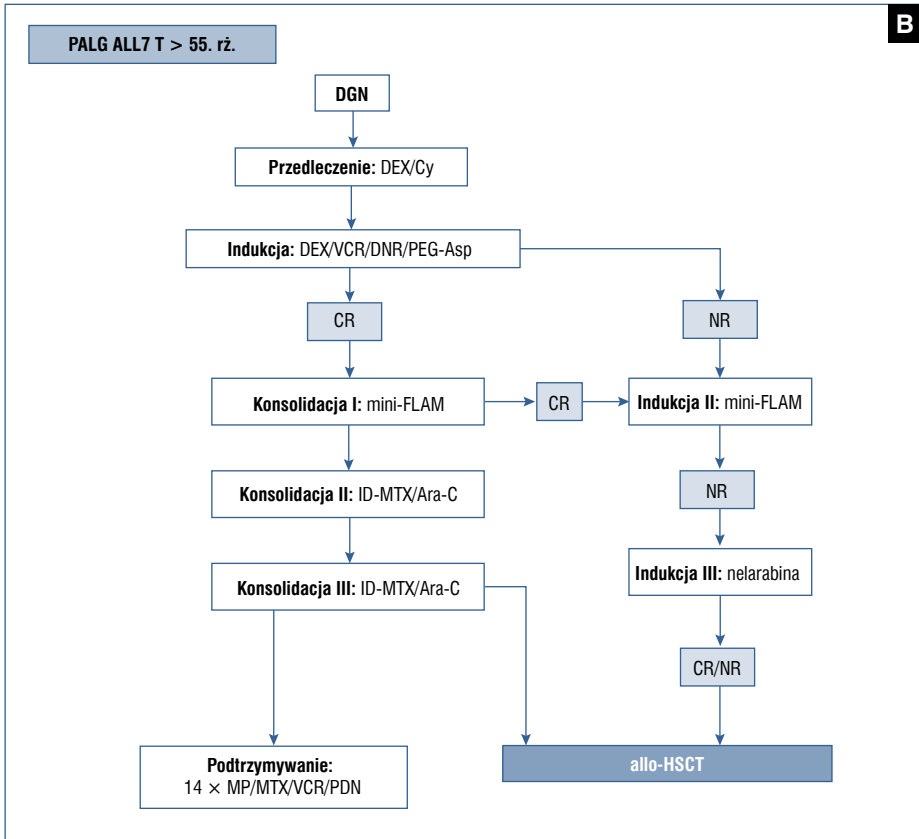
Rycina 2.4.1A. Schemat ideowy leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z prekursorów limfocytów B bez obecności translokacji (9;22)/*BCR-ABL1* w wieku poniżej 55 lat według protokołu PALG ALL7



Rycina 2.4.1B. Schemat ideowy leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z prekursorów limfocytów T w wieku do 55 lat według protokołu PALG ALL7; allo-HSCT (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) — przeszczepienie allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych; auto-HSCT (*autologous hematopoietic stem cell transplantation*) — przeszczepienie autologicznych krwiotwórczych komórek macierzystych; BLINO — blinatumomab; CR (*complete remission*) — remisja całkowita; Cy — cytarabina; DEX (*dexamethasone*) — deksametazon; DGN (*diagnosis*) — rozpoznanie; DNR — daunorubicyna; FC (*flow cytometry*) — cytometria przepływową; FLAM — fludarabina, cytarabina i mitoksantron; HD-Ara-C (*high-dose arabinoside cytosine*) — duże dawki arabinozydu cytozyny; HR (*high risk*) — wysokie ryzyko; INO — inotuzumab; MP — merkaptopuryna; MRD (*minimal residual disease*) — choroba resztkowa; MTX (*methotrexate*) — metotreksat; NR (*no response*) — brak odpowiedzi; OUN — ośrodkowy układ nerwowy; PALG (*Polish Adult Leukemia Group*) — Polska Grupa ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych; PDN — prednizon; PEG-Asp — asparaginaza pegylowana; Ph (*Philadelphia*) — chromosom Filadelfia; R — rytuksymab; SR (*standard risk*) — wysokie ryzyko; VCR — winkrystyna; WBC (*white blood count*) — liczba białych krwinek; Vep — wepezid



Rycina 2.4.2A. Schemat ideowy leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z prekursorów limfocytów B bez obecności translokacji (9;22)/*BCR-ABL1* według protokołu PALG ALL7 w wieku powyżej 55 lat



Rycina 2.4.2B. Schemat ideowy leczenia chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z prekursorów limfocytów T w wieku powyżej 55 lat według protokołu PALG ALL7; allo-HSCT (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) — przeszczepienie allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych; Ara-C — arabinozyd cytozyny; CR (*complete remission*) — remisja całkowita; Cy — cytarabina; DEX (*dexamethasone*) — deksametazon; DGN (*diagnosis*) — rozpoznanie; DNR — daunorubicyna; FLAM — fludarabina, cytarabina i mitoksantron; ID-MTX (*intermediate-dose methotrexate*) — pośrednie dawki metotreksatu MP — merkaptopuryna; MTX (*methotrexate*) — metotreksat; NR (*no response*) — brak odpowiedzi; PALG (*Polish Adult Leukemia Group*) — Polska Grupa ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych; PDN — prednizon; PEG-Asp — asparaginaza pegylowana; Ph (*Philadelphia*) — chromosom Filadelfia; R — rytuksymab; VCR — winkrystyna

Tabela 2.4.4. Faza przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostre białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) Filadelfia-ujemne (Ph-, *Philadelphia-negative*) w wieku do 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Faza przedleczenia		
Deksametazon (DEX) <i>p.o.</i>	10 mg/m ²	-5. do -1.*
Cyklofosfamid <i>i.v.**</i>	200 mg/m ²	-5. do -1.*
Metotreksat (MTX)/ /DEX <i>i.t.</i>	15 mg/4 mg	Między -5. i -1.
Indukcja I		
DEX <i>p.o.</i> lub <i>i.v.</i>	40 mg (rozważyć zmniejszenie do 20 mg w przypadku aktywnej infekcji)	1.-2., 8.-9., 15.-16., 22.-23.
Winkrystyna <i>i.v.</i>	2 mg	1., 8., 15., 22.
Daunorubicyna <i>i.v.</i>	50 mg/m ² (≥ 40. rż., 40 mg/m ²)	1., 8., 15., 22.
PEG-Asp <i>i.v.#</i>	2000 IE/m ² (maks. 3750 IE)	20.
Rytuksymab <i>i.v.**</i>	375 mg/m ²	1., 8. (po podaniu DEX, przed cytostatykami)
Trójlekowe <i>i.t.###</i> (MTX/arabinozyd cytozyny (Ara-C)/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	13., 27.
Indukcja II (opcja FLAM dla chorych w wieku < 40 lat)		
Fludarabina <i>i.v.</i>	2 × 15 mg/m ² [§]	36., 37., 43., 44. (czyli 6.-7. tydzień leczenia: 1., 2. doba oraz 8., 9. doba)
Cytarabina <i>i.v.</i>	8 × 100 mg/m ^{2**}	36., 37., 43., 44. (czyli 6.-7. tydzień leczenia: 1., 2. doba oraz 8., 9. doba)
Mitoksantron <i>i.v.</i>	10 mg/m ²	38., 45. (czyli 6.-7. tydzień leczenia: 3. oraz 10. doba)
Rytuksymab ^{##} <i>i.v.</i>	375 mg/m ²	35., 42. (premedykacja: steroid, NLPZ i lek przeciwhistaminowy) (czyli dzień przed rozpoczęciem wlewów fludarabiny i cytarabiny w 6. i 7. tygodniu leczenia)
Trójlekowe <i>i.t.###</i> (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	2 × w trakcie cyklu



Tabela 2.4.4. cd. Faza przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostre białaczki limfoblastyczne (ALL, acute lymphoblastic leukemia) Filadelfia-ujemne (Ph-, Philadelphia-negative) w wieku do 55 lat

Lek	Dawka	Dni	
Indukcja II (opcja mini-FLAM dla chorych w wieku ≥ 40 lat)			
Fludarabina <i>i.v.</i>	2 × 15 mg/m ² ^s	36., 37. (6. tydzień leczenia: 1., 2. doba)	
Cytarabina <i>i.v.</i>	8 × 100 mg/m ² ^s	36., 37. (6. tydzień leczenia: 1., 2. doba)	
Mitoksantron <i>i.v.</i>	10 mg/m ²	38. (6. tydzień leczenia: 3. doba)	
Rytuksymab [#] <i>i.v.</i>	375 mg/m ²	35., 42. (premedykacja: steroid, NLPZ i lek przeciwhistaminowy)	
Trójlewkowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	2 × w trakcie cyklu	
Indukcja II (opcja blinatumumab dotyczy chorych na B-ALL, którzy nie uzyskali CR po indukcji I)			
Blinatumomab <i>c.i.</i>	9 µg/dobę 28 µg/dobę	36.–42. (6. tydzień leczenia: 1.–7. doba) 43.–63. (7.–9. tydzień leczenia: 8.–28. doba)	
Indukcja II (opcja inotuzumab dotyczy chorych na B-ALL z ekspresją CD22 na $\geq 1\%$ blastów, którzy nie uzyskali CR po indukcji II)			
Inotuzumab ^{***}	0,8 mg/m ² <i>p.c.</i>	36. (6. tydzień leczenia: 1. doba)	
	0,5 mg/m ² <i>p.c.</i>	43., 50. (7.–8. tydzień leczenia: 8., 15. doba)	
Trójlewkowe <i>i.t.</i> (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	2 × w trakcie cyklu	
Indukcja III (opcja nelarabina dotyczy chorych na T-ALL, którzy nie uzyskali CR po indukcjach I i II)			
Nelarabina <i>i.v.</i>	1500 mg/m ² wlew 2-godzinny	71., 73., 75. (11. tydzień leczenia: doby 1., 3., 5.)	
Dwulekowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/DEX) bez cytarabiny ze względu na sumaryczną neurotoksyczność	15 mg/4 mg	Nie później niż 48 h przed rozpoczęciem chemioterapii	
Konsolidacja I (dotyczy chorych, którzy po indukcji I uzyskali CR, MRD-I < 0,1%, oraz wszystkich chorych w CR po 2 cyklach indukcji)			
		Po indukcji I	Po indukcji II
MTX <i>i.v.</i>	1500 mg/m ² we wlewie 24-godzinnym <i>i.v.</i> * (3500 mg/m ² w przy- padku zajęcia OUN we wlewie 4-godz.)	36., 43. (6.–7. tydzień leczenia: doby 1. oraz 8.)	78., 85. (12.–13. tydzień leczenia: doby 1. oraz 8.)
DEX <i>i.v.</i>	10 mg/m ²	36.–39., 43.–46. (6.–7. tydzień leczenia: doby 1.–4. oraz 8.–11.)	78.–81., 85.–88. (12.–13. tydzień leczenia: doby 1.–4. oraz 8.–11.)

Tabela 2.4.4. cd. Faza przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostre białaczki limfoblastyczne (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) Filadelfia-ujemne (Ph-, *Philadelphia-negative*) w wieku do 55 lat

Lek	Dawka	Dni	
Konsolidacja I (dotyczy chorych, którzy po indukcji I uzyskali CR, MRD-I < 0,1%, oraz wszystkich chorych w CR po 2 cyklach indukcji)			
		Po indukcji I	Po indukcji II
Etopozyd <i>i.v.</i>	100 mg/m ²	36., 43. (6.–7. tydzień leczenia: doby 1. oraz 8.)	78., 85. (12.–13. tydzień leczenia: doby 1. oraz 8.)
Rytuksymab ^{##} <i>i.v.</i>	375 mg/m ²	35., 42. (dzień przed rozpoczęciem 6. i 7. tygodnia chemioterapii) Premedykacja: steroid, NLPZ, lek przeciwhistaminowy	77., 84. (dzień przed rozpoczęciem 12. i 13. tygodnia chemioterapii) Premedykacja: steroid, NLPZ, lek przeciwhistaminowy
Trójlekowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Raz w trakcie cyklu, nie wcześniej niż tydzień po MTX, czyli w 8. tygodniu	Raz w trakcie cyklu, nie wcześniej niż tydzień po MTX, czyli w 14. tygodniu
Konsolidacja II (dotyczy chorych, którzy po indukcji I uzyskali CR, MRD-I < 0,1%)			
Cyklofosfamid <i>i.v.</i>	1000 mg/m ²	57., 74. (9.–11. tydzień leczenia: doby 1. oraz 18.)	
Cytarabina <i>i.v.</i> ^{&&}	2 × 2 g/m ²	58., 59., 75., 76. (9.–11. tydzień leczenia, doby 2.–3. oraz 19.–20.)	
PEG-Asp <i>i.v.</i> [#]	2000 jm./m ² (maks. 3750 jm.)	61., 78. (9.–11. tydzień leczenia, doby 15. oraz 22.)	
Rytuksymab <i>i.v.</i> ^{##}	375 mg/m ²	57., 74. (9.–11. tydzień leczenia: doby 1. oraz 18.) Premedykacja: steroid, NLPZ, lek przeciwhistaminowy	
Trójlekowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Raz w trakcie cyklu, nie wcześniej niż tydzień po cytarabinie (czyli w 12. tygodniu leczenia)	
Konsolidacja III (dotyczy chorych z grupy standardowego ryzyka)			
MTX <i>i.v.</i>	1500 mg/m ² we wlewie 24-godzinny <i>i.v.</i> ⁺ (3500 mg/m ² w przypadku zajęcia OUN we wlewie 4-godz.)	99., 106. (15.–16. tydzień leczenia: doby 1. oraz 8.)	
DEX <i>i.v.</i>	10 mg/m ²	99.–103., 106.–110. (15.–16. tydzień leczenia: doby 1.–4. oraz 8.–11.)	
Etopozyd <i>i.v.</i>	100 mg/m ²	99., 106. (15.–16. tydzień leczenia: doby 1. oraz 8.)	



Tabela 2.4.4. cd. Faza przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostre białaczki limfoblastyczne (ALL, acute lymphoblastic leukemia) Filadelfia-ujemne (Ph-, Philadelphia-negative) w wieku do 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Konsolidacja III (dotyczy chorych z grupy standardowego ryzyka)		
Rytuksymab ^{##} <i>i.v.</i>	375 mg/m ²	99. (15. tydzień leczenia: 1. doba) Premedykacja: steroid, NLPZ, lek przeciw-histaminowy
Trójlewkowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Raz w trakcie cyklu, nie wcześniej niż tydzień po MTX, czyli w 17. tygodniu
Leczenie podtrzymujące remisję		
Prednizon <i>p.o.</i>	60 mg/m ² (≥ 40. rż., 40 mg/m ²)	1.–7.
Winkrystyna <i>i.v.</i>	2 mg	1.
Daunorubicyna <i>i.v.</i>	50 mg/m ² (≥ 40. rż., 40 mg/m ²)	1. (w 1. roku leczenia)
Merkaptopuryna <i>p.o.</i> ^{**}	90 mg/m ²	Od 8. dnia
MTX <i>p.o.</i> ^{**}	15 mg/m ²	Od 8. dnia, raz w tygodniu
Rytuksymab ^{##} <i>i.v.</i>	375 mg/m ²	1. (w 1. roku leczenia)
Trójlewkowe <i>i.t.</i> (MTX/Ara-C/DEX) ^{###}	15 mg/40 mg/4 mg	1. (w 1. roku leczenia co 12 tygodni przy kursach 1., 3., 5.)

*Stosować 5 dni z wyjątkiem następujących sytuacji: w przypadku braku efektu cytoredukcyjnego po 3 dniach — przerwać lub w przypadku obniżenia liczby białych krwinek (WBC, *white blood count*) < 1,0 G/l — przerwać, lecz nie wcześniej niż po 3 dniach; **dotyczy wyłącznie chorych na T-komórkową ostrą białaczkę limfoblastyczną (T-ALL, *T-cell lymphoblastic leukemia*); ***przed rozpoczęciem leczenia zaleca się zastosowanie premedykacji kortykosteroidem, lekiem przeciwgorączkowym oraz lekiem przeciwhistaminowym; #pobranie surowicy w dniach 20., 27. i 34. w celu oznaczenia aktywności asparaginazy (Asp) i anty-Asp; ##dotyczy chorych z ekspresją CD20 na ≥ 20% blastów; ###wykonanie punkcji lędźwiowej (PL) powinno być poprzedzone badaniem morfologii krwi (płytki krwi [PLT, *platelets*]) i układu krzepnięcia (czas częściowej trombolastyny po aktywacji [APTT, *activated partial thromboplastin time*], międzynarodowy współczynnik znormalizowany [INR, *international normalized ratio*], fibrynogen, D-dimery). W przypadku małopłytkowości < 40 G/l i/lub zaburzeń krzepnięcia chorego należy przygotować za pomocą substytucji koncentratu krwinek płytkowych (kcp), świeżo mrożonego osocza (FFP, *fresh frozen plasma*) oraz stosowania leków przeciwkrwotocznych. Wystąpienie tych nieprawidłowości nie zwalnia z konieczności wykonania PL na poszczególnych etapach leczenia. Może spowodować jedynie przesunięcie czasowe; [§]30-min. wlew co 12 h; ^{§§}45-min. wlew, pierwszy bezpośrednio po zakończeniu stosowania fludarabiny, następnie co 3 h; ^{§§§}leukoworynę (folinian wapnia) w dawce 50 mg *i.v.* podaje się 24 h po zakończeniu wlewu MTX (*methotrexate*), a następnie 15 mg *i.v.* co 6 h 8 razy lub do chwili obniżenia stężenia MTX < 0,1 μmol/l. Dodatkowe podanie ratunkowe leukoworyny 50–100 mg *i.v.* co 4–6 h, jeżeli stężenie MTX wynosi ≥ 20 μmol w 0. godzinie; ≥ 1 μmol/l w 24. godzinie; ≥ 0,1 μmol/l w 48. godzinie po zakończeniu wlewu MTX. Alkaliczacja dożylna w celu przyspieszenia wydalania MTX (pH moczu utrzymywane < 7,0); ^{§§§§}10% dawki w 30-min. wlew *i.v.*, a następnie 90% dawki w 23,5-godz. wlew *i.v.*; ^{§§§§§}w przypadku wystąpienia obniżonych wartości wskaźników hematologicznych we krwi obwodowej przewiduje się zmniejszenie dawek cytotatyków, a w przypadku leukopenii < 2 G/l i/lub małopłytkowości < 50 G/l — przerwę w leczeniu; DEX — *dexamethasone*; *p.o.* (*per os*) — doustnie; *i.v.* (*intravenous*) — dożylnie; *i.t.* (*intrathecal*) — dokałatowo; PEG-Asp — pegylowana asparaginaza; NLPZ — niesteroidowy lek przeciwzapalny; B-ALL (*B-cell lymphoblastic leukemia*) — B-komórkowa ostra białaczka limfoblastyczna; CR (*complete remission*) — remisja całkowita; *c.i.* (*continuous infusion*) — wlew ciągły; *p.c.* — powierzchnia ciała; MRD (*minimal residual disease*) — minimalna choroba resztkowa; OUN — ośrodkowy układ nerwowy

Tabela 2.4.5. Faza przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) Filadelfia-ujemną (Ph-, *Philadelphia-negative*) w wieku powyżej 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Faza przedleczenia		
Deksametazon (DEX) <i>i.v./p.o.</i>	10 mg/m ²	-5. do -1.*
Cyklofosamid <i>i.v.**</i>	200 mg/m ²	-5. do -1.*
Metotreksat (MTX)/DEX <i>i.t.</i>	15 mg/4 mg	Między -5. i -1.
Indukcja I		
DEX <i>p.o./i.v.</i>	40 mg (należy rozważyć zmniejszenie do 20 mg w przypadku aktywnej infekcji) (20 mg > 70. rż.)	1.-2., 8.-9., 15.-16., 22.-23.
Rytuksymab <i>i.v.**</i>	375 mg/m ²	1., 8. — po deksametazonie, przed podaniem cytostatyków
Winkrystyna <i>i.v.</i>	2 mg	1., 8., 15., 22.
Daunorubicyna <i>i.v.</i>	30 mg/m ²	1., 8., 15., 22.
PEG-asparaginaza [#]	1000 j.m./m ²	20.
Trójlewkowe <i>i.t.</i> (MTX/arabinozyd cytozyny [Ara-C]/DEX) ^{###}	15 mg/40 mg/4 mg	13., 27.
Indukcja II (opcja blinatumumab dotyczy chorych na B-ALL, którzy nie uzyskali CR po indukcji I)		
Blinatumomab <i>c.i.</i>	9 µg/dobę 28 µg/dobę	36.-42. (6. tydzień leczenia: 1.-7. doba) 43.-63. (7.-9. tydzień leczenia: 8.-28. doba)
Indukcja II (opcja inotuzumab dotyczy chorych na B-ALL z ekspresją CD22 na ≥ 1% blastów, którzy nie uzyskali CR po indukcji II)		
Inotuzumab ^{***}	0,8 mg/m ² <i>p.c.</i>	36. (6. tydzień leczenia: 1. doba)
	0,5 mg/m ² <i>p.c.</i>	43., 50. (7.-8. tydzień leczenia: 8., 15. doba)
Trójlewkowe <i>i.t.</i> (MTX/Ara-C/ /DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	2 x w trakcie cyklu
Indukcja II (opcja mini-FLAM dotyczy chorych na T-ALL, którzy nie uzyskali remisji po indukcji I)		
Fludarabina <i>i.v.</i>	2 x 15 mg/m ² ^{\$}	36., 37. (6. tydzień leczenia: 1., 2. doba)
Cytarabina <i>i.v.</i>	8 x 100 mg/m ² ^{\$}	36., 37. (6. tydzień leczenia: 1., 2. doba)

Tabela 2.4.5. cd. Faza przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) Filadelfia-ujemną (Ph⁻, *Philadelphia-negative*) w wieku powyżej 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Indukcja II (opcja mini-FLAM dotyczy chorych na T-ALL, którzy nie uzyskali remisji po indukcji I)		
Mitoksantron <i>i.v.</i>	10 mg/m ²	38. (6. tydzień leczenia: 3. doba)
Rytuksymab ^{##} <i>i.v.</i>	375 mg/m ²	35., 42. (premedykacja: steroid, NLPZ i lek przeciwhistaminowy)
Trójlewkowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/ /Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	2 × w trakcie cyklu
Indukcja III (opcja nelarabina dotyczy chorych na T-ALL, którzy nie uzyskali CR po indukcji I i II)		
Nelarabina <i>i.v.</i>	1500 mg/m ² wlew 2-godzinny	71., 73., 75. (11. tydzień leczenia: doby 1., 3., 5.)
Dwulekowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/DEX) bez cytarabiny ze względu na sumaryczną neurotoksyczność	15 mg/4 mg	Nie później niż 48 h przed rozpoczęciem chemioterapii
Konsolidacja mini-FLAM (dotyczy chorych, którzy po indukcji I uzyskali CR oraz wszystkich chorych na T-ALL w CR po 1 lub 2 cyklach indukcji)		
Fludarabina <i>i.v.</i>	2 × 15 mg/m ² \$	36., 37. (6. tydzień leczenia: 1., 2. doba)
Cytarabina <i>i.v.</i>	8 × 100 mg/m ² \$	36., 37. (6. tydzień leczenia: 1., 2. doba)
Mitoksantron <i>i.v.</i>	10 mg/m ²	38. (6. tydzień leczenia: 3. doba)
Rytuksymab ^{##} <i>i.v.</i>	375 mg/m ²	35., 42. (premedykacja: steroid, NLPZ i lek przeciwhistaminowy)
Trójlewkowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/Ara- -C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	2 × w trakcie cyklu
Konsolidacja II i III (dotyczy chorych niekwalifikowanych do allo-HSCT lub z odroczonym allo-HSCT)		
Rytuksymab <i>i.v.</i> ^{##}	375 mg/m ²	Konsolidacja II: 70. Konsolidacja III: 105. (premedykacja: steroid, NLPZ i lek przeciwhistaminowy) (dzień przed podaniem cytostatyków: dzień przed rozpoczęciem 11. i 16. tygodnia chemioterapii)
Cytarabina <i>i.v.</i>	2 g/m ² (wlew 3-godz., przed MTX)	Konsolidacja II: 71. (11. tydzień leczenia, 1. doba cyklu) Konsolidacja III: 106. (16. tydzień leczenia, 1. doba cyklu)



Tabela 2.4.5. cd. Faza przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, acute lymphoblastic leukemia) Filadelfia-ujemną (Ph-, Philadelphia-negative) w wieku powyżej 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Konsolidacja II i III (dotyczy chorych niekwalifikowanych do allo-HSCT lub z odroczonego allo-HSCT)		
Metotreksat <i>i.v.</i> [‡]	Bez zajęcia OUN 1500 mg/m ²⁺ (wlew 24-godź.) W przypadku zajęcia OUN 3500 mg/m ² (wlew 4-godź.)	Konsolidacja II: 71. (11. tydzień leczenia, 1. doba cyklu) Konsolidacja III: 106. (16. tydzień leczenia, 1. doba cyklu)
PEG-Asp <i>i.v.</i> [#]	1000 jm./m ²	Konsolidacja II: 85. (13. tydzień leczenia, 15. doba cyklu) Konsolidacja III: 120. (18. tydzień leczenia, 15. doba cyklu)
Trójlewkowe <i>i.t.</i> ^{###} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Raz w trakcie cyklu (nie wcześniej niż 7 dni po MTX, czyli w 12. i 17. tygodniu leczenia)
Leczenie podtrzymujące remisję (14 kursów w odstępach 6-tygodniowych)		
Prednizon <i>p.o.</i>	40 mg/m ²	1.–7.
Rytuksymab <i>i.v.</i> ^{##} 6–7 podań łącznie	375 mg/m ² w 1. roku leczenia (co 6 tygodni)	1. — przed podażą cytostatyku (premedykacja: steroid, NLPZ i lek przeciwhistaminowy)
Winkrystyna <i>i.v.</i>	2 mg	1.
Merkaptopuryna <i>p.o.</i> ⁺⁺	90 mg/m ²	Od 8. dnia
Metotreksat <i>p.o.</i> ⁺⁺	15 mg/m ²	Od 8. dnia, raz w tygodniu

*Stosować 5 dni z wyjątkiem następujących sytuacji: w przypadku braku efektu cytoredukcyjnego po 3 dniach — przerwać oraz w przypadku zmniejszenia liczby białych krwinek (WBC, *white blood count*) < 1,0 G/l — przerwać, lecz nie wcześniej niż po 3 dniach; **dotyczy wyłącznie chorych na T-komórkową ostrą białaczkę limfoblastyczną (T-ALL, *T-cell lymphoblastic leukemia*); ***przed rozpoczęciem leczenia zaleca się zastosowanie premedykacji kortykosteroidem, lekiem przeciwgorączkowym oraz lekiem przeciwhistaminowym; †pobranie surowicy w dniach 20., 27. i 34. w celu oznaczenia aktywności asparaginazy (Asp) i anty-Asp; ‡dotyczy chorych z ekspresją CD20 na ≥ 20% blastów; ###wykonanie punkcji łędźwiowej (PL) powinno być poprzedzone badaniem morfologii krwi (płytki krwi [PLT, *platelets*]) i układu krzepnięcia (czas częściowej trombolastyny po aktywacji [APTT, *activated partial thromboplastin time*], międzynarodowy współczynnik znormalizowany [INR, *international normalized ratio*], fibrynogen, D-dimery). W przypadku małopłytkowości < 40 G/l i/lub zaburzeń krzepnięcia chorego należy przygotować za pomocą substytucji koncentratu krwinek płytkowych (kkp), świeżo mrożonego osocza (FFP, *fresh frozen plasma*) oraz stosowania leków przeciwkrwotocznych. Wystąpienie powyższych nieprawidłowości nie zwalnia z konieczności wykonania PL na poszczególnych etapach leczenia. Może spowodować jedynie przesunięcie czasowe; †30-min. wlew co 12 h; †45-min. wlew, pierwszy bezpośrednio po zakończeniu stosowania fludarabiny, następnie co 3 h; †leukoworyna (folinian wapnia) w dawce 50 mg *i.v.* jest podawana dobowo po zakończeniu wlewu MTX, a następnie 15 mg *i.v.* co 6 h 8 razy lub do chwili obniżenia stężenia MTX < 0,1 μmol/l. Dodatkowe podanie ratunkowe leukoworyny 50–100 mg *i.v.* co 4–6 h, jeśli stężenie MTX wynosi ≥ 20 μmol w 0. godzinie; nie mniej niż 1 μmol/l w 24. godzinie; co najmniej 0,1 μmol/l w 48. godzinie po zakończeniu wlewu MTX. Alkalinizacja dożylna w celu przyspieszenia wydalania MTX (pH moczu utrzymywane < 7,0); †10% dawki w 30-min. wlewie *i.v.*, a następnie 90% dawki w 23,5-godź. wlewie *i.v.*; **w przypadku wystąpienia obniżonych wartości wskaźników hematologicznych we krwi obwodowej przewiduje się zmniejszenie dawek cytostatyków, a przy leukopenii < 2 G/l i/lub małopłytkowości mniejszej niż 50 G/l — przerwę w leczeniu; DEX — *dexamethasone*; *i.v.* (*intravenous*) — dożylnie; *p.o.* (*per os*) — doustnie; *i.t.* (*intrathecal*) — dokanałowo; *c.i.* (*continuous infusion*) — wlew ciągły; B-ALL (*B-cell lymphoblastic leukemia*) — B-komórkowa ostrą białaczką limfoblastyczną; *p.c.* — powierzchnia ciała; CR (*complete remission*) — remisja całkowita; allo-HSCT (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) — przeszczepienie allogenicznym krwiotwórczym komórek macierzystych; NLPZ — niesteroidowe leki przeciwzapalne; OUN — ośrodkowy układ nerwowy; PEG-Asp — pegylowana asparaginaza

stan remisji hematologicznej i MRD. Chorzy, którzy znajdują się w fazie CR, przechodzą do fazy konsolidacji remisji lub transplantacji komórek krwiotwórczych.

U pacjentów w wieku powyżej 55 lat kryterium kwalifikacji do leczenia według protokołu PALG ALL7 jest dobry stan biologiczny, który pozwala na zastosowanie intensywnej chemioterapii. Ocenę stanu chorego pozostawia się lekarzowi prowadzącemu. U wszystkich pacjentów stosuje się ten sam program terapii obejmujący przedleczenie oraz indukcję remisji. U osób, u których stwierdza się obecność antygenu CD20 na co najmniej 20% komórek blastycznych w wyjściowym badaniu immunofenotypowym, należy zastosować równolegle do chemioterapii rytuksymab, podobnie jak w grupie młodszych chorych. Przerwa w leczeniu między kolejnymi cyklami chemioterapii nie powinna być dłuższa niż 6 tygodni, o ile stan pacjenta pozwala na kontynuację leczenia. W tej grupie chorych monitorowanie MRD nie wpływa na decyzje terapeutyczne, rekomenduje się jednak wykonywanie tego badania w celu szybkiego rozpoznania zagrażającej wznowy. Stosowanie wymienionych protokołów pozwala na uzyskanie całkowitej remisji u 85–95% dorosłych chorych na ALL Ph(-).

2.4.5.1.2. Konsolidacja remisji

Celem leczenia konsolidującego remisję jest pogłębienie odpowiedzi na leczenie — podtrzymanie CR i dalsza redukcja MRD. Leczenie obejmuje zwykle 6–8 bloków chemioterapii opartych na dużych dawkach cytostatyków, przede wszystkim metotreksatu, cytarabiny i cyklofosfamidu. Zastosowanie metotreksatu i cytarabiny w dużych dawkach zapewnia ich penetrację do OUN i zmniejsza ryzyko wystąpienia choroby w tej lokalizacji. W tej fazie stosuje się również kortykosteroidy i L-asparaginazę.

Leczenie konsolidujące według PALG stosowane u chorych na ALL Ph(-) w wieku do 55 lat przedstawiono w tabeli 2.4.1, a u chorych powyżej 55 lat — w tabeli 2.4.2.

Według protokołu PALG ALL7 u pacjentów w wieku do 55 lat, którzy otrzymali tylko jeden cykl indukujący remisję, należy zastosować dwa cykle konsolidacji. Po każdym z nich następuje ocena stanu remisji i MRD. Po drugim cyklu konsolidacji następuje stratyfikacja do grup ryzyka na podstawie oceny stanu MRD na poszczególnych etapach leczenia, wyjściowego zajęcia OUN, wyjściowej leukocytozy oraz obecności t(4;11). U chorych zakwalifikowanych do grupy ryzyka standardowego, u których nie będzie stosowane allo-HSCT, należy podać trzeci cykl konsolidacji.

U osób w wieku powyżej 55 lat stosuje się dwa lub trzy cykle konsolidujące remisję o zredukowanej intensywności dawki w porównaniu z chorymi młodszyymi.

2.4.5.1.3. Leczenie podtrzymujące

Celem tej fazy leczenia jest zapobieganie nawrotowi choroby. Nie stosuje się jej u chorych, u których przeprowadzono allo-HSCT. Leczenie podtrzymujące opiera się na codziennym doustnym podawaniu merkaptopuryny i raz w tygodniu metotreksatu. Dodatkowo cyklicznie podaje się kortykosteroid, winkrystynę i antracyklinę. Antracyklinę stosuje się do czasu osiągnięcia maksymalnych dozwolonych dawek sumarycznych. Leczenie podtrzymujące prowadzi się przez 2 lata.

Leczenie podtrzymujące remisję według PALG stosowane u chorych na ALL Ph(-) w wieku do 55 lat przedstawiono w tabeli 2.4.1, a u chorych powyżej 55 lat — w tabeli 2.4.2.

2.4.5.1.4. Przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych

Wskazaniem do allo-HSCT jest zakwalifikowanie chorego na ALL Ph(-) do grupy wysokiego ryzyka nawrotu choroby. Skuteczność allo-HSCT w zapobieganiu wznowie ALL wynika ze skuteczności mieloablacyjnej radioterapii i/lub chemioterapii stosowanej w kondycjonowaniu przed transplantacją oraz z korzyści wynikających z potencjalnej reakcji przeszczep przeciw białaczce (GvL, *graft-versus-leukemia*) zależnej od limfocytów T dawcy.

Eksperti grupy roboczej ds. ostrych białaczek *European Society for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) opublikowali stanowisko w sprawie wskazań do allo-HSCT u chorych w pierwszej remisji ALL bez obecności genu *BCR-ABL1*. Najważniejsze ustalenia tej grupy są następujące:

- monitorowanie MRD metodą MFC lub metodami molekularnymi jest konieczne u wszystkich chorych na ALL po uzyskaniu CR. Procedurę allo-HSCT rekomenduje się u wszystkich chorych z obecnością MRD na poziomie równym lub wyższym od 10^{-3} po leczeniu indukującym oraz w przypadku wykrycia MRD niezależnie od jej poziomu w późniejszym etapie leczenia (IIA);
- inne wyjściowe czynniki ryzyka, niezależne od odpowiedzi na leczenie, takie jak wysoka leukocytoza, niekorzystne zaburzenia genetyczne lub niekorzystny immunofenotyp blastów, mogą być uznane za wskazanie do allo-HSCT zgodnie z doświadczeniem i praktyką ośrodków leczących i/lub grup badawczych (IIB);
- allo-HSCT w pierwszej CR może nie być konieczne u chorych leczonych intensywnie na podstawie programów chemioterapii zbliżonych do protokołów pediatrycznych, u których nie wykrywa się MRD, nawet jeśli stwierdzono obecność innych niekorzystnych czynników prognostycznych (IA).

Czynniki ryzyka według protokołu PALG ALL7, których obecność stanowi wskazanie do przeprowadzenia allo-HSCT w CR1 omówiono w części 2.4.4.6. Czynniki predykcyjne i prognostyczne.

Eksperti EBMT opublikowali również ustalenia dotyczące ogólnych zasad przeprowadzania allo-HSCT u chorych na ALL [7]. Posumowanie rekomendacji *Acute Leukaemia Working Party* (ALWP) EBMT, które są w pełni zgodne ze stanowiskiem Grupy Roboczej PALG ds. ALL, jest następujące:

- optymalnym dawcą allogenicznym krwiotwórczych komórek macierzystych jest dawca rodzinny lub niespokrewniony w pełni zgodny w układzie ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA, *human leukocyte antigens*). U chorych obciążonych wysokim ryzykiem wznowy uzasadniona jest akceptacja niezgodnego dawcy rodzinnego, w tym dawcy haploidentycznego, a także dawcy niespokrewnionego z jedną niezgodnością antygenową lub alleliczną w układzie HLA (IIA);
- u młodych chorych preferowane jest zastosowanie mieloablacyjnego kondycjonowania przed allo-HSCT, które jest oparte na napromienianiu całego ciała (TBI, *total body irradiation*). Metoda TBI może być skojarzona z podaniem cyklofosfamidu lub etopozydu (IIA). W ośrodkach transplantacyjnych, w których nie ma możliwości przeprowadzenia TBI, można rozważyć kondycjonowanie oparte na busulfanie lub tiotropie podawanymi dożylnie. U starszych chorych lub u osób z istotnymi chorobami

współistniejącymi rekomenduje się zastosowanie kondycjonowania o zredukowanej intensywności;

- źródłem komórek krwiotwórczych może być zarówno szpik, jak i krew obwodowa. Jeżeli przeszczepiane są komórki krwiotwórcze pozyskane z krwi obwodowej, to należy rozważyć przeprowadzenie deplecji limfocytów T *in vivo* w celu zmniejszenia ryzyka przewlekłej reakcji przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD, *graft-versus-host disease*) (IIA).

Transplantację autologicznych krwiotwórczych komórek macierzystych według protokołu PALG należy rozważyć jako opcję terapeutyczną u chorych w wieku do 55 lat, u których poziom MRD wynosił poniżej 0,1% po indukcji oraz poniżej 0,01% po konsolidacji I i konsolidacji II, a jednocześnie nie stwierdzano obecności innych czynników ryzyka (część 2.4.4.6. Czynniki predykcyjne i prognostyczne). U tych chorych stosuje się dodatkowy cykl konsolidacji III, a następnie leczenie podtrzymujące remisję lub auto-HSCT, zależnie od preferencji ośrodka leczącego (IIIB).

2.4.5.1.5. Profilaktyka i postępowanie w przypadku zajęcia OUN

Zajęcie OUN rozpoznaje się wyjściowo u 5–6% chorych na ALL/LBL. Bez właściwej profilaktyki odsetek chorych z cechami zajęcia OUN może wzrosnąć do 30% w dalszym przebiegu choroby. W profilaktyce zajęcia OUN równoległe do leczenia systemowego należy stosować leczenie dokanałowe. Standardowo stosuje się potrójną terapię dokanałową, obejmującą podanie metotreksatu, cytarabiny i kortykosteroidu (IIA) [3, 15]. W leczeniu systemowym w profilaktyce wykorzystuje się cytostatyki przenikające przez barierę krew–płyn mózgowo-rdzeniowy (wysokodawkowany arabinozyd cytozyny, wysokodawkowany metotreksat, 6-merkaptopuryna, L-asparaginaza) [3, 15].

Zgodnie z protokołem PALG ALL7 u chorych otrzymujących tylko jedną indukcję w okresie indukcji–konsolidacji wykonuje się łącznie siedem punkcji łędźwiowych. U pacjentów, u których stosuje się dwa cykle indukujące, w czasie leczenia indukująco-konsolidującego wskazane jest wykonanie dziewięciu punkcji łędźwiowych. Nie należy podawać leków dokanałowo w trakcie leczenia blinatumumabem lub nelarabiną (z powodu możliwej kumulacji neurotoksyczności leków). U chorych zakwalifikowanych do leczenia nelarabiną profilaktyka zajęcia OUN jest ograniczona do dwóch leków podawanych dokanałowo — metotreksatu i deksametazonu. Punkcję łędźwiową należy wykonać nie później niż 48 godzin przed podaniem nelarabiny.

W fazie leczenia podtrzymującego remisję punkcję łędźwiową wykonuje się co 3 miesiące w pierwszym roku i co 6 miesięcy w drugim roku.

W przypadku stwierdzenia zajęcia OUN w leczeniu systemowym stosuje się większe dawki metotreksatu. Punkcje łędźwiowe z podaniem metotreksatu w dawce 15 mg, arabinozydu cytozyny w dawce 40 mg i deksametazonu w dawce 4 mg wykonuje się 2 razy w tygodniu do uzyskania ujemnego wyniku płynu mózgowo-rdzeniowego w 2 kolejnych punkcjach. Następnie kontynuuje się leczenie tak jak w profilaktyce. W przypadku oporności lub obecności zmian mięszkowych należy przeprowadzić napromienianie OUN.

2.4.5.1.6. Leczenie wspomagające

Leczenie wspomagające polega na:

- podawaniu G-CSF w celu zapobiegania gorączce neutropenicznej i utrzymania zaplanowanej gęstości dawki chemioterapii [16];
- przetaczaniu preparatów składników krwi (koncentrat krwinek czerwonych, koncentrat płytek krwi i świeżo mrożone osocze) w celu utrzymania odpowiednio stężenia hemoglobiny powyżej 8 g/dl, liczby płytek krwi powyżej 10 G/l i stężenia fibrynogenu powyżej 150 mg/dl;
- leczeniu przeciwwymiotnym obejmującym podawanie antagonistów receptora serotoniny i glikokortykosteroidów oraz opcjonalnie antagonistów receptora neurokininy 1;
- u wybranych chorych z zaburzeniami przyjmowania pokarmów — żywieniu parenteralnym;
- profilaktyce, monitorowaniu i leczeniu reakcji niepożądanych związanych ze stosowaniem L-asparaginazy, tj. przede wszystkim powikłań zakrzepowych i krwotocznych, zapalenia trzustki i objawów hepatotoksycznych;
- skutecznych metodach zapobiegania ciąży przez cały okres leczenia;
- profilaktyce infekcji bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych.

2.4.5.2. Choroba oporna i nawrotowa

Rokowanie u chorych z postacią oporną na leczenie lub nawrotem ALL jest nieopromyślne. Leczenie ratunkowe oparte na chemioterapii, immunoterapii lub leczeniu skojarzonym pozwala uzyskać CR u nie więcej niż 30–50% chorych, a czas odpowiedzi nie przekracza zwykle 5–6 miesięcy. Bezpośrednio po uzyskaniu odpowiedzi na chemioterapię i/lub immunoterapię ratunkową powinno się jak najszybciej przeprowadzić allo-HSCT u wszystkich chorych, u których nie stwierdza się bezwzględnych przeciwwskazań do transplantacji (IIA). Podejmując decyzję dotyczącą wyboru terapii ratunkowej, należy uwzględnić: rodzaj i uzyskaną odpowiedź na wcześniej stosowane leczenie, czas trwania odpowiedzi, wiek chorego i podtyp choroby, a także dostęp do nowych terapii i badań klinicznych (IIA).

W leczeniu ratunkowym oporności i nawrotów B-ALL należy rozważyć zastosowanie przeciwciał monoklonalnych. W przypadku ekspresji antygenu CD20 na powierzchni limfoblastów w terapii można zastosować rytuksymab w skojarzeniu z chemioterapią ratunkową. Najczęściej stosowanymi programami chemioterapii ratunkowej są hyper-CVAD, FLAM i FLAG-Ida (IIA) [3, 17]. Do przeciwciał monoklonalnych, które zostały zarejestrowane w leczeniu opornej i nawrotowej B-ALL, należą inotuzumab ozogamycyny — przeciwciało anty-CD22 związane z kalicheamycyną — oraz blinatumumab — przeciwciało bispecyficzne skierowane przeciw antygenowi CD19 i CD3, które angażuje limfocyty T w niszczenie komórek z ekspresją CD19. Rekomendacje dotyczące prowadzenia leczenia ratunkowego z użyciem jednego z tych przeciwciał są oparte na prospektywnych, randomizowanych badaniach, w których udokumentowano wyższą skuteczność zarówno inotuzumabu ozogamycyny, jak i blinatumumabu w porównaniu z powszechnie stosowanymi programami chemioterapii ratunkowej (IA) [18, 19]. W postaciach opornych na leczenia oraz nawrotowych T-ALL w leczeniu można zastosować nelarabinę, która jest prolekiem dla analogu deoksyguanozyny (IIA) [20].

Zgodnie z protokołem PALG ALL7 u chorych z postaciami opornymi i nawrotowymi ALL leczenie prowadzi się z intencją jak najszybszego przeprowadzenia allo-HSCT po uzyskaniu remisji, o ile nie stwierdza się bezwzględnych przeciwwskazań do transplantacji. Leczenie chorych na B-ALL zależy od wieku chorego, schematów indukcji wcześniej stosowanych w terapii, ekspresji antygenów mających znaczenie w immunoterapii, czyli CD20 i CD22, możliwości przeprowadzenia allo-HSCT oraz dostępności nowych leków. W terapii należy rozważyć jako opcję leczenie blinatumomabem lub inotuzumabem ozogamycyny (u chorych z ekspresją CD22 na $\geq 1\%$ limfoblastów). U chorych leczonych inotuzumabem ozogamycyny, u których planowana jest allo-HSCT, należy mieć na uwadze zwiększone ryzyko zespołu niedrożności zatokowej wątroby (SOS, *sinusoidal obstruction syndrome*) (inaczej choroby wenookluzyjnej wątroby [VOD, *veno-occlusive disease*]) i nie planować u tych chorych kondycjonowania opartego na dwóch lekach alkilujących (np. BuCy [busulfan, cyklofosfamid]). W trakcie leczenia inotuzumabem wskazane jest profilaktyczne podawanie kwasu ursodeoksycholowego w celu zmniejszenia ryzyka powikłań wątrobowych. U chorych na B-ALL w leczeniu można również zastosować chemioterapię FLAM lub mini-FLAM (odpowiednio: u chorych w wieku do 40 lat i powyżej), o ile ten program nie był wcześniej stosowany jako indukcja II w okresie leczenia pierwszej linii. Dodatkowo u pacjentów, u których w nawrocie stwierdza się ekspresję antygeny CD20 na ponad 20% blastów, leczenie według programu FLAM lub mini-FLAM powinno być skojarzone z immunoterapią rytuksymabem. U osób, które wcześniej były już leczone chemioterapią FLAM lub mini-FLAM, można zastosować program hyper-CVAD, a jeśli stwierdza się ekspresję antygeny CD20 na ponad 20% blastów — dodatkowo rytuksymab. Wszyscy chorzy na postać oporną na leczenie lub nawrotową T-ALL zgodnie z protokołem PALG ALL7 powinni być leczeni nelarabiną.

2.4.6. Kryteria odpowiedzi

- Całkowitą remisję ALL można rozpoznać, jeśli są spełnione następujące kryteria:
- odsetek komórek blastycznych w szpiku poniżej 5% i brak blastów we krwi obwodowej;
 - cechy regeneracji krwiotworzenia: liczba płytek powyżej 100 G/l i liczba granulocytów wyższa niż 1 G/l;
 - brak cech nacieków narządowych w badaniu przedmiotowym i badaniach obrazowych.

Całkowitą remisję bez pełnej regeneracji krwiotworzenia rozpoznaje się, jeśli spełnione są kryteria CR, ale utrzymuje się małopłytkowość poniżej 100 G/l lub neutropenia mniejsza niż 1,0 G/l.

U chorych, którzy uzyskali CR, należy ocenić obecność MRD metodami MFC i/lub technikami biologii molekularnej (IIA). Metoda MFC pozwala wykrywać komórki białaczkowe ze względu na ich nieprawidłowy immunofenotyp, natomiast zastosowanie technik biologii molekularnej umożliwia wykrywanie charakterystycznych dla nowotworu genów fuzyjnych lub klonalnych rearanżacji genów łańcuchów immunoglobulin lub TCR. Czulość metody FC sięga 10^{-4} , a technik biologii molekularnej jest równa 10^{-6} . Wykrywanie klonalnych rearanżacji Ig lub TCR jest bardzo trudne metodycznie i powinno być wykonywane w laboratoriach mających duże doświadczenie badawcze i systemy kontroli jakości.

Zgodnie z protokołem PALG ALL7 podstawową metodą monitorowania MRD w szpiku jest MFC.

Dla LBL stosuje się kryteria odpowiedzi przyjęte dla innych chłoniaków. U chorych z zajęciem szpiku w przebiegu LBL ocena odpowiedzi na leczenie nie odbiega od oceny w ALL.

2.4.7. Szczególne postaci ALL/LBL

2.4.7.1. B-ALL/LBL z obecnością t(9;22)(q34;q11.2)

Chromosom Ph, do którego powstania dochodzi w wyniku translokacji (9;22), wykrywa się w 20–35% ALL rozpoznawanych u osób dorosłych i jest najczęstszym zaburzeniem cytogenetycznym wykrywanym w tej chorobie. Częstość występowania chromosomu Ph wzrasta z wiekiem chorych na ALL i wynosi 5–15% w populacji osób w wieku 15–25 lat, 25–30% wśród chorych w wieku 25–35 lat oraz przekracza 35–40% w grupie powyżej 35. roku życia. Chromosom Ph powstaje w wyniku przeniesienia genu *ABL1* z chromosomu 9. w rejon złamania klastrów (*BCR*, *breakpoint cluster region*) na ramieniu długim chromosomu 22. U około 2/3 chorych do translokacji dochodzi w wyniku przełamania genu *BCR* w regionie *minor*, co prowadzi do powstania białka fuzyjnego p190 o masie 190 kDa, a u 1/3 chorych przełamanie następuje w regionie *major*, podobnie jak u chorych na przewlekłą białaczkę szpikową, w konsekwencji produkowane jest białko p210 o masie 210 kDa. Białko będące produktem genu fuzyjnego *BCR-ABL1* wykazuje aktywność kinazy tyrozynowej. Historyczne wyniki leczenia ALL z obecnością chromosomu Ph były złe, a rokowanie bardzo niepomyślne. Wprowadzenie do terapii TKI zmieniło strategię leczenia ALL z obecnością chromosomu Ph/genu fuzyjnego *BCR-ABL1* i poprawiło rokowanie w tej chorobie. Współcześnie strategia ta opiera się na skojarzeniu chemioterapii o zredukowanej intensywności z TKI w indukcji i konsolidacji (IIA) [3, 12–14]. W przypadku wystąpienia toksyczności leczenia redukcja i opóźnienie podania dawek powinny dotyczyć cytostatyków, a nie TKI (IIA) [3]. U chorych, u których stwierdza się ekspresję CD20 na co najmniej 20% blastów, równoległe do leczenia TKI i chemioterapii w trakcie indukcji stosuje się również rytuksymab (IIA) [10]. Taka strategia postępowania umożliwia uzyskanie CR u ponad 90% chorych. Po uzyskaniu CR powinno się jak najszybciej przeprowadzić allo-HSCT od dawcy rodzinnego lub niespokrewnionego dobraneo w zakresie HLA (IIA) [3]. U pacjentów z ujemną MRD, dla których nie można dobrać zgodnego w zakresie HLA dawcy, można rozważyć transplantację auto-HSCT (IIIB) z leczeniem TKI po transplantacji [3, 21]. U chorych, u których stwierdza się obecność *BCR-ABL1* po allo-HSCT, należy rozpocząć leczenie TKI w celu eradykacji MRD (IIA) [3, 11, 22]. U pozostałych osób, u których nie wykrywa się *BCR-ABL1* po transplantacji, rekomendowane jest ścisłe monitorowanie MRD z oznaczeniem *BCR-ABL1* co 4–6 tygodni. W przypadku stwierdzenia transkryptu *BCR-ABL1* należy bezzwłocznie włączyć wyprzedzające leczenie TKI (IIA). Alternatywnie można prowadzić leczenie podtrzymujące remisję za pomocą TKI u wszystkich chorych po allo-HSCT. Kompleksowa terapia oparta na chemioterapii, TKI oraz transplantacji komórek krwiotwórczych połączona ze ścisłym molekularnym monitorowaniem MRD na wszystkich etapach leczenia pozwala na uzyskanie odległego przeżycia u 40–55% chorych. Rokowanie w ALL Ph(+) stało się zatem nie gorsze niż w ALL bez obecności chromosomu Ph. Mimo uzyskanej poprawy wyników leczenia ograniczeniem

obecnej strategii postępowania jest oporność rozwijająca się w trakcie stosowania TKI, wynikająca przede wszystkim z pojawiania się mutacji sekwencji kodującej domenę kinazową genu *BCR-ABL1* [23]. U chorych, u których stwierdza się oporność lub utrzymuje się obecność transkryptu *BCR-ABL1*, należy wykonać oznaczenia mutacji *BCR-ABL1*, jeżeli jest to organizacyjnie możliwe, i zmienić imatynib na TKI II i III generacji [3, 24]. W przypadku wykrycia takiej mutacji wybór TKI w dalszym leczeniu powinien być podyktowany jego aktywnością wobec stwierdzonego wariantu kinazy tyrozyny (IIA) [3]. U pacjentów z zajęciem OUN w przebiegu choroby preferowane jest zastosowanie dazatynibu, który przenika do płynu mózgowo-rdzeniowego (IIA) [11].

Protokół PALG u osób w wieku do 55 lat przewiduje stosowanie imatynibu i pominięcie podania antracykliny i pegylowanej asparaginazy w indukcji. Równolegle do leczenia TKI stosuje się deksametazon i winkrystynę, a u chorych, u których stwierdza się ekspresję CD20 na co najmniej 20% blastów, podaje się również rytuksymab.

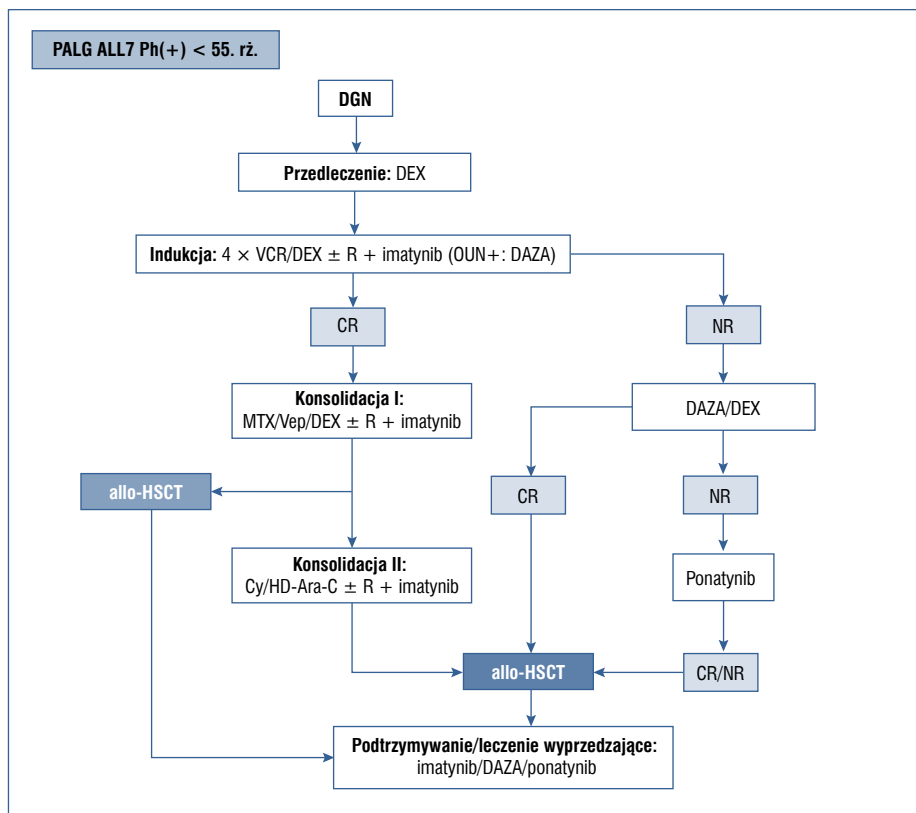
Po zakończeniu indukcji następuje ocena stanu remisji i MRD. W przypadku oporności lub utrzymywania się MRD przewiduje się wykonanie badania mutacji *BCR-ABL1*.

Jeśli po indukcji chory nie uzyskał remisji hematologicznej, to w dalszym leczeniu otrzymuje dazatynib w dawce 140 mg/dobę. Również u pacjentów, u których po konsolidacji I nie można przeprowadzić allo-HSCT, a jednocześnie stwierdza się obecność MRD, należy zmienić imatynib na dazatynib. W czasie pierwszych 4 tygodni zaleca się równoległe podawanie deksametazonu, podobnie jak w protokole indukcji. Jeśli po 4 tygodniach leczenia dazatynibem w skojarzeniu z deksametazonem chory nadal nie uzyskał CR, to zaleca się zastosowanie ponatynibu. Podobnie w przypadku wykazania mutacji *T315I* zaleca się zastosowanie ponatynibu. Po uzyskaniu CR powinno się jak najszybciej przeprowadzić allo-HSCT. U pacjentów leczonych ponatynibem należy rozważyć allo-HSCT, nawet gdy nie uzyskano CR. W przypadku braku remisji hematologicznej po leczeniu TKI II/III generacji trzeba brać pod uwagę możliwość zastosowania immunoterapii. Pozostali chorzy, którzy uzyskali CR po indukcji imatynibem, przechodzą bezpośrednio do fazy konsolidacji I, podczas której stosuje się metotreksat, etopozyd i deksametazon. U chorych z ekspresją CD20 na co najmniej 20% blastów podaje się również rytuksymab w czasie konsolidacji. Po uzyskaniu CR zaleca się jak najszybsze przeprowadzenie allo-HSCT. Jeśli leczenie z zastosowaniem allo-HSCT nie jest możliwe, to pacjent otrzymuje II konsolidację, podczas której stosuje się cyklofosfamid i cytarabinę. U chorych z ekspresją CD20 na co najmniej 20% blastów ponownie podaje się rytuksymab. Po zakończeniu II konsolidacji przeprowadza się kolejną ocenę CR i MRD oraz jak najszybszą kwalifikację do allo-HSCT.

W trakcie leczenia allo-HSCT i po nim należy często monitorować MRD metodą ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (RQ-PCR, *real-time quantitative polymerase chain reaction*), optymalnie co 4–6 tygodni. Pierwsze oznaczenie MRD po allo-HSCT powinno być przeprowadzone już po 4 tygodniach. U chorych, u których przed allo-HSCT lub po nim stwierdza się obecność transkryptu *BCR-ABL1*, należy przeprowadzić badanie mutacji *BCR-ABL1*, w szczególności badanie na obecność mutacji *T315I*.

U pacjentów, u których na jakimkolwiek etapie leczenia stwierdza się zajęcie OUN, należy zmienić TKI na dazatynib, który penetruje do OUN.

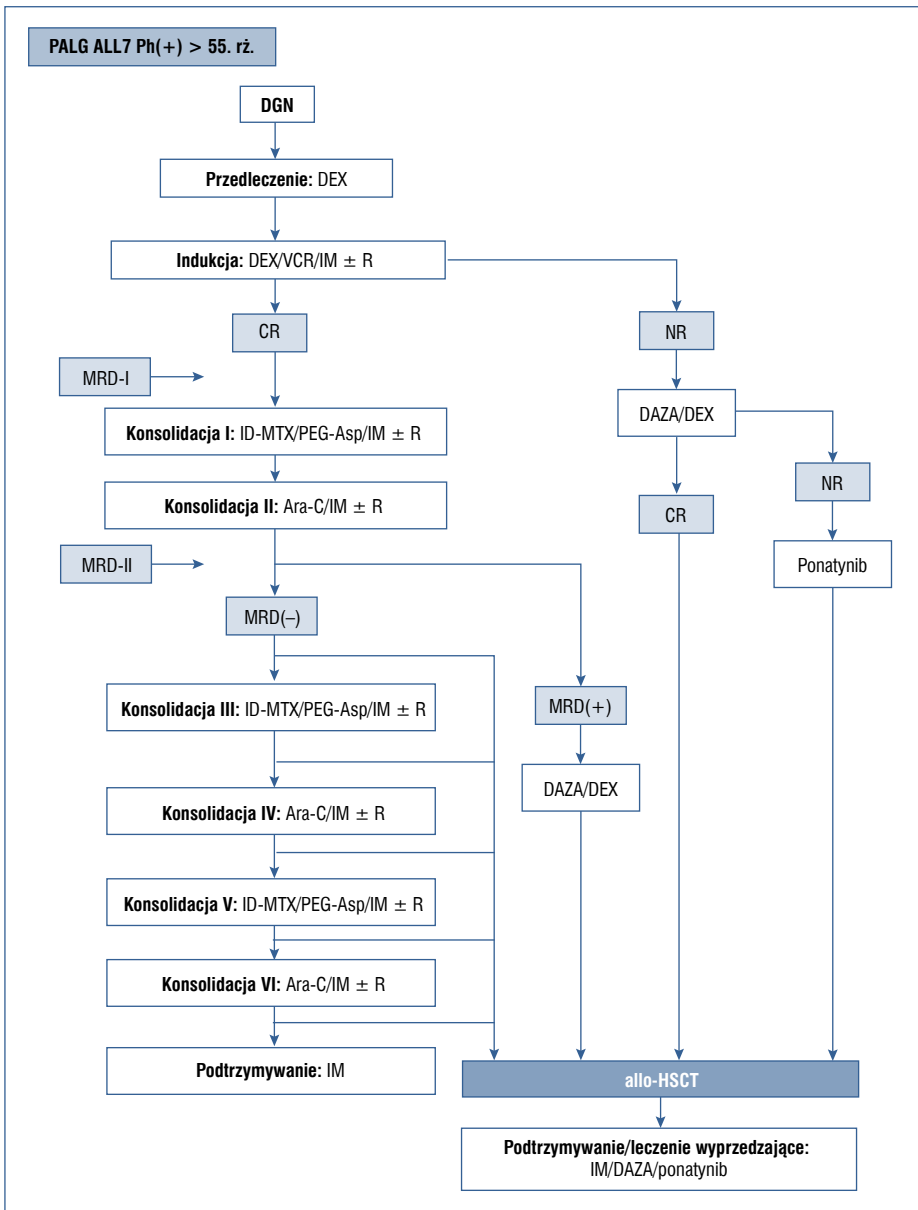
U osób w wieku powyżej 55 lat protokół PALG — podobnie jak w młodszej grupie — przewiduje stosowanie imatynibu. W przypadku pierwotnej lub wtórnej oporności na



Rycina 2.4.3. Schemat ideowy leczenia osób w wieku do 55 lat chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z obecnością translokacji (9;22)/*BCR-ABL1*; allo-HSCT (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) — przeszczepienie allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych; OUN+ — zajęcie ośrodkowego układu nerwowego; CR (*complete remission*) — remisja całkowita; Cy — cytarabina; DAZA — dazatynib; DEX (*dexamethasone*) — deksametazon; DGN (*diagnosis*) — rozpoznanie; HD-Ara-C (*high-dose arabinoside cytosine*) — duże dawki arabinozydu cytozyny; MTX (*methotrexate*) — metotretsat; NR (*no response*) — brak odpowiedzi; PALG (*Polish Adult Leukemia Group*) — Polska Grupa ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych; Ph (*Philadelphia*) — chromosom Filadelfia; R — rytuksymab; VCR — winkrystyna; Vep — wepezid

imatynib wskazane jest podanie dazatynibu. W przypadku oporności na dazatynib lub obecności mutacji *T315I* należy rozważyć zastosowanie ponatynibu. Celowe jest również rozważenie u każdego chorego allo-HSCT ze zredukowanym kondycjonowaniem. Po konsolidacjach następuje leczenie podtrzymujące z zastosowaniem TKI w monoterapii do czasu progresji lub do allo-HSCT. Transplantacja może być przeprowadzona wcześniej, po indukcji, po II lub IV kursie konsolidacji.

Schemat ideowy leczenia według protokołu PALG stosowany u chorych na ALL Ph(+) w wieku do 55 lat przedstawiono na rycinie 2.4.3, a u chorych powyżej 55 lat — na rycinie 2.4.4 oraz odpowiednio w tabelach 2.4.6 i 2.4.7.



Rycina 2.4.4. Schemat ideowy leczenia osób w wieku powyżej 55 lat chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) z obecnością translokacji (9;22)/*BCR-ABL1*; allo-HSCT (*allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*) — przeszczepienie allogenicznych krwiotwórczych komórek macierzystych; CR (*complete remission*) — remisa całkowita; DAZA — dazatynib; DEX (*dexamethasone*) — deksametazon; DGN (*diagnosis*) — rozpoznanie; ID-MTX (*intermediate-dose methotrexate*) — pośrednie dawki metotrexatu; IM — imatynib; MRD (*minimal residual disease*) — minimalna choroba resztkowa; NR (*no response*) — brak odpowiedzi; PALG (*Polish Adult Leukemia Group*) — Polska Grupa ds. Leczenia Białaczek u Dorosłych; PEG-Asp — pegylowana asparaginaza; Ph (*Philadelphia*) — chromosom Filadelfia; R — rytuksymab; VCR — winkrystyna

Tabela 2.4.6. Fazy przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) Filadelfia-dodatnią (Ph+, *Philadelphia-positive*) w wieku do 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Faza przedleczenia		
Deksametazon (DEX) <i>p.o.</i>	12 mg/m ²	-5. do -1.*
Metotreksat (MTX)/DEX <i>i.t.</i>	15 mg/4 mg	Między -5. a -1.
Indukcja I		
DEX <i>p.o./i.v.</i>	40 mg	1.-2., 8.-9., 15.-16., 22.-23.
Rytuksymab [#]	375 mg/m ²	1., 8. (po podaniu DEX, przed cytostatykami, premedykacja NLPZ, lek przeciwhistaminowy)
Winkrystyna <i>i.v.</i>	2 mg	1., 8., 15., 22.
Imatynib <i>mesylate p.o.</i>	600 mg	Á la longue od 1. dnia
Trójlekowe <i>i.t.</i> (MTX/arabinozyd cytozyny [Ara-C]/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	10., 24.
Konsolidacja I		
MTX <i>i.v.</i>	1500 mg/m ^{2&}	36., 43. (6.-7. tydzień leczenia: 1. oraz 8. doba)
DEX <i>i.v.</i>	12 mg/m ²	36.-39., 43.-46. (6.-7. tydzień leczenia: 1.-4. doba oraz 8.-11. doba)
Rytuksymab [#]	375 mg/m ²	35., 42. (dzień przed rozpoczęciem 6. i 7. tygodnia chemioterapii) Premedykacja: steroid, NLPZ, lek przeciwhistaminowy
Etopozyd <i>i.v.</i>	100 mg/m ²	36., 43. (6.-7. tydzień leczenia: 1. oraz 8. doba)
Imatynib <i>mesylate p.o.</i>	600 mg	Á la longue
Konsolidacja II		
Cyklofosamid <i>i.v.</i>	1000 mg/m ²	57., 74. (czyli 9.-11. tydzień leczenia: doby 1. oraz 18.)
Cytarabina <i>i.v.</i> ^{\$}	2 × 2 g/m ²	58., 59., 75., 76. (czyli 9.-11. tydzień leczenia: doby 2.-3. oraz 19.-20.)



Tabela 2.4.6. cd. Fazy przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) Filadelfia-dodatnią (Ph+, *Philadelphia-positive*) w wieku do 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Konsolidacja II		
Rytuksymab [#]	375 mg/m ²	57., 74. (czyli 9.–11. tydzień leczenia: doby 1. oraz 18.) Premedykacja: steroid, NLPZ i lek przeciwhistaminowy
Imatynib <i>mesylate p.o.</i>	600 mg	<i>Á la longue</i>
Trójlekowe <i>i.t.</i> ^{##} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Raz w trakcie cyklu, nie wcześniej niż tydzień po cytarabinie (czyli w 12. tygodniu leczenia)

*Stosować 5 dni z wyjątkiem następujących sytuacji: w przypadku braku efektu cytoredukcyjnego po 3 dniach — przerwać oraz w przypadku zmniejszenia liczby białych krwinek (WBC, *white blood count*) < 1,0 G/l — przerwać, lecz nie wcześniej niż po 3 dniach; [#]dotyczy chorych z ekspresją CD20 na ≥ 20% blastów; ^{##}wykonanie punkcji lędźwiowej (PL) powinno być poprzedzone badaniem morfologii krwi (płytki krwi [PLT, *platelets*]) i układu krzepnięcia (czas częściowej tromboplastyny po aktywacji [APTT, *activated partial thromboplastin time*], międzynarodowy współczynnik znormalizowany [INR, *international normalized ratio*], fibrynogen, D-dimery). W przypadku małopłytkowości < 40 G/l i/lub zaburzeń krzepnięcia chorego należy przygotować za pomocą substytucji krwinek płytkowych (kkp), świeżo mrożonego osocza (FFP, *fresh frozen plasma*) oraz stosowania leków przeciwkrwotocznych. Wystąpienie tych nieprawidłowości nie zwalnia z konieczności wykonania PL na poszczególnych etapach leczenia. Może spowodować jedynie przesunięcie czasowe; ³3-godz. wlew w odstępach 12 h; ⁴leukoworynę (folinian wapnia) w dawce 50 mg *i.v.* podaje się dobowo po zakończeniu wlewu MTX (*methotrexate*), a następnie 15 mg *i.v.* co 6 h 8 razy lub do chwili obniżenia stężenia MTX < 0,1 μmol/l. Dodatkowo podanie ratunkowe leukoworyny w dawce 50–100 mg *i.v.* co 4–6 h, jeżeli stężenie MTX wynosi ≥ 20 μmol w 0. godzinie; ≥ 1 μmol/l w 24. godzinie; ≥ 0,1 μmol/l w 48. godzinie po zakończeniu wlewu MTX. Alkaliczacja dożylna w celu przyspieszenia wydalania MTX (pH moczu utrzymywane < 7,0); DEX — *dexamethasone*; *p.o.* (*per os*) — doustnie; *i.t.* (*intrathecal*) — dokanałowo; *i.v.* (*intravenous*) — dożylnie; NLPZ — niesteroidowy lek przeciwzapalny

Tabela 2.4.7. Fazy przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*) Filadelfia-dodatnią (Ph+, *Philadelphia-positive*) w wieku powyżej 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Faza przedleczenia		
Deksametazon (DEX) <i>i.v./p.o.</i>	10 mg/m ²	–5. do –1.*
MTX/DEX <i>i.t.</i>	15 mg/4 mg	Między –5. a –1.
Indukcja I		
DEX <i>p.o./i.v.</i>	40 mg (20 mg > 70. rż.)	1.–2., 8.–9., 15.–16., 22.–23.
Winkrystyna <i>i.v.</i>	1 mg	1., 8., 15., 22.
Rytuksymab [#]	375 mg/m ²	1., 8.
Imatynib <i>mesylate p.o.</i>	600 mg	1. — <i>á la longue</i>
Trójlekowe <i>i.t.</i> ^{##} (MTX/arabinozyd cytozyny [Ara-C]/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	10., 24.



Tabela 2.4.7. cd. Fazy przedleczenia, indukcji i konsolidacji u chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną (ALL, acute lymphoblastic leukemia) Filadelfia-dodatnią (Ph+, Philadelphia-positive) w wieku powyżej 55 lat

Lek	Dawka	Dni
Konsolidacja I, III, IV		
MTX ^{&} i.v.	1500 mg/m ² 500 mg/m ² > 70. rż.	36./99./169. (1. dzień tygodni 6., 15., 25.)
PEG-Asp i.v. ^{###}	1000 jm./m ²	37./100./170. (2. dzień tygodni 6., 15., 25.)
Rytuksymab [#]	375 mg/m ²	35./98./168. (1. dzień przed podaniem MTX)
Imatynib mesylate p.o.	600 mg	Á la longue (wyjątek: nie podawać w dniach stosowania PEG-Asp)
Trójkolkowe i.t. ^{##} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Raz w trakcie cyklu (nie wcześniej niż tydzień po MTX)
Konsolidacja II, IV, VI		
Ara-C i.v.	1000 mg/m ² 500 mg/m ² > 70. rż.	57., 59., 61./127., 129., 131./197., 199., 201. (dni 1., 3., 5. tygodni 9., 19., 29.)
Rytuksymab [#]	375 mg/m ²	56./126./196. (1. dzień przed podaniem cytarabiny)
Imatynib mesylate p.o.	600 mg	Á la longue
Trójkolkowe i.t. (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Raz w trakcie cyklu, nie wcześniej niż tydzień po cytarabinie
Leczenie podtrzymujące remisję		
Imatynib mesylate p.o. ^{&&}	600 mg	Á la longue
Trójkolkowe i.t. ^{##} (MTX/Ara-C/DEX)	15 mg/40 mg/4 mg	Co 3 miesiące w pierwszym roku: łącznie 4 dawki

*Stosować 5 dni z wyjątkiem następujących sytuacji: w przypadku braku efektu cytoredukcyjnego po 3 dniach — przerwać oraz w przypadku obniżenia liczby białych krwinek (WBC, white blood count) < 1,0 G/l — przerwać, lecz nie wcześniej niż po 3 dniach; *dotyczy chorych z ekspresją CD20 na ≥ 20% blastów; przed rozpoczęciem leczenia zaleca się zastosowanie premedykacji kortykosteroidem, lekiem przeciwgorączkowym oraz lekiem przeciwhistaminowym; #wykonanie punkcji lędźwiowej (PL) powinno być poprzedzone badaniem morfologii krwi (płytki krwi [PLT, platelets]) i układu krzepnięcia (czas częściowej trombolastyny po aktywacji [APTT, activated partial thromboplastin time], międzynarodowy współczynnik znormalizowany [INR, international normalized ratio], fibrynogen, D-dimery). W przypadku małopłytkowości < 40 G/l i/lub zaburzeń krzepnięcia chorego należy przygotować, stosując substytucję koncentratu krwinek płytkowych (kcp), świeżo mrożone osocze (FFP, fresh frozen plasma) oraz leki przeciwkrwotoczne. Wystąpienie tych nieprawidłowości nie zwalnia z konieczności wykonania PL na poszczególnych etapach leczenia. Może spowodować jedynie przesunięcie czasowe; ###pobranie surowicy w dniach 20., 27. i 34. w celu oznaczenia aktywności asparaginazy (Asp) i anty-Asp; &metatreksat (MTX, methotrexate) w dawce 1,5 g/m² stosowany w 24-godz. wlewie (10% dawki w 30-min. wlewie, następnie 90% dawki w 23,5-godz. wlewie i.v.). Dwie godziny przed rozpoczęciem wlewu MTX należy rozpocząć nawadnianie 200 ml/h i alkalizację dwuwęglanami o stężeniu 40–60 mEq/l w celu uzyskania pH moczu > 7,5. Leukoworynę (folinian wapnia) w dawce 50 mg i.v. podaje się dobowo po zakończeniu wlewu MTX, a następnie 15 mg i.v. co 6 h 8 razy lub do chwili obniżenia stężenia MTX < 0,1 μmol/l. Dodatkowe podanie ratunkowe leukoworyny 50–100 mg i.v. co 4–6 h, jeśli stężenie MTX wynosi ≥ 20 μmol w 0. godzinie; ≥ 1 μmol/l w 24. godzinie; ≥ 0,1 μmol/l w 48. godzinie po zakończeniu wlewu MTX. Alkalizacja dożylna w celu przyspieszenia wydalania MTX (pH moczu utrzymywać < 7,0); &&modyfikacja dawki w przypadku wystąpienia objawów toksyczności, w oparciu o charakterystykę produktu leczniczego; DEX — dexamethasone; i.v. (intravenous) — dożylnie; p.o. (per os) — doustnie; i.t. (intrathecal) — dokanałowo; PEG-Asp — asparaginaza pegylowana

2.4.7.2. B-ALL/LBL z translokacją t(v;11q23); rearanżacją *KMT2A* (dawniej *MLL*)

Rearanżacja *KMT2A* (inaczej *MLL*) najczęściej występuje u dzieci poniżej 1. roku życia. Częstość tego podtypu maleje z wiekiem. Partnerami fuzyjnymi dla genu *MLL* na chromosomie 11q23 są najczęściej geny *AF4* na chromosomie 4., *ENL* na chromosomie 19p13 i *AF9* na chromosomie 9p22. U chorych z obecnością *MLL* dość często obserwuje się nadekspresję kinazy FLT-3 (*Fms-like tyrosine kinase 3*). Obecność rearanżacji *MLL* wiąże się z wysokim ryzykiem wznowy i niepomyślnym rokowaniem. Do charakterystycznych cech tego podtypu ALL należy wysoka leukocytoza w chwili rozpoznania, zwykle powyżej 100 G/l. Ponadto dość często obserwuje się wyjściowe zajęcie OUN oraz pozaszpikowe nacieki narządowe. Zgodnie z kryteriami stratyfikacji ryzyka w ALL według PALG obecność rearanżacji *MLL* jest wskazaniem do przeprowadzenia allo-HSCT w pierwszej remisji choroby.

2.4.7.3. B-ALL/LBL z t(12;21)(p13;q22.1); *TEL-AML1* (*ETV6-RUNX1*)

Ten podtyp rozpoznaje się sporadycznie u dorosłych chorych. U dzieci natomiast stanowi około 25% ALL/BLL i w tej populacji zawsze powinno się wykonać badania FISH lub reakcji łańcuchowej polimerazy poprzedzonej odwrotną transkrypcją (RT-PCR, *reverse transcriptase polymerase chain reaction*) w celu wykrycia lub wykluczenia obecności tego zaburzenia, podobnie jak badania *BCR-ABL1* u dorosłych. Translokacja (12;21)(p13;22) prowadzi do powstania genu fuzyjnego *TEL-AML1* (*ETV6-RUNX1*), który koduje białka fuzyjne o charakterze inhibitora czynnika transkrypcyjnego RUNX1. Immunofenotyp jest podobny do innych B-ALL (CD19+, CD10+, CD34+), często z ekspresją CD13. Leczenie jest typowe, podobne do terapii chorych na ALL/LBL Ph(-) NOS. Rearanżacja *TEL-AML1* (*ETV6-RUNX1*) wiąże się z pomyślnym rokowaniem. U ponad 90% dzieci z tym podtypem B-ALL uzyskuje się trwałe wyleczenie.

2.4.7.4. B-ALL/LBL z hiperdiploidią

Ten podtyp jest definiowany jako obecność więcej niż 50 chromosomów w komórkach białaczkowych, zwykle bez innych cytogenetycznych zaburzeń strukturalnych. Często jest stwierdzany u dzieci, u dorosłych znacznie rzadziej (< 10% B-ALL/LBL). Hiperdiploidia u dzieci wiąże się z pomyślnym rokowaniem, znaczenie rokownicze u dorosłych nie jest wystarczająco zbadane.

2.4.7.5. B-ALL/LBL z hipodiploidią

Hipodiploidię w B-ALL definiuje się jako obecność mniej niż 46 chromosomów w limfoblastach. Występuje w około 5% wszystkich B-ALL. Ten podtyp dzieli się na 4 kategorie: prawie haploidię (23–29 chromosomów), niską hipodiploidię (33–39 chromosomów), wysoką hipodiploidię (40–43 chromosomów) i prawie diploidię (44–45 chromosomów). Najgorsze rokowanie wiąże się z prawie haploidią, która występuje niemal wyłącznie u dzieci i często towarzyszą jej mutacje *RAS* i genu dla receptora kinazy tyrozynowej (RTK,

receptor tyrosine kinase). Niska hipodiploidia zwykle wiąże się z mutacjami prowadzącymi do utraty funkcji białka TP53. Podtyp B-ALL z hipodiploidią leczy się podobnie jak inne podtypy B-ALL. Według rekomendacji niektórych grup badawczych to zaburzenie jest wskazaniem do przeprowadzenia allo-HSCT w pierwszej remisji choroby (IIIA).

2.4.7.6. B-ALL/LBL z translokacją (5;14)(q31.1;q32.3); *IL3-IGH*

Rearanżacja *IL3-IGH* będąca wynikiem t(5;14) to bardzo rzadkie zaburzenie, które występuje w mniej niż 1% B-ALL/LBL. Często towarzyszy mu reaktywna eozynofilia, której obecność we krwi obwodowej powinna nasuwać podejrzenie rearanżacji *IL3-IGH*. U części chorych odsetek blastów w szpiku jest niski. W takiej sytuacji wykrycie t(5;14)(q31;q32); *IL3-IGH* jest wystarczające do potwierdzenia rozpoznania B-ALL/LBL. Leczenie i rokowanie nie wyróżniają tej białaczki spośród innych podtypów B-ALL/LBL.

2.4.7.7. B-ALL z translokacją (1;19)(q23;p13.3); *TCF3-PBX1*

Ten podtyp B-ALL stanowi około 6% B-ALL, choć wydaje się rzadziej występować u dorosłych niż u dzieci. Obejmuje również alternatywną translokację (17;19); *TCF3-HLF*. Historycznie obecność t(1;19) wiązano z niepomyślnym rokowaniem i zwiększonym ryzykiem zajęcia OUN. Wydaje się jednak, że wprowadzenie intensywnych programów chemioterapii zniósło niekorzystne rokowanie związane z tym zaburzeniem. Immunofenotypowo B-ALL z rearanżacją *TCF3-PBX1* charakteryzują nieobecność CD34 i silna ekspresja CD9 oraz w większości przypadków — ekspresja *BCL6*. Obecność rearanżacji *TCF3-HLF* wiąże się z niepomyślnym rokowaniem. Leczenie tej białaczki jest typowe, takie jak w innych podtypach B-ALL.

2.4.7.8. B-ALL typu *BCR-ABL1-like*

Ten podtyp występuje jako nowa tymczasowa jednostka w klasyfikacji WHO. Jest to grupa B-ALL charakteryzująca się profilem ekspresji genów zbliżonym do B-ALL z obecnością chromosomu Ph, w których nie stwierdza się jednak obecności t(9;22)/*BCR-ABL1*. Ten podtyp stanowi 10–25% B-ALL, jest rzadszy u dzieci z B-ALL standardowego ryzyka, a częstszy u młodzieży i dorosłych. Ryzyko jego wystąpienia jest również większe u chorych z zespołem Downa.

W B-ALL *BCR-ABL1-like* najczęściej występują translokacja *CRLF2*, którą wykrywa się w około połowie przypadków. Produkt białkowy translokacji *CRFL2* (TSLPR) ulega silnej ekspresji na komórkach białaczkowych i można go wykryć metodą MFC. Rzadziej występują rearanżacje prowadzące do zaburzeń i aktywacji receptora dla erytropoetyny (EPOR, *erythropoietin receptor*). W około połowie przypadków z translokacją *CRLF2* stwierdza się również mutacje *JAK2* lub *JAK1*. Inne częste mutacje dotyczą genów *IKZF1* i *CDKN2A/B*. Często stwierdza się również translokacje prowadzące do przeniesienia genu *ABL1* w region genów *ABL2*, *ABL2*, *PDGFRB*, *NTRK3*, *TYK2*, *CSF1R* i *JAK2*. U dzieci z rearanżacją *EBF1-PDGFRB* opornych na chemioterapię indukującą remisję opisywano spektakularne odpowiedzi na leczenie imatynibem i dazatynibem.

Rokowanie w B-ALL *BCR-ABL1-like* jest niepomyślne. Trwają badania nad możliwością poprawy wyników leczenia tego podtypu ALL za pomocą leczenia celowanego, przede wszystkim inhibitorów kinaz.

2.4.7.9. B-ALL z wewnątrzchromosomową amplifikacją chromosomu 21. (iAMP21)

Ten nowy tymczasowy podtyp białaczki charakteryzuje się amplifikacją części chromosomu 21. W badaniu FISH z użyciem sondy dla genu *RUNX1* wykrywa się 5 lub więcej kopii tego genu. Występuje u około 2% starszych dzieci, u dorosłych jest rzadko opisywany. Występowanie tego zaburzenia genetycznego jest niekorzystnym czynnikiem rokowniczym, jednak intensywna chemioterapia pozwala na poprawę rokowania.

2.4.7.10. ALL/LBL u kobiet w ciąży

Zachorowania na ALL/LBL w okresie ciąży są rzadkie i dotyczą około 1 na 75–100 tys. ciąż. Leczenie ALL/LBL w okresie ciąży jest poważnym problemem medycznym i etycznym. Postępowania w tej sytuacji klinicznej jest oparte na wiedzy pochodzącej z retrospektywnych analiz, opisów przypadków i doświadczeniu ośrodka leczącego.

Opieka nad chorymi powinna być prowadzona wspólnie z ginekologami. W I trymestrze cytostatyki mogą wywołać efekt teratogeny, o czym chora powinna zostać szczegółowo poinformowana w celu podjęcia decyzji dotyczącej dalszego postępowania dotyczącego ciąży i leczenia. Szczególnie działanie toksyczne na płód charakteryzuje metotreksat i L-asparaginazę. Metotreksat wywiera silny wpływ na organogenezę i nie powinien być podawany przed 20. tygodniem ciąży. L-asparaginaza dodatkowo zwiększa ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych. Leków z grupy TKI, które powinny być stosowane w ALL z obecnością Ph, są również teratogenne. Najmniejsze ryzyko działania teratogennego cechuje kortykosteroidy i alkaloidy *vinca*. W II trymestrze leczenie zwykle prowadzi się w sposób standardowy. W III trymestrze należy rozważyć wcześniejsze zakończenie ciąży i następnie włączenie leczenia po urodzeniu dziecka. Kobiety w trakcie chemioterapii nie mogą karmić piersią z powodu przenikania cytostatyków do mleka.

2.4.7.11. ALL/LBL u chorych z zespołem Downa

Występowanie ALL/LBL u chorych z zespołem Downa dotyczy głównie dzieci. W tej grupie pacjentów stwierdza się zwiększone ryzyko wystąpienia podtypu B-ALL *BCR-ABL1-like*. Leczenie jest typowe, tak jak w innych podtypach ALL/LBL Ph(-). Rokowanie w tej grupie chorych jest niepomyślne z powodu wysokiej częstości nawrotów i wysokiej śmiertelności związanej z ryzykiem ciężkich powikłań infekcyjnych w trakcie chemioterapii.

2.4.7.12. ALL z wczesnych prekursorów limfocytów T

Ten nowy, tymczasowy podtyp — ALL z wczesnych prekursorów limfocytów T (ETP-ALL, *early T-cell precursor ALL*) — stanowi 10–13% T-ALL u dzieci i 5–10% u dorosłych. Komórki nowotworowe cechują: ekspresja CD7, brak ekspresji CD1a i CD5 oraz dodatkowo ekspresja przynajmniej jednego antygenu charakterystycznego dla komórek mieloidalnych i komórek macierzystych, do których zalicza się CD34, CD117, HLADR, CD13, CD33, CD11b, lub CD65. W ETP-ALL występują mutacje, które częściej stwierdza się w białaczkach mieloidalnymi niż limfoidalnych, takie jak mutacje genów *FLT3*, *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2* oraz genów rodziny Ras. Ten podtyp początkowo wydawał się wiązać z niepomyślnym rokowaniem, jednak w badaniach obejmujących większe grupy chorych, w których stosowano protokoły intensywnej chemioterapii, różnice w wynikach leczenia ETP-ALL i innych podtypów ALL nie były znamienne statystycznie.

Piśmiennictwo

1. Arber D.A., Orazi A., Hasserjian R. i wsp. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016; 127: 2391–405.
2. Swerdlow S., Campo E., Harris N.L. i wsp. (red.). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Revised Fourth Edition. IARC, 2017.
3. Hoelzer D., Bassan R., Dombret H. i wsp.; ESMO Guidelines Committee. Acute lymphoblastic leukaemia in adult patients: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2016; 27 (supl. 5): v69–v82.
4. Sant M., Allemani C., Tereanu C. i wsp.; HAEMACARE Working Group. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010; 116: 3724–3734.
5. Béné M.C., Nebe T., Bettelheim P. i wsp. Immunophenotyping of acute leukemia and lymphoproliferative disorders: a consensus proposal of the European LeukemiaNet Work Package 10. *Leukemia* 2011; 25: 567–574.
6. Bassan R., Spinelli O., Oldani E. i wsp. Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2009; 113: 4153–4162.
7. Giebel S., Marks D.L., Boissel N. i wsp. Hematopoietic stem cell transplantation for adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia in first remission: a position statement of the European Working Group for Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (EWALL) and the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Bone Marrow Transplant.* 2019; 54: 798–809.
8. Holowiecki J., Krawczyk-Kulis M., Giebel S. i wsp. Status of minimal residual disease after induction predicts outcome in both standard and high-risk Ph-negative adult acute lymphoblastic leukaemia. The Polish Adult Leukemia Group ALL 4-2002 MRD Study. *Br. J. Haematol.* 2008; 142: 227–237.
9. Thomas D.A., O'Brien S., Faderl S. i wsp. Chemoimmunotherapy with a modified hyper-CVAD and rituximab regimen improves outcome in de novo Philadelphia chromosome-negative precursor B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 3880–3889.
10. Maury S., Chevret S., Thomas X. i wsp.; for GRAALL. Rituximab in B-lineage adult acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375: 1044–1053.
11. Giebel S., Czyz A., Ottmann O. i wsp. Use of tyrosine kinase inhibitors to prevent relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a position statement of the Acute Leukemia Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Cancer* 2016; 122: 2941–2951.
12. Chalandon Y., Thomas X., Hayette S. i wsp.; Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia (GRAALL). Randomized study of reduced-intensity chemotherapy combined with imatinib in adults with Ph-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015; 125: 3711–3719.

13. Chiaretti S., Vitale A., Vignetti M. i wsp. A sequential approach with imatinib, chemotherapy and transplant for adult Ph+ acute lymphoblastic leukemia: final results of the GIMEMA LAL 0904 study. *Haematologica* 2016; 101: 1544–1552.
14. Vignetti M., Fazi P., Cimino G. i wsp. Imatinib plus steroids induces complete remissions and prolonged survival in elderly Philadelphia chromosome-positive patients with acute lymphoblastic leukemia without additional chemotherapy: results of the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche dell'Adulto (GIMEMA) LAL0201-B protocol. *Blood* 2007; 109: 3676–3678.
15. Giebel S., Krawczyk-Kuliś M., Adamczyk-Cioch M. i wsp.; Polish Adult Leukemia Group. Prophylaxis and therapy of central nervous system involvement in adult acute lymphoblastic leukemia: recommendations of the Polish Adult Leukemia Group. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2008; 118: 356–361.
16. Giebel S., Thomas X., Hallbook H. i wsp. The prophylactic use of granulocyte-colony stimulating factor during remission induction is associated with increased leukaemia-free survival of adults with acute lymphoblastic leukaemia: a joint analysis of five randomised trials on behalf of the EWALL. *Eur. J. Cancer* 2012; 48: 360–367.
17. Giebel S., Krawczyk-Kulis M., Adamczyk-Cioch M. i wsp.; Polish Adult Leukemia Group. Fludarabine, cytarabine, and mitoxantrone (FLAM) for the treatment of relapsed and refractory adult acute lymphoblastic leukemia. A phase study by the Polish Adult Leukemia Group (PALG). *Ann. Hematol.* 2006; 85: 717–722.
18. Kantarjian H., Stein A., Gökbuget N. i wsp. Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2017; 376: 836–847.
19. Kantarjian H.M., DeAngelo D.J., Stelljes M. i wsp. Inotuzumab ozogamicin versus standard therapy for acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2016; 375: 740–753.
20. Gökbuget N., Basara N., Baurmann H. i wsp. High single-drug activity of nelarabine in relapsed T-lymphoblastic leukemia/lymphoma offers curative option with subsequent stem cell transplantation. *Blood* 2011; 118: 3504–3511.
21. Giebel S., Labopin M., Potter M. i wsp. Comparable results of autologous and allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for adults with Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukaemia in first complete molecular remission: an analysis by the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. *Eur. J. Cancer* 2018; 96: 73–81.
22. Pfeifer H., Wassmann B., Bethge W. i wsp.; GMALL Study Group. Randomized comparison of prophylactic and minimal residual disease-triggered imatinib after allogeneic stem cell transplantation for BCR-ABL1-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2013; 27: 1254–1262.
23. Pfeifer H., Lange T., Wystub S. i wsp. Prevalence and dynamics of bcr-abl kinase domain mutations during imatinib treatment differ in patients with newly diagnosed and recurrent bcr-abl positive acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2012; 26: 1475–1481.
24. Ottmann O., Dombret H., Martinelli G. i wsp. Dasatinib induces rapid hematologic and cytogenetic responses in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia with resistance or intolerance to imatinib: interim results of a phase 2 study. *Blood* 2007; 110: 2309–2315.