

LEUCEMIA CU CELULE PĂROASE

DEFINIȚIE:

Leucemia cu celule paroase - LCP (Hairy Cell Leukemia - HCL) face parte din sindroamele limfoproliferative cronice cu celula B, fiind caracterizată prin splenomegalie, pancitopenie și fibrozarea măduvei osoase. Leucemia cu celule paroase este recunoscută ca fiind o boală malignă clonală cu celule B identificată de rearanjamentul genic al imunoglobulinelor ce rezultă într-o expresie fenotipică a celulelor B de la suprafața antigenelor. Celula anormală din LCP este un limfocit B cu origine în zona marginală a foliculului limfoid secundar, care infiltrază sistemul reticuloendotelial, interferând cu funcția măduvei hematogene care va funcționa insuficient, cauzând pancitopenie. De asemenea, aceste celule anormale pot infiltra organe ca ficatul și splina, producând organomegalie.

INCIDENȚA ȘI EPIDEMIOLOGIE:

Sunt descoperite aproximativ 1600 de cazuri noi în fiecare an în Europa¹ cu o mediană de vârstă de 52 ani la momentul diagnosticului. Se regăsește la 2% dintre pacienții adulți cu leucemie, fiind mai frecventă în rândul sexului masculin, raportul bărbați:femei fiind de 4:1². LCP este mai puțin frecventă la afro-americieni și asiatici decât la americanii din rasa albă, dar mai frecventă la cei expuși la erbicide (Agentul Orange) folosit în timpul Războiului din Vietnam³.

DIAGNOSTIC

Metodele de diagnosticare a LCP sunt:

- Frotiu de sânge periferic
- Imunofenotipare limfocitară
- Biopsie osteomedulară (examen HP + IHC)
- Analiza mutației genetice: Mutația BRAF de la nivelul exonului 15

Se descriu 2 tipuri de leucemie cu celule paroase:

1. Forma clasică
2. Forma varianta

Morfologia - celule paroase sunt de două ori mai mari ca un limfocit, având un nucleu rotund sau reniform cu cromatină laxă și citoplasma abundentă la care se observă proiecții/prelungiri citoplasmice. Monocitopenia și macrocitoza sunt frecvente; pot exista și mai multe citopenii.

Imunofenotipare prin flowcitometrie folosind anticorpi monoclonali anti celule B precum CD19, CD20, CD22 împreună cu un panel de anticorpi care cuprind CD11c, CD25, CD103 +/- CD123, care sunt mai specifici pentru LCP; împreună, aceste combinații permit diagnosticul diferențial între LCP și alte leucemii sau limfoame de linie B care prezintă celule viloase circulante.^{4,5} Adicional, se poate utiliza CD200 care este mai specific pentru LCP și poate sugera diagnosticul în cazuri mai dificile.⁶

Biopsie osteomedulară - examen histopatologic împreună cu teste de imunohistochimie, este necesară pentru diagnostic, în principal după efectuarea tratamentului pentru a evalua răspunsul la tratament.

Determinarea *mutației BRAF* la nivelul exonului 15 în cazurile mai dificil de diagnosticat, în care celelalte teste nu sunt suficiente pentru a pune un diagnostic de certitudine. În 2011, Tiacci⁷ a demonstrat prezența mutației V600E a genei BRAF în exonul 15 în toate cele 47 de cazuri cu LCP investigate. Mutația apare rar la nivelul exonului 11. Mutația BRAF duce la activarea căii de semnalizare RAF/MEK-ERK, ducând la proliferarea și supraviețuirea celulelor. Aceste rezultate au fost validate și de alte grupuri și au fost dezvoltate și alte metode mai simple de detectare precum PCR – cu detectare cantitativă în timp real (quantitative real-time polymerase chain

reaction). In 1/3 din cazuri , chiar daca mutatia BRAF nu este prezenta la LCP validanta, se regaseste mutatia TP53.⁸

De cele mai multe ori, aspiratul medular nu se poate efectua in LCP clasica, astfel ca trebuie efectuata biopsie osteomedulara. Infiltratul poate varia ca grad de la usor interstitial pana la difuz, iar celulele limfoide sunt inconjurate de un halou clar datorita cantitatii abundente de citoplasma, aparand astfel caracterizarea de “ou ochi/prajit”. Imunohistochimia cu anticorpi monoclonali CD20, CD72 (DBA44), CD11c, CD25, CD103, Annexin A1 si coloratia cu fosfataza acida tartrat-rezistenta vor evidentia infiltratele limfoide si vor contribui la certitudinea diagnosticului de LCP clasic.⁵ In LCP variant, infiltrarea este fie intrasinusoidala, fie interstitiala. Adeseori, un pacient cu LCP poate prezenta numar crescut de limfocite, nucleate si lipsa monocitopeniei. La flowcitometrie se vor evidential celulele ca fiind CD11c+ si CD103+, dar foarte rar CD25+ si CD123+. Anexina A1 nu este adecvata pentru detectarea bolii reziduale dupa tratament deoarece coloreaza si celulele mieloide.

Cyclin D1 poate sa fie slab pozitiv, dar diagnosticul diferential cu limfomul de manta se evidentieaza foarte greu. In cazul detectarii bolii minime reziduale , anticorpii monoclonali care deceleaza mutatia proteinei BRAF s-au dovedit a fi foarte folositori.⁹ In ciuda faptului ca necesita validarea, datele preliminare sugereaza inalta specificitate si sensibilitate a acestor markeri pentru LCP. Majoritatea cazurilor de LCP au evidentiata mutatia genelor lanturilor grele ale imunoglobulinelor (IGHV), indicand prezenta bolii la nivelul unei celule B cu memorie.

Diferit fata de limfoamele splenice de zona marginala, nu exista o certitudine a IGHV, IGHD, IGHJ ca fiind stereotip in LCP.^{10 11 12}

Stratificarea riscului:

In afara de testele diagnostice din sange si biopsia medulara cu trepan, pentru stadializare se va completa cu hemoleucograma completa cu formula leucocitara, reticulocite, biochimie renala si hepatica, imunoglobuline serice, Beta-2-microglobulina, teste Coombs, screening marker virali (VHC, VHB, HIV). Este de preferat a se avea in vedere examinarea imagistica prin tomografie computerizata (CT) la momentul diagnosticarii (pana la 10% dintre pacienti prezinta adenopatii abdominale), precum si la recadere.¹³

Prognosticul negativ a fost sugerat prin gradul citopeniilor (Hgb < 10g/dl, PLT <100.000/mmc, Neu < 1000/mmc), prin prezenta adenopatiilor – acestea din urma fiind predictive pentru raspunsul slab la tratamentul cu analogi purinici.¹⁴ Pacientii care au un raspuns complet au o supravietuire fara boala mai lunga fata de cei care obtin un raspuns partial.¹⁵

Factorii care sunt asociati cu un prognostic nefavorabil sunt :

- Prezenta mutatiilor TP53
- Lipsa mutatiilor somatic de la nivelul genelor IGVH (apar in proportie foarte mica)
- Identificarea familiei VH4-34 (mai frecvent in LCP-varianta)

Prezenta TP53 (dar nu VH4-34) – factor de prognostic negativ in LCP-V.

Criterii pentru initierea tratamentului:

Tratamentul nu e indicat la pacientii asimtomatici. Totusi, acestia trebuie monitorizati prin anamneza completa, examen clinic si hemoleucograma cu formula leucocitara la fiecare 3-6 luni. Spre deosebire de leucemia limfatica cronica, pacientii asimtomatici, ce pot fi diagnosticati intamplator sunt rari, in practica majoritatea necesita tratament in scurt timp de la diagnosticare (din cauza simptomatologiei sau a citopeniilor).

Initierea tratamentului se face la cei care prezinta splenomegalie voluminoasa sau progresiva simptomatica, citopenii, infectii severe sau recurente si simptome sistemice.

Exista mai multe tipuri de tratamente folosite in LCP:

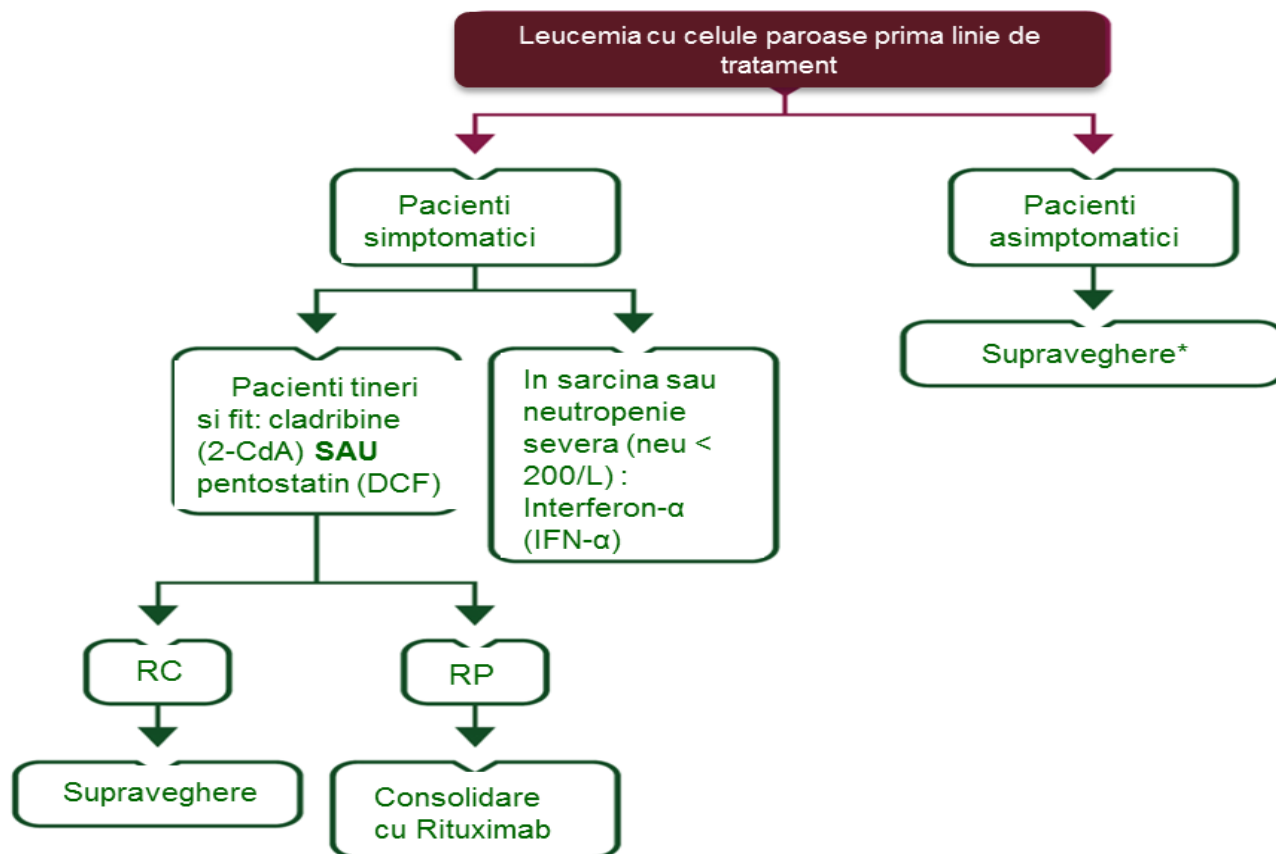
1. Analogi purinici
2. Interferon alfa
3. Splenectomia
4. Transplant allogenetic de celule stem
5. Tratament suportiv

Atentie:

- *medicamentele marcate cu * sunt aprobate in Romania, dar nu sunt rambursate de catre CNAS pentru aceasta indicatie.*
- *medicamentele marcate cu ** nu sunt aprobate in Europa pentru indicatia LLC.*

1. *Prima linie de tratament - Analogi purinici:*

- **Cladribina si Pentostatin***
 - Recomandate pacientilor simptomatici, tineri si fit.
 - *Cladribina* induce raspuns durabil, dar nesustinut la 87-100% pacienti, inclusive RC (raspuns complet) la 85-91% dupa un singur ciclu de tratament.¹⁶ Acesta este administrat in piv continua 0,09mg/kg timp de 5-7 zile sau sub forma de piv de 2 ore doza de 0,12-0.14 mg/kg 5-7 zile. Se mai poate administra in doza de 0,12-0,15mg/kg in piv de 2 ore o data pe saptamana timp de 6 cicluri. Aceste tipuri de administrari au aceeasi rata de RC si RG (raspuns general) in ambele tipuri.
 - Chiar daca e administrat saptamanal, studiile randomizate nu au arata o scadere a procentului de infectii recurente sau de toxicitate hematologica.^{17 18}
 - Rezultate similare au fost evidentiate la administrarea subcutanata a medicamentului.¹⁹
 - In cazul administrarii subcutanate, doza este de 0,1mg/kg/zi timp de 5-7 zile sau de 0,14mg/kg/zi timp de 5 zile sub forma unei cure unice de tratament.
 - *Pentostatinul** induce o rata crescuta a RC de lunga durata, similar cu Cladribinul. Daca Cl creatinina este peste 60ml/min (normal), doza este de 4 mg/mp iv o data la doua saptamani pana la obtinerea RC, plus 1-2 injectii de consolidare. La 8-9 cure de tratament, de regula se vor normaliza valorile hemoleucogramei si se va efectua biopsie osteomedulara pentru confirmarea RC. Daca exista RC confirmat, atunci se vor mai administra 1-2 injectii suplimentare.
 - Cladribinul si Pentostatinul* par a avea rate similare de obtinere a RC crescut, a duratei de raspuns, a ratelor de recidiva, precum si a reactiilor adverse, dar trebuie precizat ca nu a fost efectuata nici o comparatie directa, randomizata intre cele doua medicamente. Cladribina insa este mai convenabila dpdv al administrarii si este mai des folosita.



* In practica, majoritatea pacientilor necesita tratament la scurt timp dupa diagnostic devenind simptomatic sau pentru corectarea citopeniilor

- Interferon-alfa
- Utilizarea IFN-α este limitata din cauza faptului ca Pentostatinul si Cladribina au rata foarte mare de remisiune si durabila.
- Poate fi utilizat in perioada sarcinii, la cei cu neutropenie severa (neu < 200/mm³) pentru determinarea cresterii valorilor neutrofilelor inaintea tratamentului cu analogi nucleozidici.

Consolidarea cu Rituximab* poate fi luata in considerare in caz de raspuns partial

Evaluarea raspunsului

Conform Consensus Resolution sunt definite criteriile in vederea evaluarii raspunsului la tratament:

- Se va efectua examen clinic complet, hemoleucograma complete cu formula leucocitara, biopsie osteomedulara, Rx thoracic, ecografie abdominal sau CT abdominal – toate acestea in vederea evaluarii raspunsului.
- Pentru a avea raspuns complet (RC) trebuie sa se evidentieze morfologic disparitia celulelor parvoase din sangele periferic si in aspiratul medular sau probele de biopsie, precum si normalizarea oricari organomegalii sau citopenii. IFT sange periferic sau MO nu este necesara.
- Raspunsul partial (RP) este definit prin normalizarea HLG, plus reducerea cu minim 50% a organomegaliei si a celulelor parvoase in MO si <5% celulele parvoase circulante. Oricare altfel de rezultate semnifica lipsa raspunsului.
- Pentru a evalua raspunsului trebuie sa fie realizat la 4-6 luni de la tratamentul cu Cladribin si dupa 8-9 cure cu Pentostatin.
- Orice modificare la nivelul HLG in legatura cu detectia celulelor parvoase in sange periferic sau MO semnifica Recidiva.

Criteriile de raspuns pentru leukemia cu celule paroase

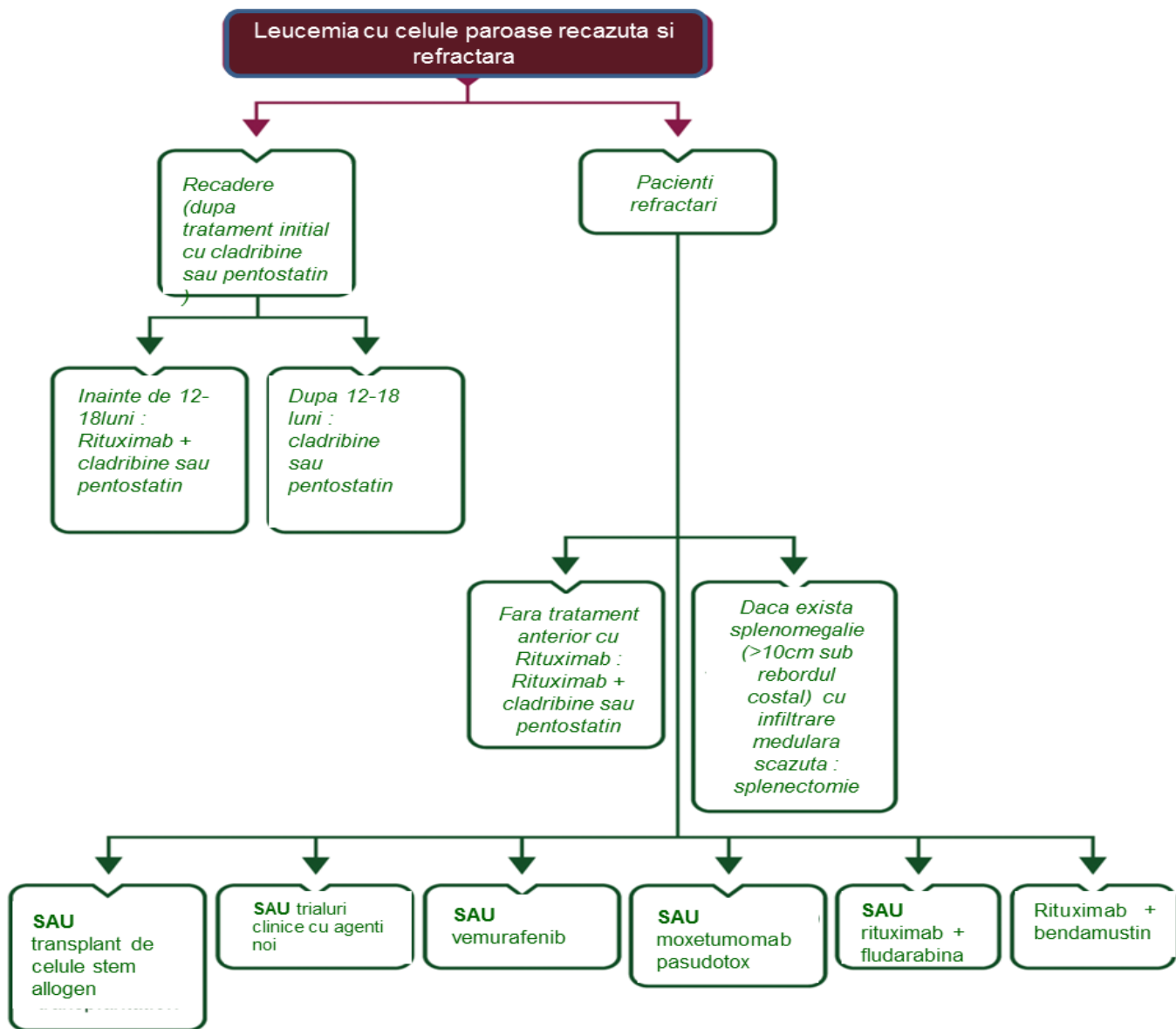
Definirea categoriilor de raspuns

Raspuns complet	Fara celule paroase in sangele periferic sau aspirat medular sau g\fragmente bioptice, normalizarea organomegaliilor si valorilor hemogramei
Raspuns parțial	Normalizarea valorilor hemogramei si scaderea cu minim 50% a organomegaliilor si a celulelor paroase din maduva si sub 5% celule paroase circulante
Recădere	Orice agravare a valorilor hemogramei in legatura cu identificarea celulelor paroase in sangele periferic si/sau aspirat medular si/sau biopsie medulara si/sau cresterea splenomegaliei

Boala refractara la analogi purinici sau boala recidivata:

Boala recidivata:

- Reluare cu succes tratament cu Cladribina sau Pentostatin* daca recidiva apare la 12-18 luni²⁰
Terapia alternativa cu analogi nucleozidici se foloseste in recaderea timpurie din primii 2 ani de tratament de linia intai. RC are o rata mai scazuta cu fiecare ciclu efectuat , dar durata acestuia poate sa fie similiara ca cea dupa prima, a doua sau a treia linie de tratament.²¹
- Administrarea Rituximab* in 4-8 doze a cate 375 mg/mp saptamanal piv se utilizeaza la pacientii cu recadere timpurie.^{22 23 24}
Rituximab in monoterapie este inferior analogilor purinici, acesta nefiind de electie in cazul pacientilor recazuti.
- Se considera ca se pot obtine rate mai bune in cazut asocierii Rituximab* – Cladribina sau Rituximab* – Pentostatin*, decat analog purinic in monoterapie.^{25 26}
Chiar daca rata de raspuns este mai ridicata la asocierea analogilor purinici cu rituximab, toxicitatea este crescuta in comparatie cu cea aparuta in cazul administrarii secventiale.²⁷
- Orice *studiu clinic* nou aparut care utilizeaza agenti terapeutici de generatie noua, este sansa pacientilor refractari la terapia cu analogi purinici, acestia necesitand includerea lor in studii.



- Fludarabina:

- 40mg/mp oral 5 zile consecutive + Rituximab* 375mg/mp Z1 la 28 zile, timp de 4 cicluri se poate lua in considerare la pacientii recazuti sau refractari la tratamentul cu Cladribina. La 14 din 15 pacienti urmariti minim 35luni s-a observat o supravietuire fara progresie a bolii la 5 ani (SFP) la 89%, supravietuire generala la 83% si recidiva la 7%.²⁸

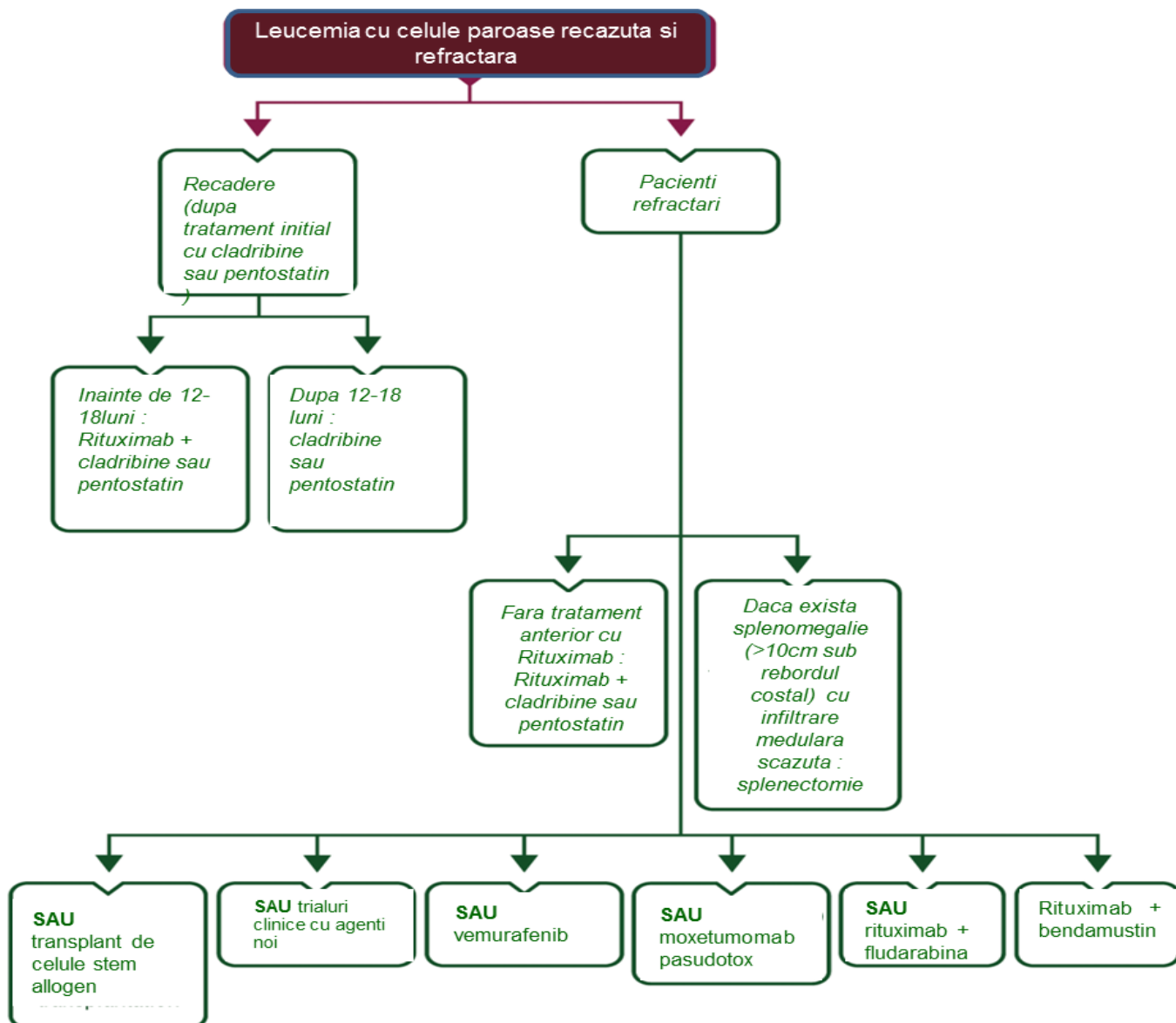
- Bendamustina*:

- Asociat cu Rituximab (70-90mg/mp + R) este optiune terapeutica pentru LCP multiplu recazuta/refractara sau la pacientii cu LCP dupa esecul terapiilor standard.

- Alte medicamente:

- Moxetumomab pasudotox* (imunotoxina recombinata anti-CD22): Rata de SG de 86%, RC de 46%²⁹ - nu e aprobat in Europa, recent aprobat de FDA
- Vemurafenib* (inhibitor BRAF V600E): scaderea rapida a splenomegaliei, cresterea nr de trombocite, normalizarea Hgb si leucocitelor – nu se cunosc dozele – studiu multicentric de faza II in curs de desfasurare

- Ibrutinib* se ia in considerare utilizarea lui in contextul LCP recazute, datorita activitatii dovedita in vitro asupra celulel parvoase³⁰



- Splenectomia:

- Recomandata pacientilor cu splenomegalie masiva rezistenta la tratament (>10cm sub RCS) si infiltrare MO redusa. Se observa SG 60-100%³¹, iar ulterior pacientii raspund mai bine la chimioterapie
- Recomandata in sarcina cand este prezenta splenomegalie progresiva, la cei refractari la agenti nucleozidici si IFN-a
- Se recomanda vaccinarea contra Haemophilus Influenza si Pneumococcus inainte de splenectomizare.

- Transplantul alogenic de celule stem

- Reprezinta o posibila indicatie la pacientii cu LCP tineri, care au avut tratament anterior agresiv, care au avut recaderi multiple si sunt refractari la analogi purinici si rituximab*

Situatii speciale:

- In sarcina: tratamentul se va initia numai in cazuri extreme,

- tratamentul de electie in acest caz fiind *Interferon – alfa* ofera risc mic de complicatii, iar dezvoltarea copilului nu va fi afectata.

- Se mai poate efectua *splenectomy*, daca administrarea de IFN-alfa nu are efect, mai ales cand sarcina este in stadiu precoce.
- Nu se recomanda administrarea Rituximab* sau Cladribin datorita efectelor teratogene.

Tratamentul suportiv:

- Profilaxie cu Cotrimoxazol 960mg si Aciclovir 200mg de 3 ori/sapt (prevenire infectii cu herpes si pneumocystis)
- Nu se va utiliza factor de crestere granulocitar de rutina consecutiv administrarii de cladribin la cei cu neutropenie severa, dar se va lua in considerare utilizarea in cazuri de infectii cu risc vital.
- Se vor administra produse de sange iradiate

Bibliografie

- ¹ Ferlay J Steliarova-Foucher E Lortet-Tieulent Jet al. . Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer* 2013; 49: 1374–1403
- ² Morton LM Wang SS Devesa SSet al. . Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992–2001. *Blood* 2006; 107: 265–276.
- ³ Grever MR Blachly JS Andritsos LA. Hairy cell leukemia: update on molecular profiling and therapeutic advances. *Blood Rev* 2014; 28: 197–203.
- ⁴ Del Giudice I Matutes E Morilla Ret al. . The diagnostic value of CD123 in B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Haematologica* 2004; 89: 303–308.
- ⁵ Matutes E. Immunophenotyping and differential diagnosis of hairy cell leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 2006; 20: 1051–1063.
- ⁶ Pillai V Pozdnyakova O Charest Ket al. . CD200 flow cytometric assessment and semiquantitative immunohistochemical staining distinguishes hairy cell leukemia from hairy cell leukemia-variant and other B-cell lymphoproliferative disorders. *Am J Clin Pathol* 2013; 140: 536–543.
- ⁷ Tiacci E Trifonov V Schiavoni Get al. . BRAF mutations in hairy cell leukemia. *N Engl J Med* 2011; 364: 2305–2315.
- ⁸ Hockley SL Else M Morilla Aet al. . The prognostic impact of clinical and molecular features in hairy cell leukaemia variant and splenic marginal zone lymphoma . *Br J Haematol* 2012; 158: 347–354
- ⁹ Andrusis M Penzel R Weichert Wet al. . Application of a BRAF V600E mutation-specific antibody for the diagnosis of hairy cell leukemia. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 1796–1800.
- ¹⁰ Hockley SL Giannouli S Morilla Aet al. . Insight into the molecular pathogenesis of hairy cell leukaemia, hairy cell leukaemia variant and splenic marginal zone lymphoma provided by the analysis of their IGH rearrangements and somatic hypermutation patterns. *Br J Haematol* 2010; 148: 666–669.
Google ScholarCrossrefPubMed
- ¹¹ Forconi F Sozzi E Cencini Eet al. . Hairy cell leukemias with unmutated IGHV genes define the minor subset refractory to single-agent cladribine and with more aggressive behaviour. *Blood* 2009; 114: 4696–4702.
Google ScholarCrossrefPubMed
- ¹² Arons E Suntum T Stetler-Stevenson M Kreitman RJ. VH4–34+ hairy cell leukemia, a new variant with poor prognosis despite standard therapy. *Blood* 2009; 114: 4687–4695.
- ¹³ Mercieca J Puga M Matutes Eet al. . Incidence and significance of abdominal lymphadenopathy in hairy cell leukaemia. *Leuk Lymphoma* 1994; 14(Suppl. 1): 79–83.
- ¹⁴ Mercieca J Matutes E Emmett Eet al. . 2-chlorodeoxyadenosine in the treatment of hairy cell leukaemia: differences in response in patients with and without abdominal lymphadenopathy. *Br J Haematol* 1996; 93: 409–411.
- ¹⁵ Else M Dearden CE Matutes Eet al. . Long-term follow-up of 233 patients with hairy cell leukaemia, treated initially with pentostatin or cladribine, at a median of 16 years from diagnosis. *Br J Haematol* 2009; 145: 733–740.
- ¹⁶ Saven A Burian C Koziol JA Piro LD. Long-term follow-up of patients with hairy cell leukemia after cladribine treatment. *Blood* 1998; 92: 1918–1926.
- ¹⁷ Zenhäusern R Schmitz SF Solenthaler Met al. . Randomized trial of daily versus weekly administration of 2-chlorodeoxyadenosine in patients with hairy cell leukemia: a multicenter phase III trial (SAKK 32/98). *Leuk Lymphoma* 2009; 50: 1501–1511.
- ¹⁸ von Rohr A Schmitz SF Tichelli Aet al. . Treatment of hairy cell leukemia with cladribine (2-chlorodeoxyadenosine) by subcutaneous bolus injection: a phase II study. *Ann Oncol* 2002; 13: 1641–1649.
- ¹⁹ Lauria F Cencini E Forconi F. Alternative methods of cladribine administration. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(Suppl. 2): 34–37.
- ²⁰ Naik RR Saven A. My treatment approach to hairy cell leukemia. *Mayo Clin Proc* 2012; 87: 67–76.
- ²¹ Zinzani PL Pellegrini C Stefoni Vet al. . Hairy cell leukemia: evaluation of the long-term outcome in 121 patients. *Cancer* 2010; 116: 4788–4792.

- ²² Hagberg H Lundholm L. Rituximab, a chimaeric anti-CD20 monoclonal antibody in the treatment of hairy cell leukaemia. *Br J Haematol* 2001; 115: 609–611.
- ²³ Nieva J Bethel K Saven A. Phase 2 study of rituximab in the treatment of cladribine-failed patients with hairy cell leukemia. *Blood* 2003; 102: 810–813.
- ²⁴ Forconi F Toraldo F Sozzi E et al. . Complete molecular remission induced by concomitant cladribine--rituximab treatment in a case of multi-resistant hairy cell leukemia. *Leuk Lymphoma* 2007; 48: 2441–2443.
- ²⁵ Else M Dearden CE Matutes E et al. . Rituximab with pentostatin or cladribine: an effective combination treatment for hairy cell leukemia after disease recurrence. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(Suppl. 2): 75–78.
- ²⁶ Ravandi F O'Brien S Jorgensen J et al. . Phase 2 study of cladribine followed by rituximab in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 2011; 118: 3818–3823.
- ²⁷ Else M Osuji N Forconi F et al. . The role of rituximab in combination with pentostatin or cladribine for the treatment of recurrent/refractory hairy cell leukemia. *Cancer* 2007; 110: 2240–2247.
- ²⁸ Gerrie AS Zypchen LN Connors JM. Fludarabine and rituximab for relapsed or refractory hairy cell leukemia. *Blood* 2012; 119: 1988–1991.
- ²⁹ Kreitman RJ Tallman MS Robak T et al. . Phase I trial of anti-CD22 recombinant immunotoxin moxetumomab pasudotox (CAT-8015 or HA22) in patients with hairy cell leukemia. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1822–1828.
- ³⁰ Sivina M Kreitman RJ Arons E et al. . The bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib (PCI-32765) blocks hairy cell leukaemia survival, proliferation and B cell receptor signalling: a new therapeutic approach. *Br J Haematol* 2014; 166: 177–188.
- ³¹ Habermann TM Rai K. Historical treatments of hairy cell leukemia, splenectomy and interferon: past and current uses. *Leuk Lymphoma* 2011; 52(Suppl. 2): 18–20.