

Медицинский университет г.Астана

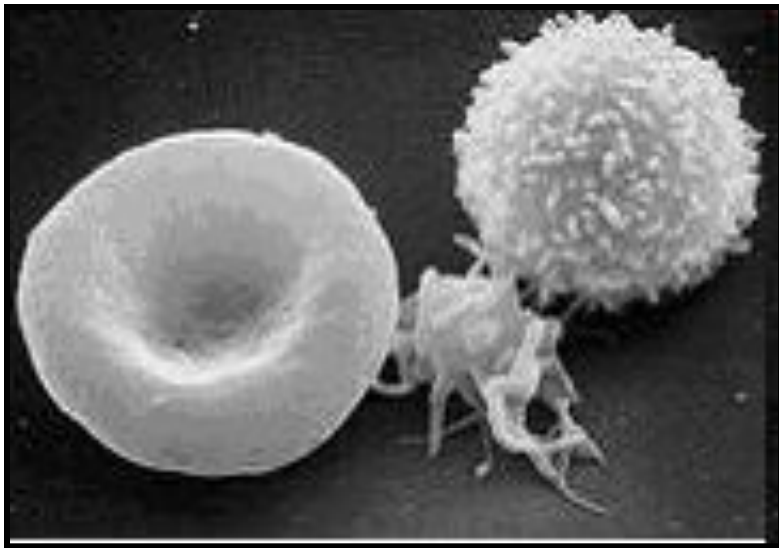
Методы диагностики острого лейкоза

Проверила Ахмеджанова Ш.К.

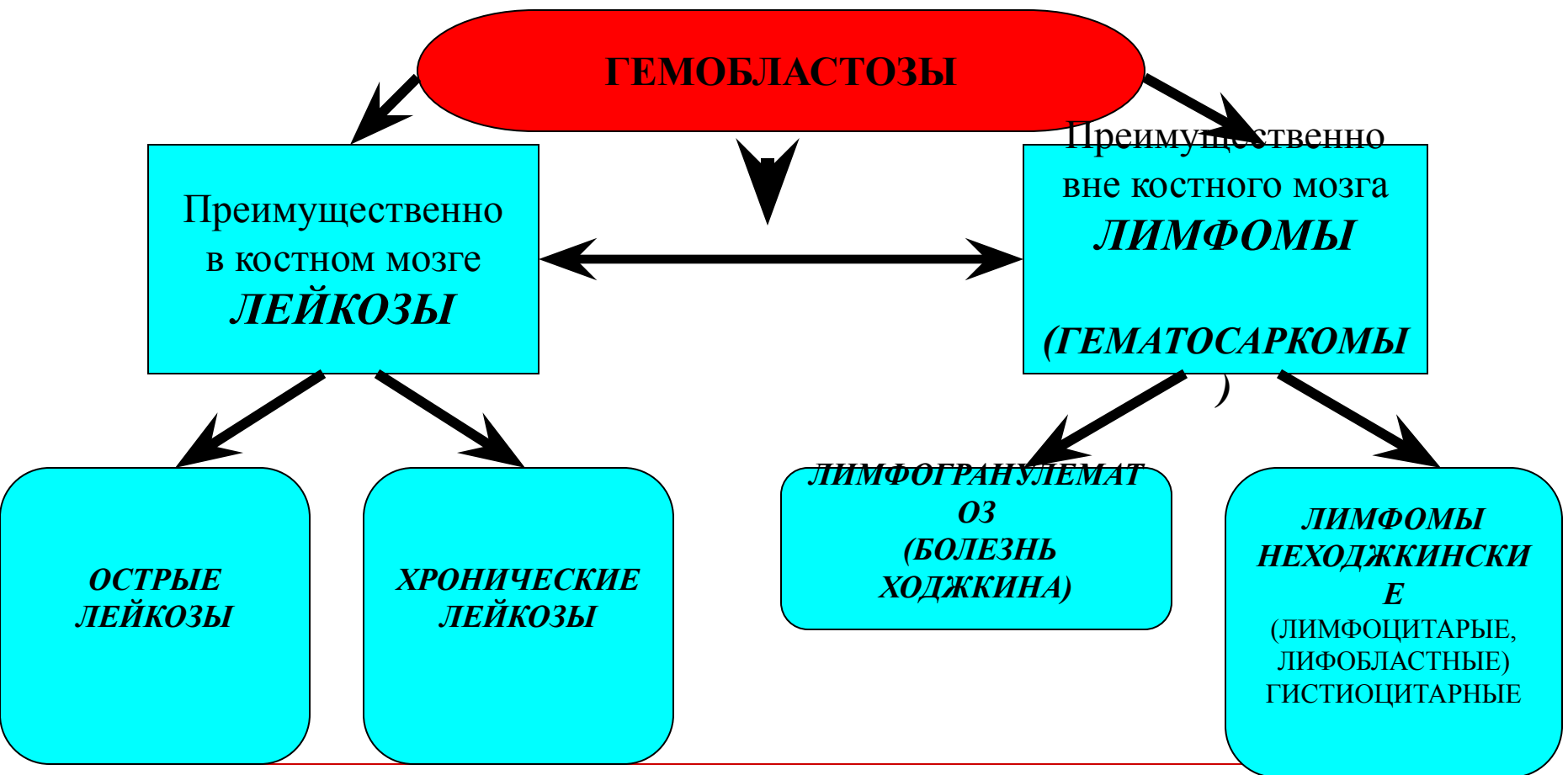
Выполнила: Ибрайханова У.М.

4 курс «Общая медицина»

468 ОМ



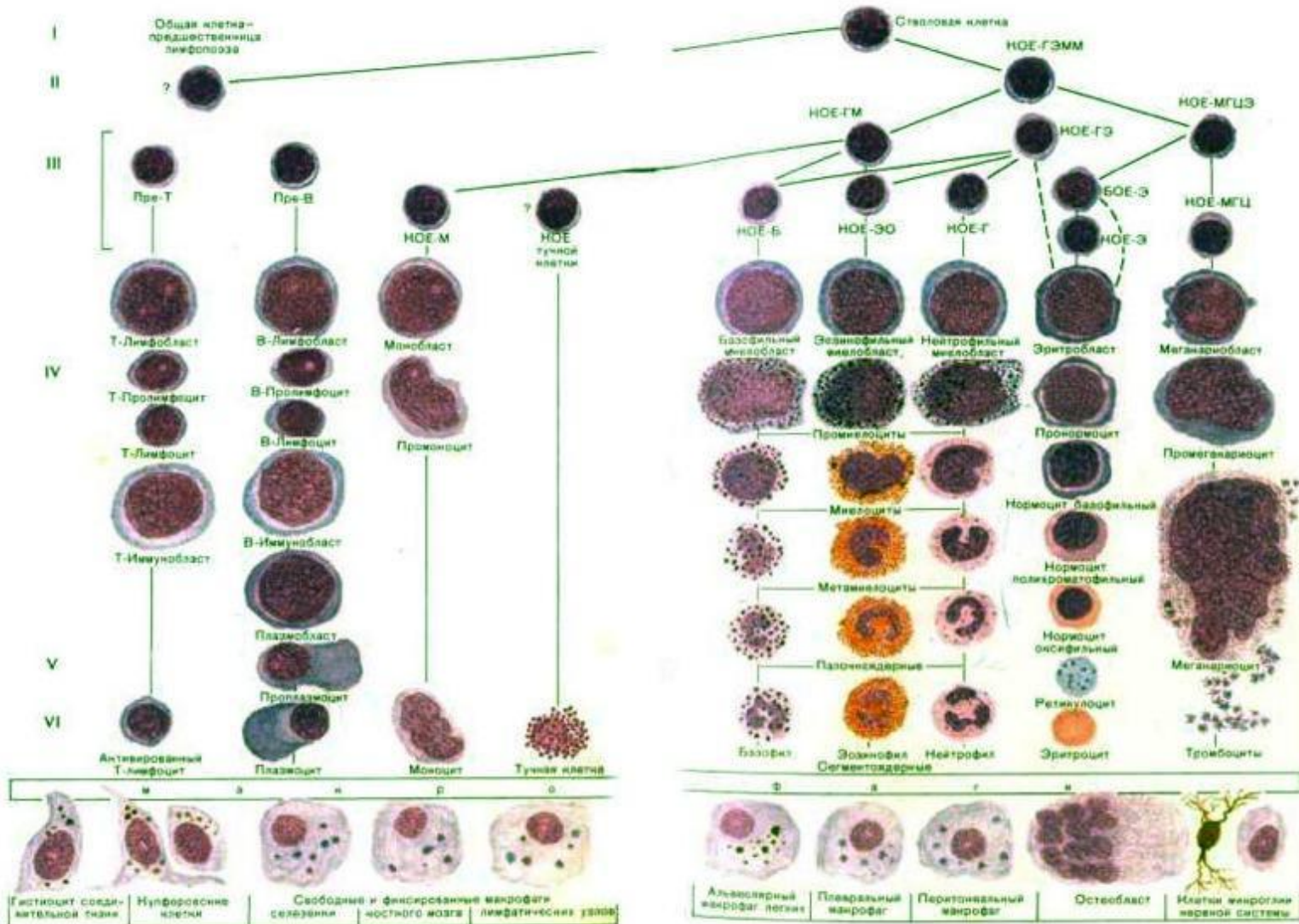
ОПРЕДЕЛЕНИЕ



ОПРЕДЕЛЕНИЕ

- Традиционно все лейкозы делятся на острые (ОЛ) и хронические (ХЛ)
- Выделение ОЛ и ХЛ основано на способности опухолевых клеток к дифференцировке (созреванию).
- **Хронический вариант** лейкемии диагностируется в случае, когда опухолевая клетка на определенном этапе болезни способна к дифференцировке.
- **Острый лейкоз** диагностируется в случае, когда первично мутировавшая гемопоэтическая клетка не способна к дифференцировке, а может лишь воспроизводить саму себя, что приводит к накоплению огромного количества незрелых бластных клеток и угнетение нормального кроветворения.

Схема кроветворения



ЭТИОЛОГИЯ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

«В основе опухолевого роста всех гемобластозов лежит **клональность** – каждый лейкоз или гематосаркома всей массой своих клеток обязаны мутации в их родоначальной клетке»

(Воробьев А.И.)

ЭТИОЛОГИЯ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

- Ионизирующая радиация, лучевая терапия (20-40 рад)
 - Химические мутагены (цитостатические препараты: мустарген, циклофосфан и др.); например, вторичные лейкозы после лечения лимфогранулематоза комбинацией лучевой терапии и мустаргена
 - Вирусы (Эпштейн-Барр – лимфома Беркитта). Вирус – стимулятор.
 - Наследственность
-

Этиология и эпидемиология лейкозов

Риск лейкоза в отдельных популяционных группах (Миллер Д.Р., 1990)

Группы риска	Установленный риск	Относительный риск по отношению к риску у здоровых детей
Здоровые дети	1 :23 750 до 15-летнего возраста	1,0
	1:28 000 до 10-летнего возраста	1,0
Братья, сестры ребенка, больного лейкозом	1 :21 800 до 15-летнего возраста	1,1
Идентичные близнецы ребенка, больного лейкозом	1:8 до 10-летнего возраста	350,0
Болезнь Дауна	1:74 до 10-летнего возраста	37,0
Анемия Фанкони	1:12 до возраста 21 год	1979,0
Синдром Блума	1:8 до возраста 26 лет	2960,0
Синдром Луи-Бар	1 :8 до возраста 25 лет	2960,0
Лица, подвергшиеся облучению:		
Находившиеся в пределах 1 км от взрыва атомной бомбы	1:60 в течение 12 лет	47,0
После рентгенотерапии в связи с:		
анкилозирующим спондилезом	1:720 в течение 25 лет	33,0
полицитемией	1 :6 в течение 12 лет	457,0
Контакт с бензолом	11960 в течение 12 лет	2,9

ПАТОГЕНЕЗ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

- Клональность – излечение
 - Опухолевая прогрессия – 10^3 - 10^6 - 10^{12}
 - Гемобластозы проходят 2 стадии
 - Моноклоновую
 - Поликлоновую
 - ***Угнетение ростков кроветворения (особенно гомолога)***
 - Закономерно развитие бластного криза – смена зрелых клеток – бластными
 - Все внекостномозговые гемобластозы способны лейкемизироваться
 - Метастазы лейкоза (нейролейкемия, гонады) – это другой субклон
 - Резистентность к терапии - это качественно новый этап развития опухоли
-
- Апоптоз (p53, bcl – 2)

ИСТОРИЯ ВОПРОСА (ОЛ)

- Острый лейкоз выделен в отдельную нозологию в середине 19 века
 - Миелобласт описан в 1900 г. Нагели, он же разделил лейкозы на миелоидные и лимфоидные
 - Острый моноцитарный лейкоз описан в 1913 году Решадам
 - Острый промиелоцитарный лейкоз в 1957 Хильштадом
-

АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ

- Острый лейкоз заканчивается летально без лечения в 100%
 - До эры химиопрепаратов все больные погибали в течение 3 месяцев от инфекций либо геморрагий
 - За 50 лет достигнуты большие успехи в терапии лейкозов – 5 выживаемость – 70%, а в ряде случаев *выздоровление*.
 - Полихимиотерапия, пересадка костного мозга и таргетные препараты
-

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

- Острый лейкоз составляет 3% от всех злокачественных заболеваний
 - Заболеваемость 5 случаев на 100000
 - 75% случаев диагностируется у взрослых, соотношение миелоидных и лимфоидных у взрослых 6:1
 - У детей 80-90% всех лейкозов лимфоидные, средний возраст около 10 лет
 - Острые миелоидные лейкозы болезнь пожилых людей, средний возраст 60-65 лет.
-

Принципы клинико-лабораторной диагностики лейкозов

- 1. Особенности клинической картины**
 - ***Интоксикационный синдром*** (более выражен при острых лейкозах)
 - ***Анемический*** (циркуляторно-гипоксический синдром)
 - ***Лимфопролиферативный синдром*** (лимфоаденопатия и спленомегалия - более характерны для лимфоидных лейкозов)
 - ***Геморрагический синдром***
 - ***Инфекционный синдром*** (лихорадка, некротические ангины, септическое состояние)
 - ***Поражение кожи*** (лейкемиды)
 - **Нейролейкемия** (параличи, парезы, комы неясного генеза) – чаще при лимфобластных лейкозах
 - **Поражение гонад**

Принципы клинико-лабораторной диагностики лейкозов

2. Изменения в периферической крови подозрительные на лейкоз:

- Гипоплазия 2-х ростков кроветворения (анемия и тромбоцитопения, лейкопения и тромбоцитопения, лейкопения и анемия)
- Лейкоцитоз свыше 20×10^9 при отсутствии признаков явного инфекционного процесса
- Лимфоцитоз $> 48 \%$
- Одновременно эритроцитоз, гемоглобинемия, лейкоцитоз, тромбоцитоз

Лабораторная диагностика ОЛЛ

(КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ)

- 1. Анемия** как правило нормохромная (снижение гемоглобина ниже 100 г/л) выявляется у 85% пациентов
- 2. Лейкопения** менее $4 \times 10^9/\text{л}$ - у 20%, а **лейкоцитоз** более $10 \times 10^9/\text{л}$ - у 50% пациентов
- 3. Тромбоцитопения** менее $100 \times 10^9/\text{л}$ - у 80% пациентов.
- Практически у всех больных (98%) в периферической крови выявляются **бластные клетки**.
- Характерно, так называемое, "**лейкемическое зияние**": в лейкоцитарной формуле больного ОЛЛ регистрируются бластные формы и далее без наличия переходных форм (промиелоцитов и миелоцитов) имеются зрелые гранулоциты, число которых может быть значительно снижено за счет увеличения содержания лимфоцитов или бластных клеток.

КЛАССИФИКАЦИЯ ЛЕЙКОЗОВ (FAB, 1976)

Нелимфобластные (миелоидные)	Лимфобластные
M0 — острый миелобластный лейкоз без признаков созревания	L1 лимфобласты - типичные микролимфобласты со скудной цитоплазмой
M1 — острый миелобластный лейкоз с минимальными признаками созревания	L2 лимфобласты - большие с избытком умеренно базофильной цитоплазмы, отчетливыми 1 - 3 ядрышками, большинство из которых неправильной формы
M2 — острый миелобластный лейкоз с созреванием	L3 лимфобласты - клетки с выраженной базофилией цитоплазмы и часто с ее вакуолизацией
M3 — острый промиелоцитарный лейкоз	
M4 — острый миеломонобластный лейкоз	
M5a — острый монобластный лейкоз без дифференцировки	
M5b — острый монобластный лейкоз с дифференцировкой	
M6 — острый эритролейкоз	
M7 — мегакариоцитарный лейкоз	

ДИАГНОСТИКА ЛЕЙКОЗОВ

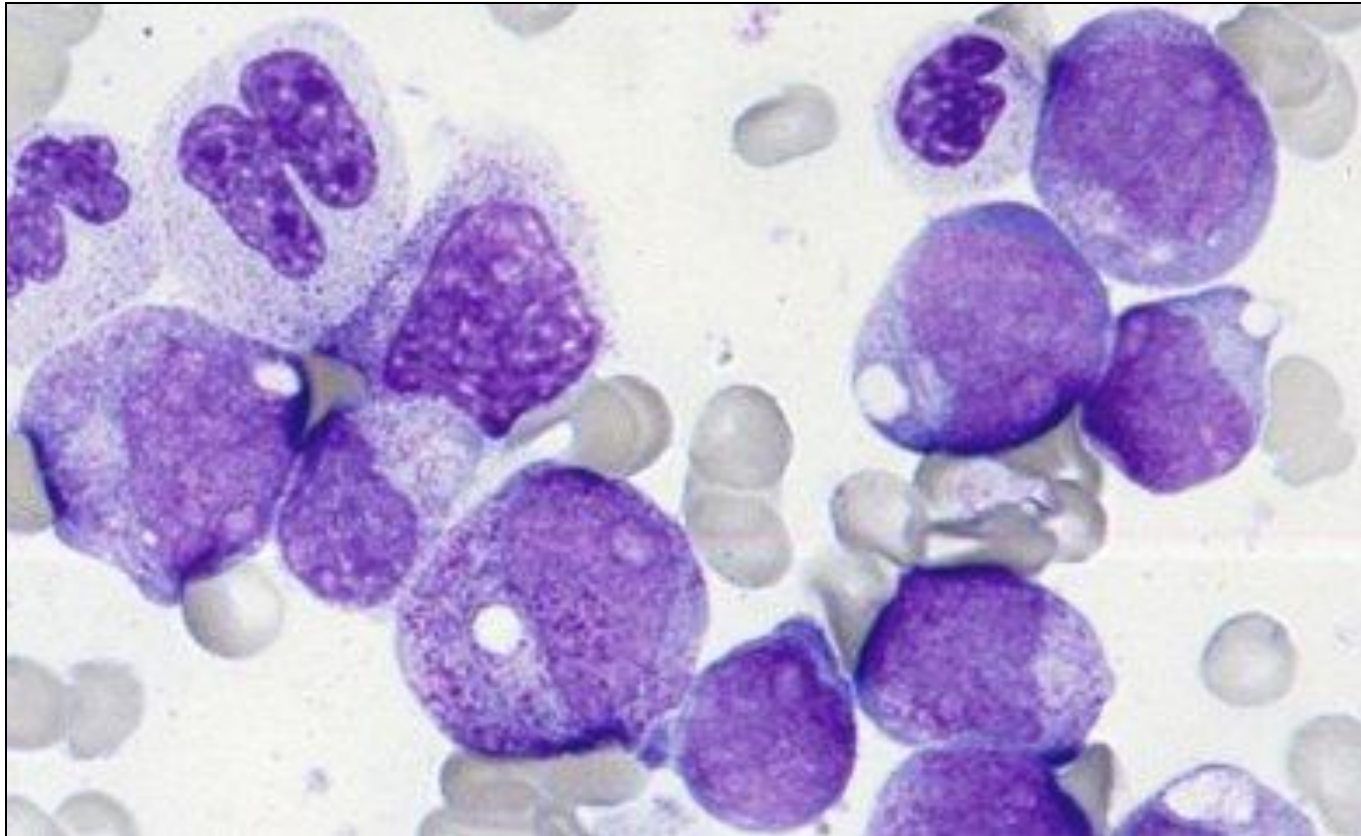
- Клинический анализ крови + морфология
- Морфология клеток костного мозга (пунктат костного мозга)

Диагноз острого лейкоза можно установить

только морфологически – по обнаружению *несомненно бластных опухолевых клеток* в крови или костном мозге – 20% бластов

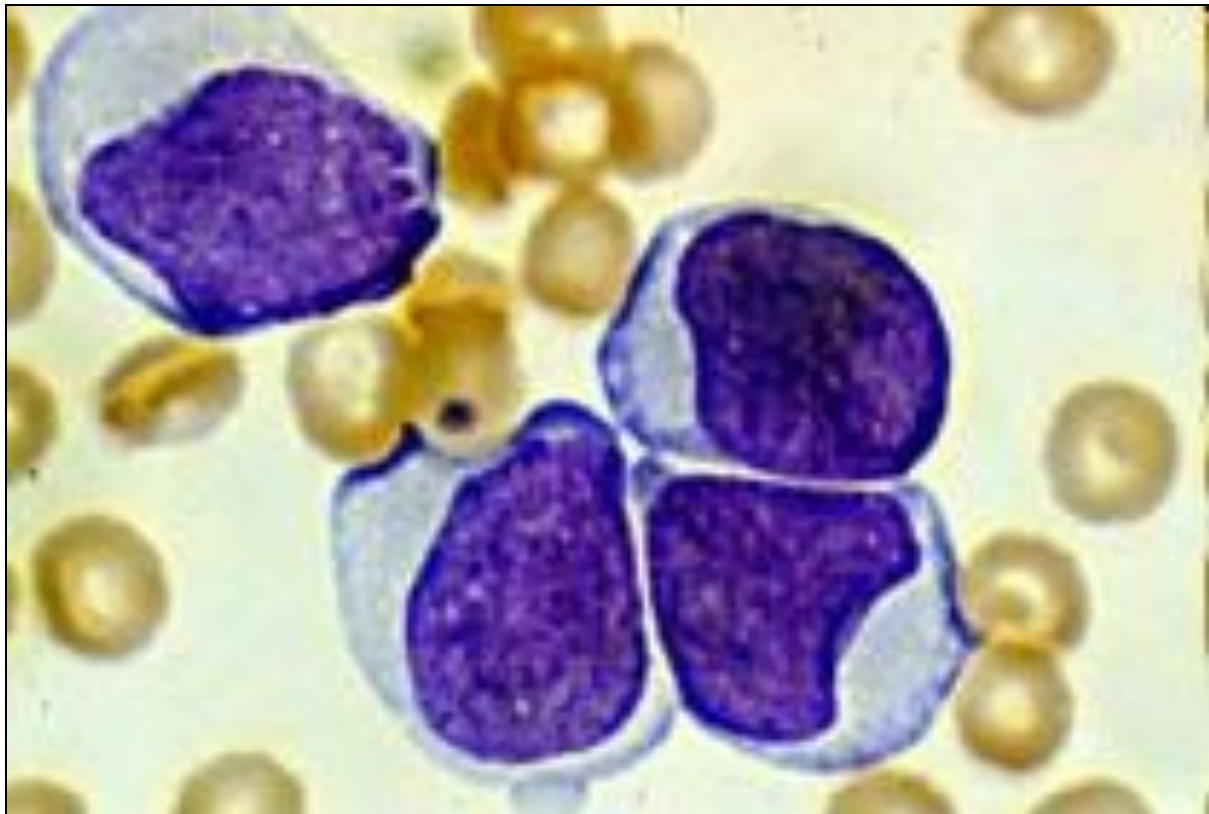
- Гистологические исследования костного мозга (трепанобиопсия)
 - Иммуногистохимические исследования
-

Острый миелоидный лейкоз



Костный мозг

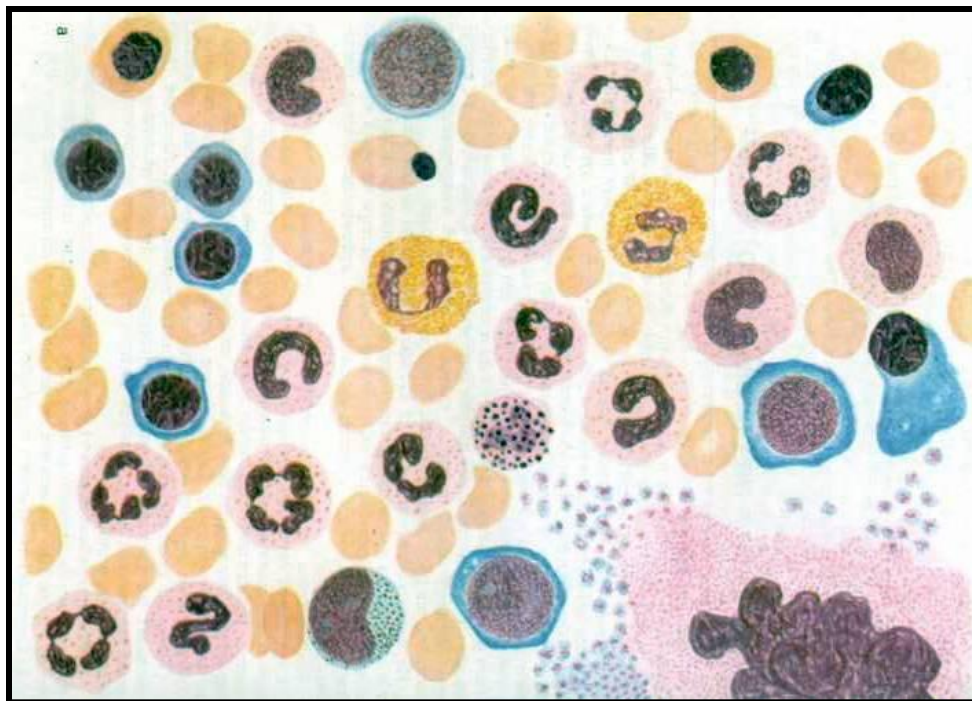
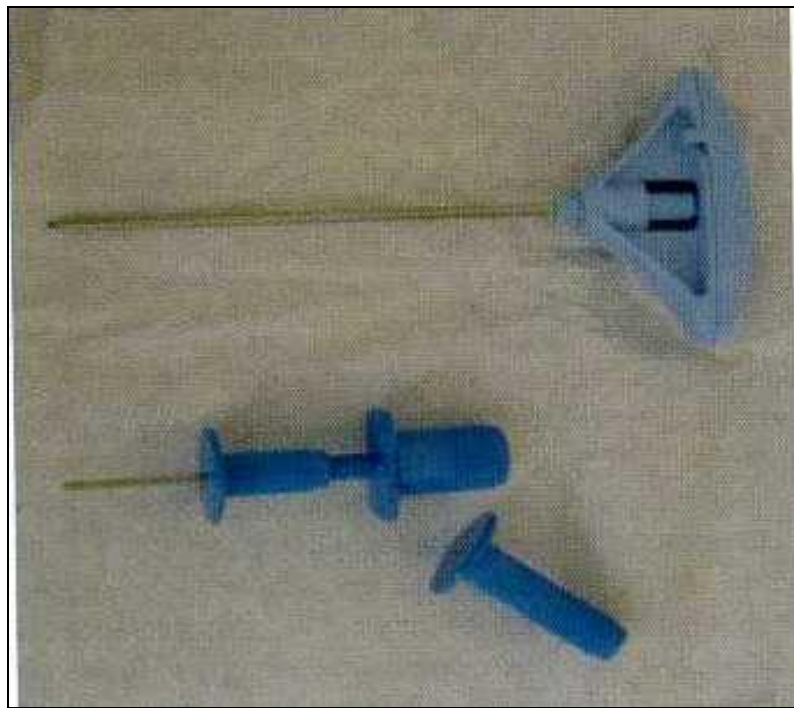
Острый лимфобластный лейкоз

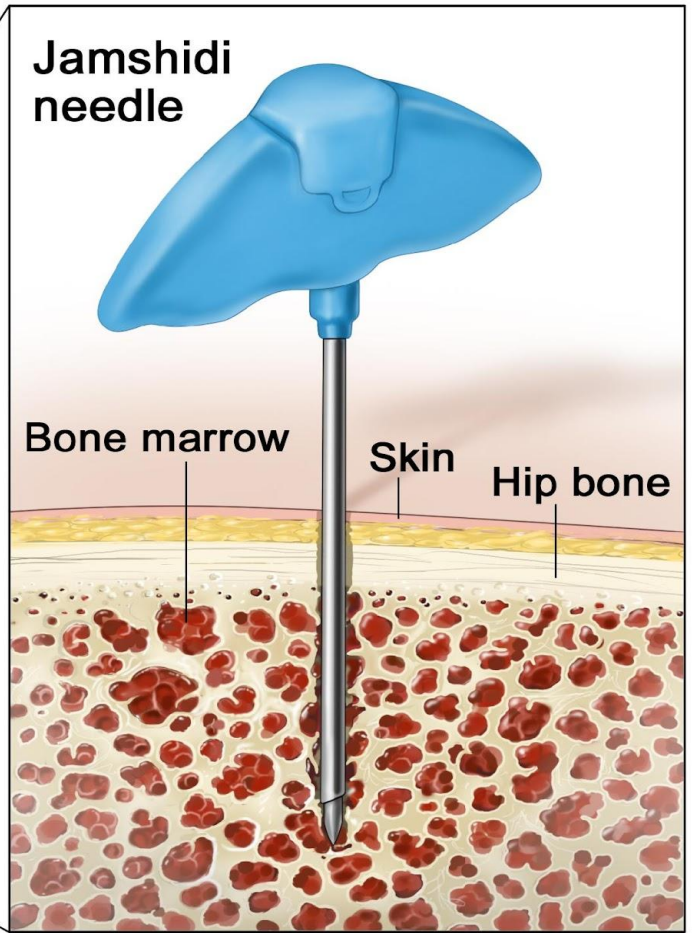
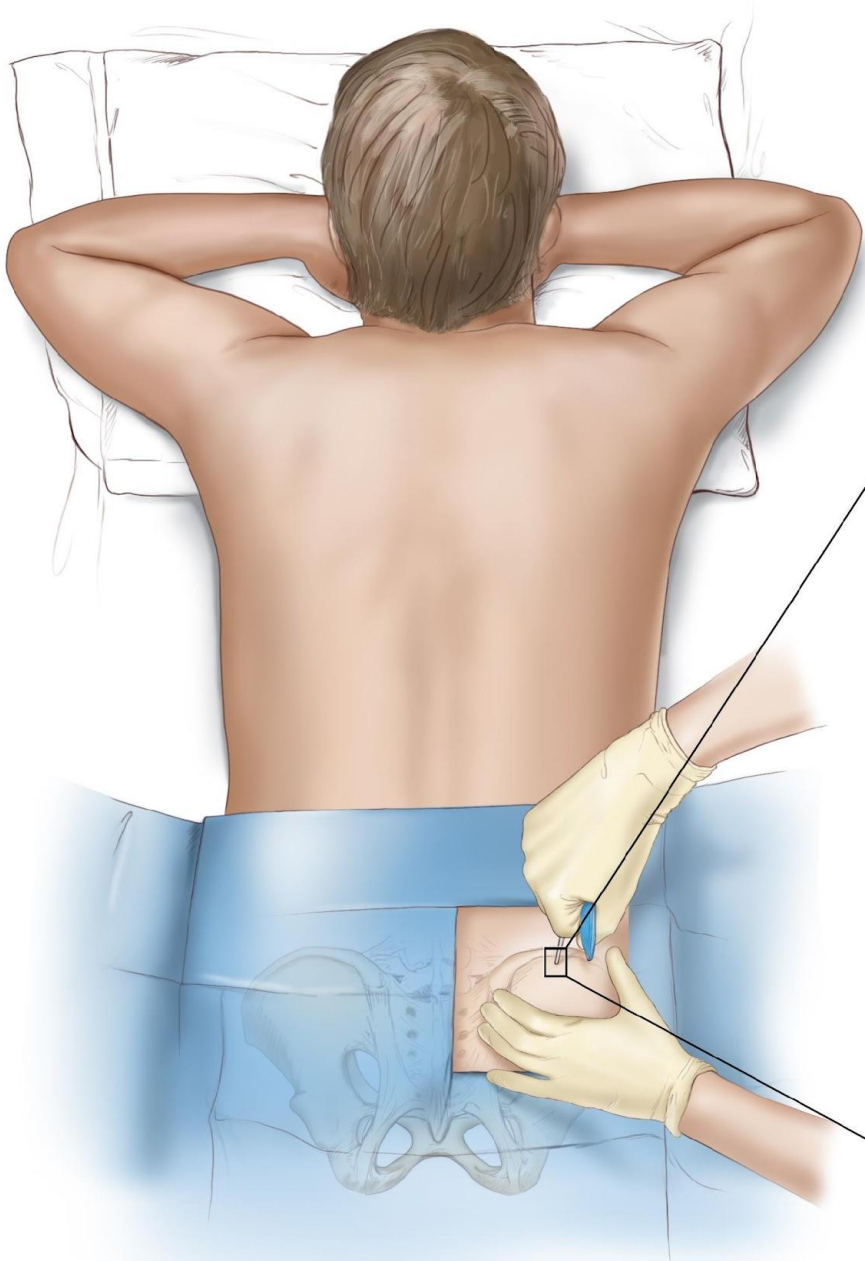


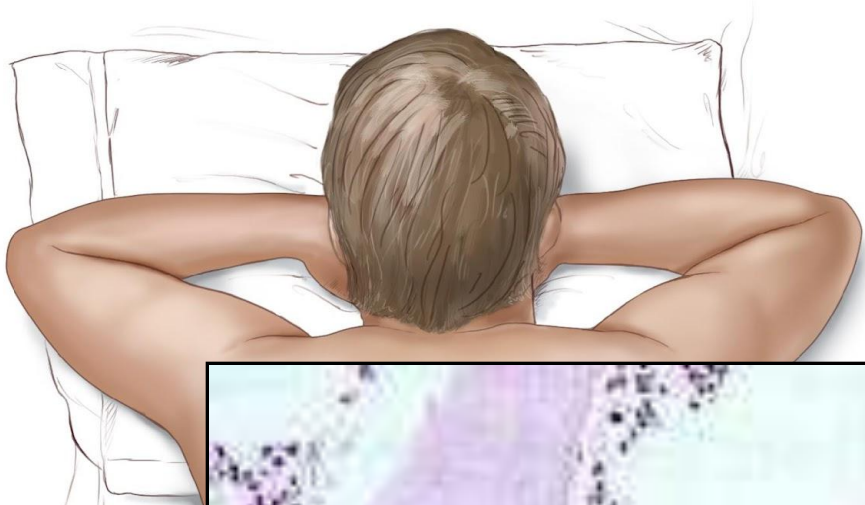
ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ КРОВЬ

РУТИННЫЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ

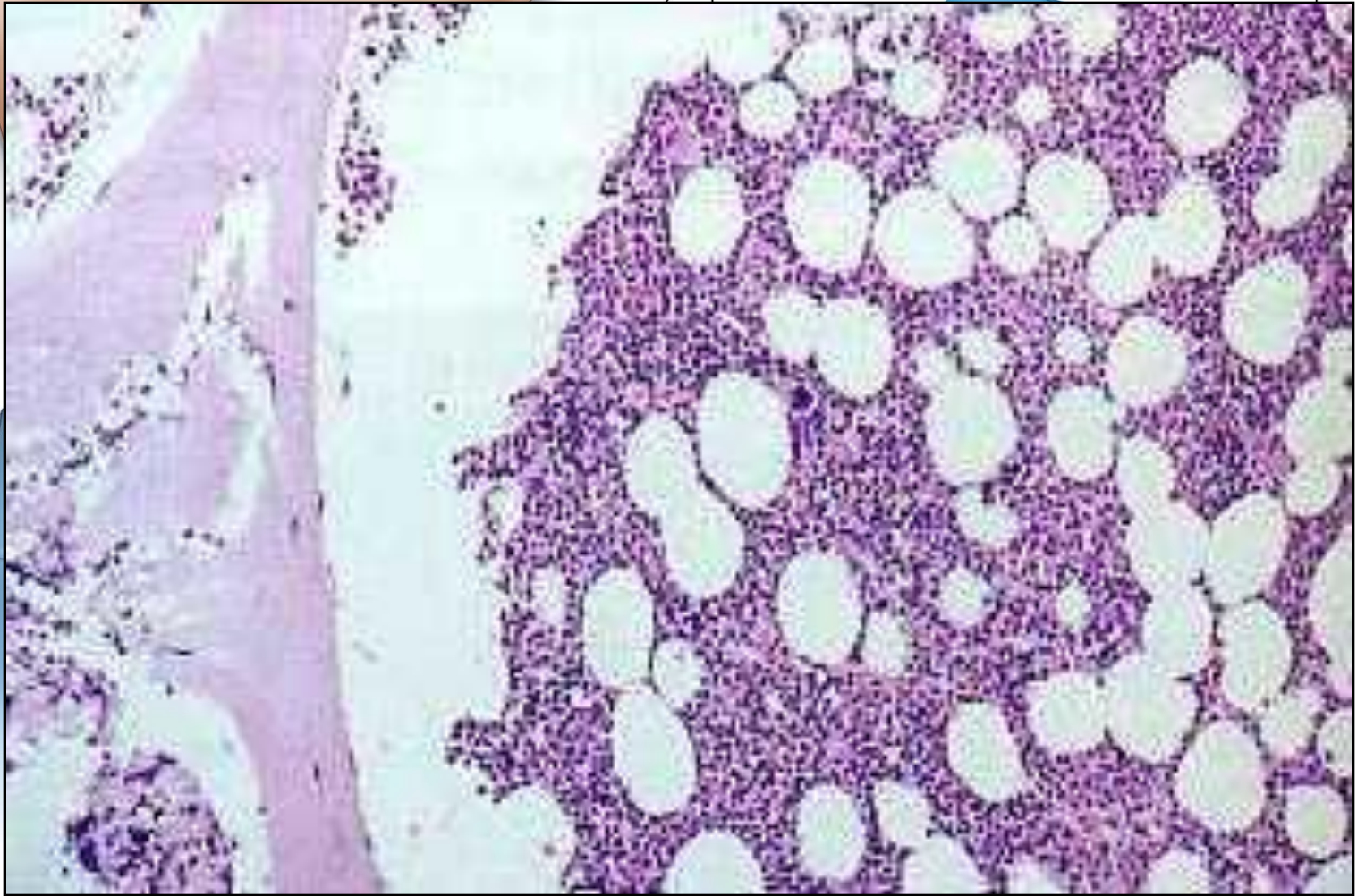
Морфологическая оценка аспирата костного мозга (миелограмма)







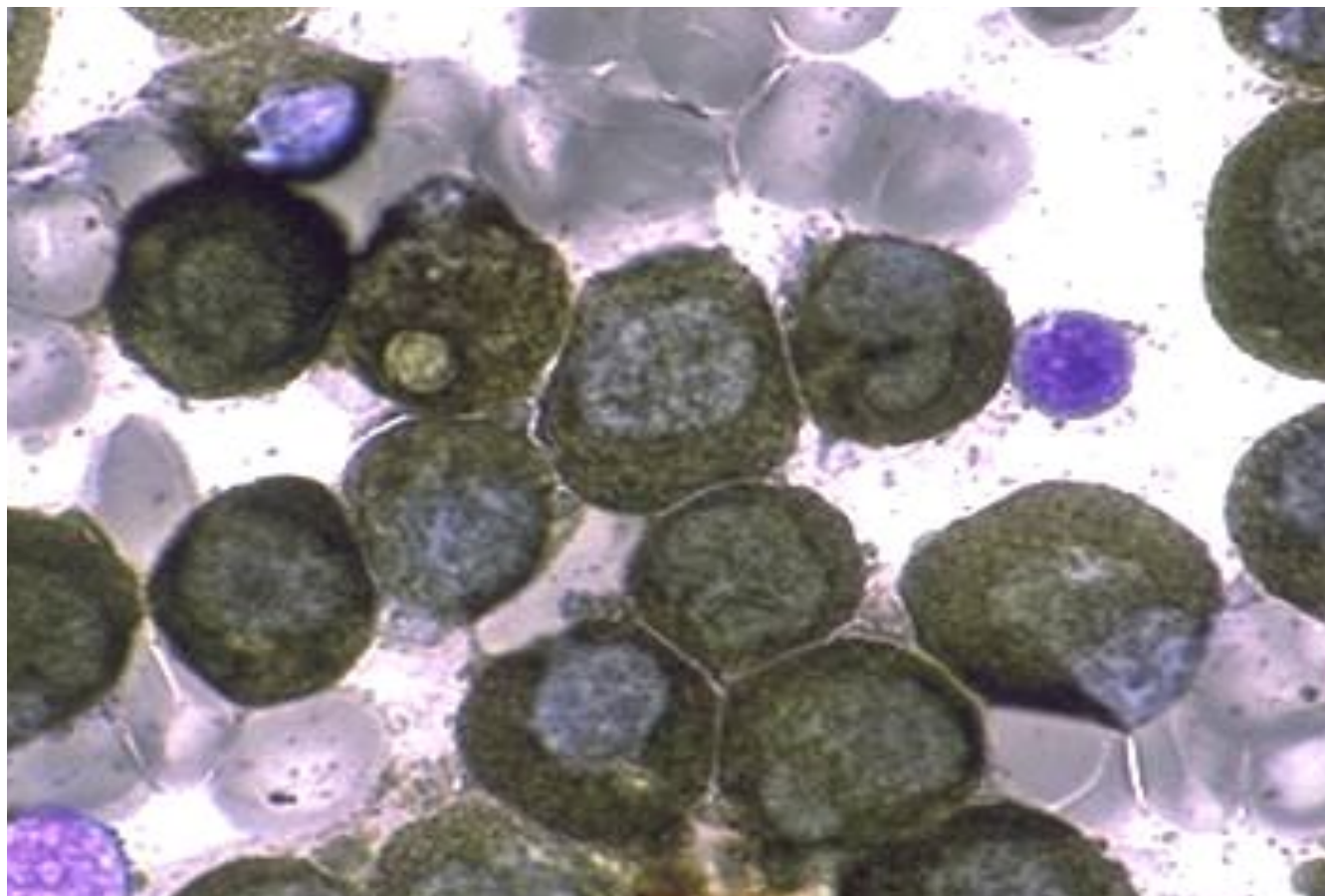
Jamshidi



Цитохимия острых лейкозов

1. При **острых лимфобластных лейкозах** определяется отрицательная реакция на пероксидазу, липиды, хлорацетатэстеразу.
2. При **острых миелобластных лейкозах** - положительная реакция на миелопероксидазу, липиды, хлорацетатэстеразу. ШИК-реакция зависит от формы острого миелоидного лейкоза.
3. Маркер моноцитарного ряда выраженная активность неспецифической эстеразы, ингибируемая NaF

Положительная реакция на миелопероксидазу при ОМЛ



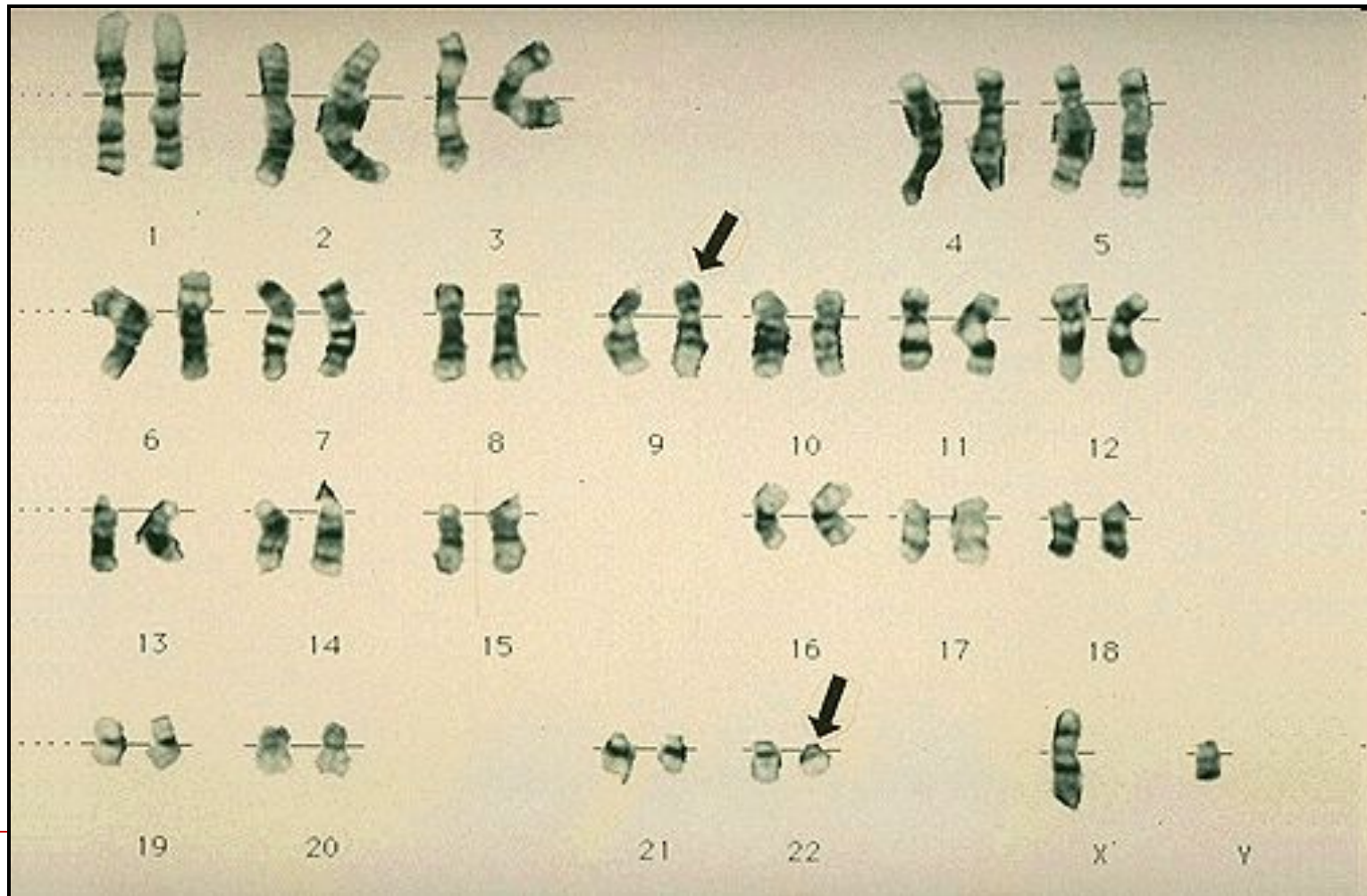
Цитогенетические исследования

- G-бенд
 - FISH – метод
 - ПЦР
 - Транслокации
 - Делеции
 - Инверсии
-

Диагностические и прогностические мутации

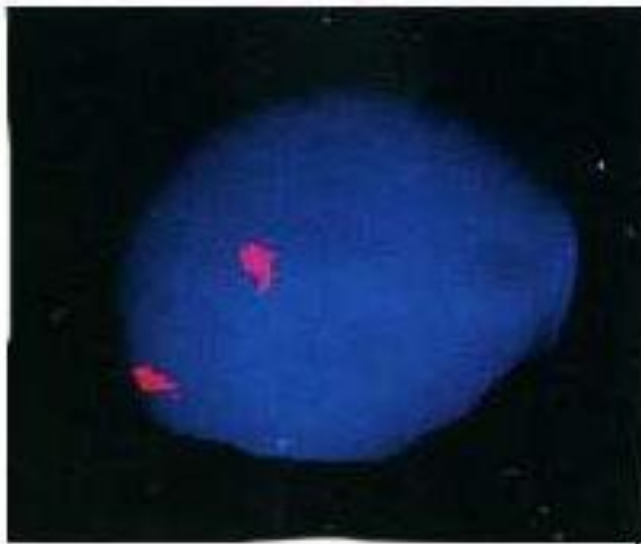
- Миелоидные лейкозы
 - $t(8;21)$ – AML-ETO – M2
 - $t(15;17)$ – PML-RAR α – M3
 - Inv (16) – M4
 - $t(1;22)$ – M7
 - Лимфобластные лейкозы
 - $t(9;22)$ – p190
 - $t(4;11)$
 - $t(1;19)$
-

Филадельфийская хромосома



FISH- МЕТОД (ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ IN SITU)

Флуоресцентная гибридизация in situ. На срезах цитогенетического образца была проведена гибридизация ДНК с фрагментами этой нуклеиновой кислоты, мечеными флуоресцентными метками. Метили гены хромосомы 7. (а) Здоровый донор - видны два флуоресцентных сигнала. (б) Пациент с миелодисплазией - обнаружена моносомия по хромосоме 7.



Иммунофенотипирование

- Клетки крови обрабатываются моноклональными антителами с флюоресцирующей меткой и направляются с потоком жидкости в капилляр освещенный лазером. Методика чрезвычайно эффективна в диагностике лейкозов.
- Характеристика лейкоemий с помощью иммунофенотипирования особенно полезна, когда морфологию лейкозных клеток трудно интерпретировать.


Иммунофенотипирование

- Для подтверждения миелоидной природы лейкоза применяют МАТ к антигенам CD11, CD13, CD15, CD33, CDw65 и MPO
 - Коэкспрессия CD14 и CD64 характерна для меломоно-и монобластных лейкозов
 - M7- CD41, CD42, CD61
 - M6-гликофорин А
 - Лимфобластные – CD22, CD19
-

СОВРЕМЕННОЕ ЛЕЧЕНИЕ ЛЕЙКОЗОВ

- Полихимиотерапия
 - Сопроводительная терапия
 - Аллогенная трансплантация
костного мозга
 - Аутологичная трансплантация
костного мозга
-

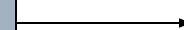
ПОЛИХИМИОТЕРАПИЯ

- Индукция ремиссии  10^{12} → 10^6
 - Консолидация ремиссии
 - Поддерживающая терапия
 - Профилактика нейролейкемии
-

ВЫСОКОДОЗНАЯ ХИМИОТЕРАПИЯ

□ Индукция ремиссии

10^{12}



10^6

□ Консолидация ремиссии



~~10^6~~

□ Поддерживающая терапия

□ Профилактика нейролейкемии

Классификация химиопрепаратов

- Алкилирующие агенты (лейкеран, мелфолан, циклофосфан)
 - Антиметаболиты (метотрексат, цитарабин, меркаптопурин)
 - Противоопухолевые антибиотики (доксорубицин, даунорубицин, митоксантрол)
 - Препараты растительного происхождения (винкристин, винбластин)
 - Другие (ферменты, гормоны)
-

Принципы химиотерапии

- Учет конкретной формы лейкозы
 - Комбинация химиопрепаратов
 - Расчет дозы химиопрепаратов на m^2
 - Четкое соблюдение интервалов между курсами
 - Т.Е. полное и четкое выполнение протокола лечения.
 - Адекватная сопроводительная терапия
-

Программа лечения ОМЛ

(ГемЦентр РАМН (Савченко В.Г., Паровичникова Е.
Н.-2008 г.)



- **7+3 – Цитарабин** 100 мг/м² 2 раза в день каждые 12 часов внутривенно струйно на 50 мл физ. раствора в 1-7 день цикла + **Даунорубицин** – 45 мг/м² быстрая инфузия на 50 мл физ. Раствора в 1-3 день курса, через 2 часа после введения цитарабина
- **HAM – Цитарабин** 3000 мг/м² каждые 12 часов внутривенно капельно на 400 мл физ. раствора в течение 3 часов в 1-3 день курса + Митоксантрол 10 мг/кг в/в короткая (не более 10 мин) инфузия на 50 мл физ. Раствора в 3-5 дни курса, через 2 часа после введения цитарабина
- **HiDAC – Цитарабин** 3000 мг/м² каждые 12 часов внутривенно капельно на 400 мл физ. раствора в течение 3 часов в 1,3,5дни курса.

Осложнения химиотерапии (ЦИТОСТАТИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ)

- Миелотоксический агранулоцитоз
(всегда)- через неделю после курса
 - Инфекции
 - Сепсис
 - Пневмония
 - Стоматит
 - Проктит
 - Некротическая энтеропатия
-

СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ ЛЕЙКОЗОВ

- ❑ **Стерильный блок!!**
 - ❑ **Современные антибиотики и противогрибковые препараты**
 - ❑ **Тромбоцитарная масса**
 - ❑ **Эритроцитарная масса**
 - ❑ **Свежезамороженная плазма**
 - ❑ Профилактика синдрома лизиса опухоли – адекватная водная нагрузка, форсированный диурез, аллопуринол
 - ❑ Профилактика тошноты и рвоты
-

СОПРОВОДИТЕЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ ЛЕЙКОЗОВ

- ❑ **Стерильный блок!!**
- ❑ **Современные антибиотики**
- ❑ **противогрибковые препараты**
- ❑ **Тромбоцитарная масса**
- ❑ **Эритроцитарная масса**
- ❑ **Свежезамороженная плазма**
- ❑ Профилактика синдрома лизиса опухоли – адекватная водная нагрузка, форсированный диурез, аллопуринол
- ❑ Профилактика тошноты и рвоты

В/М!!

**Адекватный сосудистый доступ –
препараты только в/в (центральный катетер)**

Результаты адекватной химиотерапии

- 70-80% - ремиссия
 - 30-40% - пятилетняя выживаемость
 - 10-20% - пятилетняя безрецидивная выживаемость (приравнивается в выздоровлению)
-

КРИТЕРИИ РЕМИССИИ

- Клинико-лабораторная ремиссии – менее 5% бластов в костном мозге
 - Цитогенетическая ремиссия – исчезновение патологического клона
 - Молекулярная ремиссия – отсутствие химерного белка
 - Минимальная остаточная болезнь – остаточная популяция лейкемических клеток выявляемая только высокочувствительными методами
-

АЛЛОГЕННАЯ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ

СК (селекция – возраст, сомат. статус и др.)

- HLA – идентичный сиблинг (типирование родственников)
 - Проводится в ремиссию (т.е. после курса химиотерапии), у больных с неблаг. прогнозом
 - В/в капельное введение CD34+ - клеток донора
 - Результаты существенно лучше в 1 ремиссию
 - Болезнь «трансплантат против хозяина»
 - Позитивный эффект «трансплантат против лейкоза» - переливание лимфоцитов донора
 - 70-80% - 5 летняя выживаемость (реальный шанс на выздоровление)
-