

# Klinička i citogenetska obilježja leukemija kod djece u Klinici za pedijatriju KBC Osijek

---

**Todić, Lucija**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2024**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:198963>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-26**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I  
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINA**

**Lucija Todić**

**KLINIČKA I CITOGENETSKA  
OBILJEŽJA LEUKEMIJA KOD DJECE  
U KLINICI ZA PEDIJATRIJU KBC  
OSIJEK**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2024.**



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK**

**SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I  
DIPLOMSKI STUDIJ MEDICINA**

**Lucija Todić**

**KLINIČKA I CITOGENETSKA  
OBILJEŽJA LEUKEMIJA KOD DJECE  
U KLINICI ZA PEDIJATRIJU KBC  
OSIJEK**

**Diplomski rad**

**Osijek, 2024**

Rad je ostvaren u Kliničkom bolničkom centru Osijek na Klinici za pedijatriju.

Mentor rada: prof. prim. dr. sc. Silvija Pušeljić, dr. med.

Rad ima 48 listova i 22 tablice.

## **Zahvale**

*Prije svega, veliko hvala mojoj mentorici prof. prim. dr. sc. Silviji Pušeljić, dr. med. na svakom danom savjetu, nesebičnoj pomoći i strpljenju tijekom izrade ovog diplomskog rada.*

*Zahvaljujem se i prof. Kristini Kralik na svojoj pomoći oko statističke obrade podataka.*

*Posebnu zahvalu dugujem svojoj obitelji za neizmjernu podršku i razumijevanje tijekom svih ovih godina. Hvala vam što ste uvijek vjerovali u mene, za svaku riječ ohrabrenja u teškim trenucima te za beskrajno pruženu ljubav.*

*Naposljetku, beskrajno hvala mojim prijateljima koji su uvijek bili tu za mene i bodrili me na svakom koraku.*

*Hvala vam od srca!*

## SADRŽAJ RADA

1. UVOD.....	1
1.1. Definicija.....	1
1.2. Klasifikacija i patogeneza.....	1
1.2.1. Leukemije .....	1
1.2.2. Limfomi .....	3
1.3. Epidemiologija.....	4
1.4. Etiologija.....	4
1.5. Klinička obilježja .....	6
1.6. Dijagnoza .....	7
1.6.1. Imunofenotipizacija .....	8
1.6.2. Citogenetika .....	9
1.7. Terapijski protokoli.....	10
2. CILJEVI.....	13
3. ISPITANICI I METODE.....	14
3.1. Ustroj studije.....	14
3.2. Ispitanici.....	14
3.3. Metode .....	14
3.4. Statističke metode .....	15
4. REZULTATI .....	16
5. RASPRAVA.....	31
6. ZAKLJUČCI.....	38
7. SAŽETAK .....	39
8. SUMMARY.....	40
9. LITERATURA .....	41
10. ŽIVOTOPIS.....	47

## POPIS KRATICA

ACS – od engl. *American Cancer Society*, Američko društvo za borbu protiv raka

AL – Akutne leukemije

ALCL – od engl. *anaplastic large cell lymphoma*, velikostanični anaplastični limfom

ALL – Akutna limfoblastična leukemija

AML – Akutna mijeloična leukemija

anti-MPO – anti-mijeloperoksidaza

BL – Burkittov limfom

CAR-T – od engl. *chimeric antigen receptor T-cell*, T-stanična terapija kimernim antigen receptorom

DLBL – od engl. *diffuse large B cell lymphoma*, difuzni B-velikostanični limfom

FISH – Flourescentna in situ hibridizacija

HL – Hodgkinov limfom

HRS – Hodgking-Reed-Sternbergove stanice

HSCT – od engl. *haematopoietic stem cell transplantation*, transplantacija krvotvornih matičnih stanica

HTLV – Humani T-limfotropni virus

IUGR – od engl. *intrauterine growth restriction*, intrauterini zastoje rasta

KHL – Klasični Hodgkinov limfom

KML – Kronična mijeloična leukemija

LBL – Limfoblastični limfom

LPB – Limfoproliferativna bolest

NHL – Non-Hodgkinov limfom

NLPHL – Nodularna limfocitna predominacija Hodgkinovog limfoma

RTG – rendgenogram

SZO – Svjetska Zdravstvena Organizacija

SŽS – Središnji živčani sustav

TdT – Terminalna deoksinukleotidil transferazom

TKI – Tirozin kinazni inhibitor



## 1. UVOD

### 1.1. Definicija

Limfoproliferativne bolesti (LPB) predstavljaju heterogenu skupinu novotvorina limfnog sustava, karakterizirane nekontroliranom malignom alteracijom i akumulacijom patoloških stanica limfoidne loze u limfnim organima. Rizik za pojavnost ove skupine bolesti veći je u imunokompromitirane djece, kod kojih je mehanizam kontrole proliferacije limfocita narušen. Prema tipu raspodjele i akumulacije malignih stanica, u LPB ubrajaju se leukemije i limfomi. Sukladno zadnjim podacima Američkog društva za borbu protiv raka (ASC, prema engl. *American Cancer Society*), incidencija leukemija i limfoma u zadnjih 5 godina iznosi 37,9 % svih malignih bolesti u djece i adolescenata mlađih od 20 godina (1). U Hrvatskoj, prema zadnjim podacima Registra za rak 2020. godine, najčešće dijagnoze malignih bolesti u djece do 19. godina su leukemije (25 %) i limfomi (16 %) (2). Leukemije čine 25 – 30 % svih malignih bolesti u dječjoj dobi i samim time predstavljaju skupinu najzastupljenijih zloćudnih bolesti u djece (1). Također, predstavljaju drugi po učestalosti uzrok smrti od malignih oboljenja u pedijatrijskoj populaciji, s incidencijom od 22,7 % (1). Limfomi, s druge strane, po učestalosti pojavnosti u pedijatrijskoj populaciji zauzimaju treće mjesto (nakon leukemija i karcinoma živčanog sustava) s prevalencijom od 6,8 % za non-Hodgkinov limfom (NHL) te 6,2 % za Hodgkinov limfom (HL) (1). S obzirom na pojavnost ostalih malignih bolesti u pedijatrijskoj populaciji, leukemije su najzastupljenije kod djece u dobi od 1. do 4. godine, dok su limfomi učestaliji kod djece u dobi između 15 i 19 godina (3).

### 1.2. Klasifikacija i patogeneza

Klasifikacija leukemija i limfoma, revidirana 2022. godine prema Svjetskoj Zdravstvenoj Organizaciji (SZO), dijeli ih u dvije velike skupine: mijeloidne i limfoidne neoplazme. Podjela se temelji na stupnju sazrijevanja, fenotipskim i kliničkim karakteristikama, histomorfološkim, citogenetičkim, molekularnim i imunofenotipskim obilježjima malignih stanica, koje ujedno predstavljaju i bitan prognostički faktor za tijek i ishod bolesti te liječenja (4, 5).

#### 1.2.1. Leukemije

Prema stupnju sazrijevanja razlikuju se akutne (nezrele) i kronične (zrele) leukemije. Akutne leukemije (AL) karakterizira klonalna ekspanzija prekursorskih stanica mijelocita ili limfocita, takozvanih blasta, u koštanoj srži, perifernoj krvi i drugim organima (6). AL čine oko 97 % svih leukemija dječje dobi. SZO-klasifikacija leukemije dijeli na mijeloidnu skupinu koju čine

akutna mijeloična leukemija (AML) i akutna promijelocitna leukemija; na limfoidnu skupinu koju čini akutna T/B-limfoblastična leukemija/limfom; te na akutne leukemije nejasnog podrijetla (manje od 5 %).

Akutna limfoblastična leukemija (ALL) najčešći je tip leukemije u djece, koju u 80 % slučajeva čini klonalna proliferacija prekursorskih B-limfocitnih stanica (7). 15 % ALL čine T-limfoblastične leukemije (T-ALL), s većom pojavnosti u dječaka te u starijoj dobi, usporedno s pojavnosti B-limfoblastične leukemije (B-ALL) (8, 9). Bitnu ulogu u patogenezi ALL imaju stanični signali transdukcije i molekularne abnormalnosti, uključujući genske mutacije, klonalnu ekspanziju, diferencijaciju i proliferaciju, abnormalnu interakciju proteina, te disregulaciju staničnog ciklusa uz povećanu autofagiju, koje u konačnici dovode do zamjene normalnih stanica limfoidne loze malignim (7, 10). Velik broj molekularnih puteva i ekspresije gena povezani su s procesom leukemogeneze ALL, od kojih su najzastupljeniji fuzijski geni *TEL-AML1* i *BCR-ABL1*, abnormalna ekspresija PAX5 i PI3K proteina, uz povećanu ekspresiju c-MYC proteina i hematopoetskih stanica (7).

AML, s druge strane, predstavlja rjeđi oblik akutnih leukemija dječje dobi s pojavnosti od 15 do 20 % (11). Riječ je o nediferenciranim progenitornim stanicama mijeloidne loze koje proliferiraju u koštanoj srži te invadiraju krv i periferne organe. Klonalne, stečene i somatske citogenetske abnormalnosti, potvrđene su u 75 – 80 % dječje AML (12). Za razliku od odrasle populacije, u djece s AML u 95 % slučajeva radi se o de novo prezentaciji bolesti, dok se u rijetkim slučajevima njena pojavnost veže uz genetičku predispoziciju. U djece, najčešće citogenetske abnormalnosti AML predstavljaju balansirane kromosomske preraspodjele koje dovode do stvaranja kimernih fuzijskih gena (11).

Nadalje, kronične leukemije karakterizirane nakupljanjem zrelih krvnih stanica, čine rijetku skupinu leukemija dječje dobi s pojavnosti od svega 3 %. Razlikuju se kronična mijeloična leukemija (KML) s najvećom pojavnosti, te juvenilna mijelomonocitna leukemija. KML karakterizira translokacija (9;22) koja rezultira stvaranjem *BCR-ABL1* fuzijskog gena s incidencijom 2 – 3 % u djece ispod 15 godina, te 9 % u adolescenata između 15 i 19 godina (13).

Ključni mehanizmi leukemogeneze baziraju se na aktivaciji protoonkogeni uz inaktivaciju tumor supresorskih gena. Takvi procesi odvijaju se posljedičnom infekcijom, točkastom mutacijom protoonkogeni, amplifikacijom gena, delecijom te translokacijom kromosoma što uzrokuje povećanu ekspresiju normalnog gena (6).

### 1.2.2. Limfomi

Limfomi se prema SZO-klasifikaciji ubrajaju u limfoidnu skupinu neoplazmi podijeljenu u akutne i kronične oblike. Ugrubo se dijele na HL i NHL. HL je B-stanični limfom koji pripada skupini zrelih oblika limfoidnih neoplazmi, a patološki se dijeli na klasični HL (KHL) i HL nodularne limfocitne predominacije (NLPHL). NLPHL karakteriziraju limfocitne dominirajuće stanice u pozadini nodularnog oblika rasta B-limfocita, dok KHL karakterizira prisutnost mononuklearnih Hodgkinovih stanica i multinuklearnih Reed-Sternbergovih stanica uz prisutnost upalnih stanica (14). HL se histološki dijeli na nodularnu sklerozu i miješanu celularnost koji ujedno predstavljaju najčešće oblike u djece, te na limfocitnu depleciju i limfocitnu dominaciju (15). Najveća incidencija je u djece između 10 i 19 godina, s najvećim stupnjem malignosti kod onih u dobi od 15 do 19 godina (14). Patogeneza nastanka limfoma nije u potpunosti jasna, no razna istraživanja pokazuju utjecaj proteina LMP1 i ciklina A u nastanku Hodgkin-Reed-Sternbergovih stanica (HRS) iz limfoidnih prekursorskih stanica (14, 15). Također, bitnu ulogu nastanka HRS stanica predstavlja mehanizam narušavanja integriteta telomera, tj. epigenetski signal kojim se osigurava zaustavljanje rasta telomera u stabilnim diploidnim stanicama faze G1 prije mogućeg nastanka nestabilnosti genoma (16, 17).

Nadalje, SZO-klasifikacija u skupinu limfoidnih neoplazmi zrelih stanica ubraja i heterogenu grupu nastalu iz B/T/NK-stanica koje čine NHL. Česti oblici NHL u pedijatrijskoj populaciji čine Burkittov limfom (BL) i difuzni B-velikostanični limfom (DLBL, prema engl. *Diffuse large B-cell lymphoma*), pretežito nastali iz B-staničnog podrijetla, te limfoblastični limfom (LBL) i velikostanični anaplastični limfom (ALCL, prema engl. *Anaplastic large cell lymphoma*) podrijetlom iz B/T/NK staničnog imunofenotipa (4, 14). Incidencija NHL najveća je u djece od 5 do 14 godina uz veću pojavnost u dječaka (14). BL predstavlja najčešći tip NHL u djece mlađe od 14 godina, DLBL je najčešći u adolescenata, dok se LBL pojavljuje podjednako u svih dobnih skupina. Prema SZO klasifikaciji, LBL je svrstan zajedno s ALL pa tako čine jednu skupinu zbog činjenice da 90 % LBL čine T-limfoblasti uz brzu progresiju bolesti u koštano srž (14, 18). Nastanak NHL povezan je primarno s genetskom predispozicijom, raznim imunosnim poremećajima te viralnim onkogenim uzročnicima, poput Epstein-Barr virusa (EBV). Oni predstavljaju okidače translokacija i mutacija, nastalih greškama u dvjema DNA modifikacijama: somatskoj hiperstimulaciji i rekombinaciji gena. Najbolji primjer su kromosomske translokacije *MYC* gena (kao što je translokacija (8;14)(q24;q32) *MYC/IgH*) koje pronalazimo u 80 % svih slučajeva BL (14).

### 1.3. Epidemiologija

Od 2008. do 2023. godine, za koje su dostupni najnoviji podatci, incidencija leukemija je stabilna. ALL čini 75 % svih leukemija u djece do 15 godina života s najvećom incidencijom od 7,8 na 100 000 djece u dobi 2 – 5 godina, dok je incidencija AML zastupljenija u dojenačkoj dobi i u djece između 13 i 17 godina s većom pojavnosti u dječaka (19). Usporedbom rasnih grupa pokazano je da je incidencija ALL sa stopom od 4,3 na 100 000, najveća u Latinoamerikanaca, s time da je pojava T-ALL češća u Kineza i Indijaca (19, 20). Geografski, Danska predstavlja državu s najvećom incidencijom bolesti u Europi (20). Prema podacima ASC, stopa mortaliteta djece s ALL iznosi svega 10 %, dok je u djece s AML nešto viša, a iznosi 30 – 35 %.

S druge strane, iako je incidencija pedijatrijskih leukemija stabilna, godišnja incidencija HL se povećava za 1 na milijun djece između 1 – 4 godine, te 30,5 na milijun adolescenata (14). Analizom rasne podloge, HL je 30 puta zastupljeniji u bijelaca. Tako nodularna skleroza HL predstavlja najčešći podtip KHL s pojavnošću od 50 % u djece mlađe od 10 godina te 70 – 75 % u djece između 10 i 19 godina. HL miješane celularnosti je većinski povezan s infekcijom EBV te s niskom socioekonomskim statusom i ne-Europskim podrijetlom. Incidencija NHL je također nešto veća u bijelaca usporedno s drugim rasnim skupinama. Stope petogodišnjeg preživljenja za NHL su tijekom zadnjih 25 – 30 godina porasle i trenutno iznose 80 – 90 % (21).

U Republici Hrvatskoj se u 2022. godini liječilo 34 djece oboljele od leukemije (22).

### 1.4. Etiologija

Specifičan uzrok nastanka leukemija i limfoma u djece nije u potpunosti poznat, međutim mehanizmi nastanka malignih stanica su dobro istraženi. Pretpostavlja se da glavnu ulogu nastanka ovih bolesti imaju razni endogeni te okolišni čimbenici. Endogene čimbenike čini nekoliko nasljednih i stečenih genetskih poremećaja, kromosomskih anomalija te primarno nasljednih imunodeficientnih sindroma za koje se smatra da su direktno povezani s nastankom ALL i AML u 3 % oboljele djece, no isto tako i s limfomima. Identificirani geni, koji se mogu naslijediti autosomno-dominantno i potencijalno uzrokovati leukemogenezu uključuju, *CEPBA*, *RUNX1* i *GATA2* (23). U djece s AML pokazana je povezanost razvoja bolesti uz prisutnost genetskih promjena kao što su translokacija (8;21), inverzija kromosoma 16, ali i mutacija proteina NPM1 i CEBPA koji reguliraju transkripcijske faktore i tumor supresorske gene (24).

U nasljedne i stečene genetske sindrome i imunosne poremećaje koji se povezuju s nastankom leukemija ubrajaju se: Downov sindrom, Li-Fraumenijev sindrom, neurofibromatoza, Fanconijeva anemija i Bloomov sindrom; te nasljedne bolesti koštane srži: sindrom Kostmann, Diamond-Blackfanova anemija, kongenitalna diskeratoza te Schwachman-Diamondov sindrom (19, 25). S druge strane, rizični faktori za nastanak HL uključuju stanja imunodeficijencije i imunosupresije, ali i genetsku predispoziciju, kojom je u monozigotnih blizanaca potvrđen povećan rizik za razvoj bolesti (14). S nastankom NHL povezani imunosni poremećaji su: Wiskott-Aldrichov sindrom, teleangiektatična ataksija, X-vezani limfoproliferativni sindrom te imunokompromitiranost povezana s transplantacijom (14).

Kako sindromi predstavljaju poveznicu u nastanku malignih bolesti, potvrđeno je činjenicom da se u otprilike 2 % djece s Downovim sindromom razvija bilo koja vrsta leukemije do 5. godine života, s time da u prvih godinu dana postoji 56 puta veća vjerojatnost obolijevanja u odnosu na drugu djecu, dok se nakon četvrte godine života ovaj rizik smanjuje i vjerojatnost oboljenja iznosi oko 10 puta (20). Utvrđena je i incidencija oboljenja od leukemija i HL u višeplođnim trudnoćama, kod kojih, u slučaju oboljenja jednog monozigotnog blizanca u prvih 7 godina života, postoji dvostruko veća šansa oboljenja drugog blizanca u usporedbi s ostatkom populacije te dobi (14, 20).

U etiologiji leukemija važnu ulogu ima Greaves, koji je ustanovio kako 1 % novorođenčadi pri rođenju ima prisutan fuzijski gen *TEL-AML1*, vrlo čest u djece s ALL, međutim rijetko dolazi do oboljenja. Stoga je zaključeno kako je za razvoj leukemije uz genetsku predispoziciju nužan i egzogeni faktor (20, 26). Ta pretpostavka obrazložena je „*two-hit*“ teorijom u razvoju ALL koja objašnjava da prisutnost kromosomskih translokacija in utero uz postnatalni faktor, primjerice izloženost infekcijama, dovodi do oboljenja.

Osim infekcija, primjerice EBV u HL ili humani T-limfotropni virus (HTLV) u leukemija, u okolišne čimbenike kao uzročnike leukemija i limfoma ubrajaju se izlaganje ionizirajućem zračenju, imunosupresivima i kemoterapeutcima s alkilirajućim spojevima te inhibitorima topoizomerase, ali i raznim kemijskim agensima (pesticidi, teški metali). Transplantacija kao uzrok jatrogene imunosupresije također predstavlja čimbenik rizika. Za sam razvoj bitna je prethodna genetska ili epigenetsku mutacija (27 – 29). Nekoliko studija pokazalo je kako okolišni čimbenici, kao što su izlaganje benzenu u prometu i tvornicama, povećava rizik za razvoj AML u djece (30).

### 1.5. Klinička obilježja

Simptomi leukemije posljedica su infiltracije krvotvornih organa malignim stanicama uz smanjenje proizvodnje hematopoetskih matičnih stanica, dok su ekstramedularni simptomi zastupljeniji u limfoma. U ovih bolesti najčešće se prvo javljaju nespecifični simptomi, poput umora, gubitka apetita, noćnog preznojavanja i febriliteta bez jasnog uzroka, prisutni u čak 50 % djece (31). U leukemija, bljedoća, tahikardija i dispneja su također često prisutni inicijalni simptomi, a uzrokovani su potiskivanjem eritropoeze. Prema Britanskoj meta-analizi, pokazano je da su u oboljele djece inicijalni simptomi i znakovi pri dijagnosticiranju prema učestalosti najzastupljeniji: hepatomegalija (64 %), splenomegalija (61 %), znakovi hemoragijske dijateze (petehije i hematomi) uzrokovane trombocitopenijom (52 %), bol u kostima kod uznapredovale bolesti koja dovode do posljedično otežanog hoda u djece (26 %) te gubitak na težini (29 %) (32).

Središnji živčani sustav (SŽS) zahvaćen je u manje od 5 % djece s ALL i LBL (33, 34). U tom slučaju, prvi simptomi leukemije su jutarnje glavobolje, povraćanje te edem papile. Nadalje, moguća je i pojava fokalnih neuroloških znakova, hemipareze, konvulzija, ataka, hipotonije, hiperfleksije te pleocitoze limfoblasta u likvoru.

KML u djece očituje se agresivnijim kliničkim i biološkim značajkama, primjerice splenomegalija, febrilitet, infekcije, povećano krvarenje obilježeno anemijom uz leukocitozu i trombocitozu, te ostali nespecifični simptomi (35).

Limfomi i leukemije dijele iste simptome i znakove bolesti uz pokoja odstupanja, te se određeni podtipovi NHL i ALL smatraju istima. Stoga se u stupnjevanju NHL uzima u obzir prisutnost blasta u koštanoj srži, prema čemu se IV. stadij NHL dogovorno označava pri prisutnosti 5 – 25 % blasta, a leukemija ako je prisutno više od 25 % blasta (31).

Razlika limfoma je u karakterističnoj inicijalnoj prezentaciji perikardijalnog ili pleuralnog izljeva zbog zahvaćenosti medijastinuma. Ako se radi o velikom medijastinalnom tumoru prisutni su znakovi opstrukcije dišnog puta kao što su kašalj, dispneja, stridor te sindrom gornje šuplje vene. Česta je pojava i bezbolne limfadenopatije perifernih limfnih čvorova, posebice cervikalnih. U LBL, zbog rane diseminacije, karakteristično je zahvaćanje koštane srži s pratećim znakovima pancitopenije (34).

## 1.6. Dijagnoza

Zbog sličnosti u prezentaciji ovih bolesti, ali i adekvatnog planiranja terapije bitno je postaviti točnu dijagnozu. Uz primarnu obradu koja uključuje anamnezu, fizikalni nalaz i krvnu sliku, konačna dijagnoza temelji se na citomorfološkim i citokemijskim analizama periferne krvi i koštane srži za leukemije, patohistološkom nalazu bioptata limfnog čvora za limfome, te na osnovi imunofenotipske, citogenetičke i molekularne analize za ove bolesti (6, 18, 36).

Prilikom fizikalnog pregleda uočavaju se bljedilo kao rezultat anemije, krvarenja u sluznice i kožu uz moguću prisutnost petehijalnog krvarenja gingive (37), te palpatorna hepatosplenomegalija i limfadenopatija. Hematološki nalazi periferne krvi ukazuju na normocitnu normokromnu anemiju uz sniženu razinu hemoglobina koja upućuje na dulje trajanje leukemije. U 75 % djece prisutna je trombocitopenija, dok se broj leukocita razlikuje, te se tako u polovici djece ne nalaze odstupanja od normalnog broja leukocita, u 20 % je broj snižen, a u 30 % nalazi se hiperleukocitoza koja se povezuje uz T-ALL i AML (18, 31). Iz biokemijskih nalaza krvi često se uočavaju povišene vrijednosti laktat dehidrogenaze, sedimentacije eritrocita i feritina u leukemija, ali i serumskog bakara u limfoma. Povišene razine aminotransferaza uz hipoproteinemiju ukazuju na proširenost bolesti na jetru, dok je nalaz hiperkalcemije pokazatelj leukemijske infiltracije kosti (18, 31).

Dijagnoza leukemija i limfoma potvrđuje se analizom punktata koštane srži i patohistološkom analizom bioptata limfnih čvorova. Morfološka dijagnoza ALL postavlja se citološkim i citokemijskim nalazom blasta iz punktata koštane srži u najmanjoj vrijednosti od 25 %, dok je za AML potvrdni dijagnostički nalaz vrijednost od najmanje 20 % blasta (18). Prisutnost blasta u razmazu periferne krvi može i ne mora biti prisutan. S druge strane, dijagnostika limfoma temelji se na histološkoj analizi bioptata limfnog čvora. Njime se nadopunjuje nalaz citološke punkcije limfnog čvora koji se rutinski provodi u svrhu probira prije biopsije (38). Tako se histološkom analizom bioptata i punktata limfnog čvora utvrđuje prisutnost HRS, limfocita, histiocita uz razne inflamatorne stanice u slučaju HL (39), te limfocita, velikih blasta s malom, nepostojećom, istaknutom jezgrom ili jezgrom oblika bubrega za određenu podskupinu NHL (40).

Citološka i histološka analiza nadopunjuje se imunofenotipizacijom koja predstavlja temeljni dijagnostičko-prognostički test podrijetla nezrelih stanica, te citogenetikom kojom se, osim informacija o dijagnozi i prognozi, iskazuje kariotip bolesnika sa slikom čitavog genoma i preuređenja malignog klona. Uz osnovnu dijagnostiku, preporučeno je napraviti rendgenogram

(RTG) prsnog koša, radi moguće prisutnosti prednje medijastinalne mase koja često ide u prilog T-staničnoj ALL i limfomima, ultrazvuk vrata i abdomena te RTG zapešća i lumbalne kralježnice. Izvode se i koagulacijski testovi zbog povećanog rizika za krvarenje ili tromboze prilikom liječenja, te mikrobiološke analize. Postavljanje konačne dijagnoze ključno je radi praćenja tijeka bolesti, prognoze i plana liječenja (41).

### 1.6.1. Imunofenotipizacija

Imunotipizacijskom analizom s pomoću protočnog citometra, kojim se koriste monoklonska protutijela za leukocitne diferencijacijske antigene na membrani ili u citoplazmi stanice, određuje se podrijetlo i stupanj diferencijacije klonalnih stanica (31, 42). Prvobitna uloga imunofenotipizacije u djece s leukemijom je razlikovanje ALL od AML, nediferenciranih i bifenotipskih leukemija, a zatim i određivanje B/T-staničnog podrijetla (31). Također je bitna za daljnju dijagnostičku obradu i utvrđivanje povezanosti s citogenetskim i molekularnim aberacijama (43). Prema ekspresiji antigena limfocita, B-ALL očituje se ekspresijom CD10/CD19/CD22/CD79, T-ALL CD7/citoplazmatski CD3/CD34/CD1, dok se mijeloidni tip očituje ekspresijom CD13/CD33/CD65/anti-mijeloperoksidazom (anti-MPO) (35).

B-ALL imunofenotipizacijski dijeli se u pro-B, pre-B i zreli B-ALL. Najčešću skupinu, ujedno s najboljom prognozom, čini pre-B tzv. *common imunofenotip* s eksprimiranim CD10 biljekom na membrani, dok se skupina zrele B-ALL pojavljuje u svega 1 % djece praćena najlošijim ishodom (6, 18). Imunofenotipski-genotipski prognostički profil T-ALL nije u potpunosti istražen, a dijeli se u pro-T, pre-T, kortikalni i zreli (medularni) tip (44). Nadalje, nediferencirane i bifenotipske leukemije razlikuju se koekspresijom mijeloidnih CD13 i CD33 biljega, te su prisutne u trećine bolesnika s ALL.

Imunofenotipizacija, uz prisutnost više od 20 % blasta u koštanoj srži te nadopunom citogenetike i molekularne analize, predstavlja temeljni dijagnostički postupak u otkrivanju blastične faze KML limfoidnog ili mijeloidnog podrijetla (34). KML limfoidnog podrijetla u većoj mjeri eksprimira B-limfoblastične antigene među kojima su najčešći CD10/CD19/CD34, no u manjem postotku može ekspimirati T-limfoblastične antigene kao što su CD3/CD7 (34). S druge strane, KML mijeloidnog podrijetla eksprimira mijeloperoksidazu, te razne antigene povezane s mijeloidnim, monocitnim ili megakariocitnim podrijetlom (34).

Nadalje, osim određivanja B/T-staničnog podrijetla leukemija, imunofenotipizacija se primjenjuje i u određivanju staničnog podrijetla u limfoma. Najčešće ekspimirani antigeni na HRS i limfohistiocitima su CD30 i CD15 za KHL, te CD20 za NLPHL (39).



Podskupine NHL vezane su za B-stanično podrijetlo, te se tako često nalazi ekspresija CD20/CD22/CD10 u DLBL (39), uz dodatnu ekspresiju BCL6/BCL2/CD3 i Ki-67 proliferacijskog indeksa u BL (39, 40). T-LBL karakteriziran je ekspresijom CD3, terminalnom deoksinukleotidil transferazom (TdT), CD10, CD99, CD3, CD1, te u nekim slučajevima, Ki-67 (40), dok je B-LBL obilježen ekspresijom CD20, CD45, CD79 i PAX5 (40). T-ALCL ekspresira CD30, ALK, CD3 i CD5 (40).

### 1.6.2. Citogenetika

Citogenetska analiza predstavlja ključnu stavku prilikom dijagnoze, prognoze te praćenja liječenja leukemija i limfoma, dajući informacije o prisutnosti kromosomskih aberacija u malignom klonu (45). Analiza klonalnih preuredbi leukemijskih stanica provodi se fluorescentnom in situ hibridizacijom (FISH). Nakon citogenetske obrade te potvrđenih točaka lomova kromosoma, radi pristupa ciljanoj terapiji, dodatno se provode i molekularne analize kojima se precizno otkrivaju genski lokusi uključeni u malignu pretvorbu. Kromosomske aberacije čine numeričke i strukturne promjene, no u određenog broja pacijenata moguć je nalaz kompleksnih aberacija koje uključuju kombinacije istih. Aneuploidije tj. hiperploidija i hipoploidija, predstavljaju numeričke kromosomske aberacije. Strukturne aberacije najčešće čine translokacije, koje primarno djeluju mehanizmom aktivacije onkogeni i stvaranja fuzijskih gena, delecije s glavnim mehanizmom u gubitku tumor supresorskih gena, te u određenom broju, inverzije (46).

Proučavajući citogenetski promjenjenije klonalne stanice B-ALL, podgrupe niskog rizika tj. povoljnijeg prognostičkog faktora predstavljaju: hiperploidija (> 50 kromosoma), *TEL-AML1* (*ETV6-RUNX1*) fuzijski gen te preuredba *DUX4* gena. Najčešće podgrupe visokog rizika (loše prognoze) B-ALL su: hipoploidija (< 40 kromosoma), *BCR-ABL1* fuzijski gen, *BCR-ABL1* fuzijski gen nalik Philadelphia kromosomu, te *KMT2A* klonalna preuredba (47, 48). Nadalje, u B-ALL podgrupe intermedijarnog rizika ubrajaju se *TCF3-PBX1* preuredba te intrakromosomska amplifikacija 21. kromosoma (47). T-ALL podgrupe razlikuju se po ekspresiji transkripcijskih faktora i onkogeni, a uključuju gene: *TAL1*, *TAL2*, *LYL1*, *LMO1*, *LMO2*. U 70 % slučajeva uočene su klonalne preuredbe *CDKN2A/CDKN2B* s mutacijama NOTCH1 signalnog puta, dok se u 25 % pacijenata pronalaze *JAK-STAT* mutacije s *BCR-ABL* fuzijskim genom, a *KMT2A* preuredbe u 5 % slučajeva (47). Međutim, najčešće mutacije čine preuredbe *TAL1* gena s *LMO1* alteracijama (49). U T-ALL, hiperploidija je rijetka.

Dominantne citogenetske abnormalnosti pedijatrijske AML uključuju uravnotežene kromosomske reorganizacije kao što su translokacije i inverzije (11). Prema prognostičkom značaju dijele se u niskorizične te visokorizične skupine. U niskorizičnu skupinu ubrajaju se *RUNX1-RUNX1T1* fuzijski gen nastao translokacijom (8;21)(q22;q22), te *CBFB-MYH11* fuzijski gen nastao inverzijom kromosoma 16 (p13;q22), koje ujedno čine najčešću AML podgrupu s 25 % pojavnosti (11). *PML-RARA* fuzijski gen, temelj je dijagnoze akutne promijelocitne leukemije, nastao translokacijom (15;17)(q24;q21) (11). S druge strane, u visokorizične skupine ubrajaju se *KMT2A* klonalna reorganizacija koja se vrlo često pronalazi u monocitnih AML, te *NUP98* fuzijski gen, najčešće povezan s translokacijama *NSD1* i *KDM5A* genima (11, 50). Međutim, iako vrlo rijetke u pedijatrijskoj populaciji, no povezane s lošom prognozom, postoje nebalansirane kromosomske abnormalnosti kao što su monosomija kromosoma 5 i 7, uz deleciju 5q i 7q, te trisomija kromosoma 8 (11).

Leukemijski klon KML obilježen je posebnom citogenetskom abnormalnošću recipročne kromosomske translokacije između *ABL* gena kromosoma 9, q34.1 regije, i *BCR* gena kromosoma 22, q11.2 regije, kojim se stvara fuzijski gen *BCR-ABL1*, poznat kao Philadelphia kromosom (34). Ova citogenetska anomalija omogućava dijagnostičko razlikovanje KML od drugih mijeloproliferativnih neoplazmi. Međutim, Philadelphia kromosom se može pronaći i u dječjoj ALL (2 – 5 %), stoga ne predstavlja potvrdnu dijagnozu KML. Većina slučajeva u pedijatrijskoj KML povezana je s prisutnošću *major-bcr* fuzijskog gena, te manje često prisutnim *minor-bcr* (34).

U slučaju citogenetske analize BL, dijagnostiku potvrđuje prisutnost kromosomskih translokacija *c-MYC* onkogeni i regulatornog lokusa za imunoglobuline kao što su t(8;14), t(8;22) ili t(2;8) (39). Dok se kod DLBL pronalazi klonalna preuredba kratkih krakova kromosoma 9 i 2, na kojima se nalaze regije za aktivaciju JAK2 puta (39). U ALCL pronalaze se kromosomske alteracije *ALK* gena (39).

### **1.7. Terapijski protokoli**

Primjena suvremene terapije postiže se prepoznavanjem kliničkih, molekularnih i citogenetičkih karakteristika te njihove prognostičke podudarnosti koja omogućava bolje rezultate liječenja s manje nuspojava, a dokaz predstavlja smanjena stopa mortaliteta. Prije početka liječenja potvrđuju se prognostički faktori bolesti prema kojima se određuje intenzitet i trajanje terapije. Prognostički faktori dijele pacijente u skupine niskog rizika, intermedijarnog te visokog rizika, a određuju se analizom: dobi i spola djeteta, broja leukocita prilikom

dijagnoze, zahvaćenosti središnjeg živčanog sustava, imunofenotipa, kromosomske abnormalnosti, te određivanjem minimalne ostatne bolesti tijekom faza liječenja (7, 51).

Prilikom liječenja primjenjuju se kemoterapija, radioterapija te transplantacija krvotvornih matičnih stanica (HSCT) u visokorizične skupine pacijenata. Nakon kliničko-laboratorijske procjene vrste i težine bolesti, započinje liječenje prema protokolu kojim je određena vrsta lijeka, doza i način primjene uz suportivnu terapiju u slučaju pojave nuspojava (6). Najprimjenjeniji protokol za liječenje akutnih pedijatrijskih leukemija je njemački protokol ALL-IC-BFM 2009 (6). Navedeni protokol obuhvaća nekoliko faza: indukcija remisije, profilaksa SŽS, konsolidacija, kasna intenzifikacija i terapija održavanja (7, 31, 51). U prosjeku liječenje traje 2 – 3 godine, međutim većina djece, 95 % ALL te 80 – 85 % s AML, postigne kompletnu remisiju pri kraju faze indukcije remisije (7, 51). Kompletna klinička i molekularna remisija proglašava se ako je količina blasta u koštanoj srži < 5 % bez prisutnosti simptoma i znakova (36).

Faza indukcije remisije (Protokol I faza A) traje 3 – 4 tjedna, a cilj je postići kompletnu kliničku i hematološku remisiju bolesti (51). U toj fazi temelj primjene predstavljaju kemoterapeutici: glukokortikoidi (prednizon ili deksametazon) uz vinkristin, L-asparginazu ili kao dodatni lijek, antraciklin (daunorubicin) (51). Tijekom ove faze, obično se primjenjuje i terapija profilakse SŽS metotreksatom, koji se, prema novoj studiji St. Jude, primjenjuje intratekalno uz kombinaciju sa sistemnom kemoterapijom (7).

Faza konsolidacije (Protokol I faza B) započinje nakon postignute kliničke remisije, a temelji se na kombinaciji intenzivne systemske i SŽS terapije. Uključuje primjenu ciklofosfamida, citarabina i merkaptopurina (51). Cilj je prevencija ponovnog rasta malignih stanica, redukcija ostatnog tumora te sprječavanje pojave rezistentnih leukemijskih stanica (7).

Kasna intenzifikacija (Protokol II) kritičan je korak liječenja u nisko i visoko rizičnih pacijenata zbog utjecaja na smanjenje incidencije relapsa u tih pacijenata (51, 52). U ovoj fazi koriste se citostatici koji su indicirani u fazama protokola I.

Terapija održavanja bolesti započinje nakon kasne intenzifikacije, a traje sljedeće 2 – 3 godine. Uključuje oralnu primjenu 6-merkaptopurina, metotreksata uz povremeno liječenje vinkristinom, kortikosteroidima i intratekalnom terapijom (7, 51). Ako dođe do kliničkog i molekularnog relapsa bolesti, za liječenje se primjenjuju protokoli posebno namijenjeni za relaps uz HSCT kao temelj liječenja.

U slučaju liječenja limfoma, Hrvatski centri koriste EuroNet-PHL protokol namijenjen za pedijatrijske limfome. Protokol se provodi u djece ranog, uznapredovalog i kasnog stadija bolesti, a temelji se na kombinaciji dvije do četiri intenzivne faze indukcije remisije, ovisno o stadiju bolesti, uz dodatan ciklus radioterapije u svih bolesnika (53). Faze indukcije uključuju primjenu kemoterapeutika kao što su: vinkristin, etopozid, prednizon i doksorubicin kod djece ranog stadija limfoma, te ciklofosamid, vinkristin, prednizon i doksorubicin u djece poodmaklih stadija (53, 54).

Iako se pravovremenom primjenom protokola, te napretkom citogenetike i molekularne analize, stopa preživljenja pedijatrijskih leukemija i limfoma znatno povećala, rezultat još uvijek nije zadovoljavajući, uz popratne nuspojave, komorbiditete te povećani rizik za sekundarni razvoj tumora izazvanim terapijskim zračenjem (53, 54). Problem predstavlja i liječenje djece s relapsom i refraktornom bolešću. Time se pojavila potreba za razvojem drugih oblika terapije u ovih bolesti. U posljednjem desetljeću, došlo je do unaprjeđenja terapijskih mogućnosti primjenom imunoterapije i molekularno ciljane terapije u visokorizičnih te u slučaju relapsa ili refraktorne bolesti (31, 51, 55). Njihova primjena je sve atraktivnija radi ciljanog djelovanja i potencijalne zamjene kemoterapije, čijom se primjenom razvija širok spektar nuspojava. Kardiotsičnost, neurotsičnost, mijelosupresija, infekcije, frakture, tromboze te alergijske reakcije predstavljaju najčešće nuspojave kemoterapeutika. Prilikom liječenja relapsa bolesti, uz kemoterapiju, kombinira se molekularno ciljana terapija (tirozin kinazni inhibitori i proteosomni inhibitori) ili imunoterapija (bispecifična monoklonska antitijela, T-stanična terapija kimernim antigen receptorom (CAR-T), konjugati antitijela i lijeka) (47, 51).

Studije su pokazale kako u liječenju relapsa i refraktorne B-ALL, bolje rezultate pokazuje primjena monoklonskih CD19 i CD22 protutijela (blinatumomab i inotuzumab ozogamicin), te CAR-T, dok za AML i T-ALL antitijela usmjerena prema CD23 i CD38 (51, 55). Zadovoljavajuć terapijski odgovor u liječenju relapsa ALCL, pokazan je primjenom vinblastina, brentuksimab vedotinoma i inhibitora anaplastične limfomne kinaze (54). CAR-T terapija može se primjenjivati u djece s izoliranim relapsom koštane srži, ali i izoliranim ili kombiniranim ekstramedularnim relapsom (51).

U slučaju KML, liječenje se bazira na primjeni tirozin kinaznih inhibitora (TKI) prilikom kronične faze, što zamjenjuje primjenu HSCT u ove djece. HSCT se primjenjuje samo u slučaju rezistencije ili tolerancije na TKI ili kod djece u blastičnoj krizi.

## 2. CILJEVI

Glavni cilj ovog istraživanja je utvrditi etiologiju i klinička obilježja djece s novodijagnosticiranim limfoproliferativnim bolestima liječenih na Klinici za pedijatriju u Kliničkom bolničkom centru Osijek.

Specifični ciljevi istraživanja su:

1. Ispitati učestalost limfoproliferativnih bolesti te ishod u liječenju istih u Zavodu za hematologiju i onkologiju, Klinike za pedijatriju KBC-a Osijek u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 31. prosinca 2023.
2. Ispitati postojanje razlike u pojavnosti limfoproliferativnih bolesti u odnosu na dob, spol, postojeće komorbiditete, perinatalne čimbenike rizika i obiteljsku anamnezu (hematološke i onkološke bolesti).
3. Ispitati učestalost i vrste kromosomskih abnormalnosti citogenetskim i imunofenotipizacijskim metodama u ispitanika s novodijagnosticiranim limfoproliferativnim bolestima.
4. Prikazati povezanost kromosomskih abnormalnosti s kliničkim i biološkim karakteristikama te ishodima liječenja limfoproliferativnih bolesti u djece.

### 3. ISPITANICI I METODE

#### 3.1. Ustroj studije

Istraživanje je provedeno na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Osijek kao presječno istraživanje s povijesnim podacima.

#### 3.2. Ispitanici

Istraživanje je provedeno na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Osijek, te obuhvaća sve ispitanike s novodijagnosticiranim limfoproliferativnim bolestima u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 31. prosinca 2023. godine. U istraživanje je uključena pedijatrijska populacija pacijenata do 18 godina koji zadovoljavaju sljedeće kriterije: potvrđenu limfoproliferativnu bolest citogenetskim i molekularnim dijagnostičkim metodama. Veličina uzorka je 30 pacijenata. Nema isključnih faktora.

#### 3.3. Metode

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Osijek, Sveučilišta J. J. Strossmayera u Osijeku.

Podatci su se prikupili pregledom medicinske dokumentacije iz bolničkog informatičkog sustava (BIS) za svakog pojedinog ispitanika. Prikupljeni podatci su sljedeći: demografski, klinički, biokemijski, hematološki i genetički podaci svih ispitanika s dijagnosticiranom leukemijom i limfomom. Za svakog ispitanika prikupljeni su podatci o spolu, dobi, visini i težini, iz kojih su izračunate centile. Također, zabilježili su se podatci o dobi prilikom postavljanja dijagnoze, priležecim komorbiditetima (autoimune bolesti, onkološke, hematološke bolesti i genetski sindromi) i obiteljskoj anamnezi koja uključuje genetsku predispoziciju limfoproliferativnim bolestima članova obitelji do trećeg koljena (hematološke i onkološke bolesti). U obzir su se uzimali i perinatalni čimbenici (komplikacije tijekom trudnoće i poroda). Klinička obilježja limfoproliferativnih bolesti kao što su febrilitet, bljedoća, umor, neproduktivan kašalj, promjene na koži bolesnika u vidu petehija, modrica te pruritusa, limfadenopatija, hepatosplenomegalija, te bol u kostima, također su ulazile u studiju. Prikupljeni su i laboratorijski nalazi periferne krvi (hematološki i biokemijski parametri). Nadalje, promatrani su podatci o citološkim i citokemijskim analizama punktata koštane srži i bioptata limfnih čvorova, imunofenotipizaciji na protočnom citometru te citogenetskim analizama uzoraka koštane srži i limfnih čvorova, radi utvrđivanja pojedinačnog tipa leukemije i limfoma. Osim toga, prikupili su se i podatci o terapijskim protokolima, komplikacijama

liječenja te primjeni potporne terapije. Pratio se i ishod liječenja u djece s limfoproliferativnim bolestima.

### **3.4. Statističke metode**

Kategorički podaci su predstavljeni apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike u kategoričkim varijablama testirane su Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro-Wilkovim testom, a zbog razdiobe koja ne slijedi normalnu, podaci su opisani medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike u kontinuiranim varijablama u odnosu na dvije nezavisne skupine testirane su Mann Whitneyevim U testom. Sve  $P$  vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na  $\alpha = 0,05$ . Za analizu podataka korišten je statistički program MedCalc® Statistical Software version 22.018 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2024).

#### 4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 30 ispitanika od kojih je 19 (63 %) muškog, a 11 (37 %) ženskog spola. Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze je 12 godina, u rasponu od najmanje mjesec dana do najviše 16,5 godina. Medijan tjelesne mase je 75. centila, a tjelesne visine 50. centila. Svi ispitanici žive u gradu, a najviše ih je iz Osječko-baranjske županije, 20 (67 %). Pozitivna obiteljska anamneza bilježi se kod 5 (17 %) ispitanika, a kod svih je to treći stupanj srodnosti. (Tablica 1.).

Tablica 1. Opća obilježja ispitanika (1/2)

	Broj (%) ispitanika	
<b>Spol</b>		
Muško	19 (63)	
Žensko	11 (37)	
<b>Dob [Medijan (interkvartilni raspon)]</b>		
	12 (4 – 14)	
<b>Centile [Medijan (interkvartilni raspon)]</b>		
Tjelesna masa	75 (50 – 90)	
Tjelesna visina	50 (20 – 90)	
<b>Mjesto stanovanja</b>		
Grad	30 (100)	
Selo	0	
<b>Raspodjela po županijama</b>		
Osječko-baranjska županija	20 (67)	
Vukovarsko-srijemska županija	9 (30)	
Brodsko-posavska županija	1 (3)	
<b>Obiteljska anamneza za leukemije/limfome</b>		
Pozitivna	Prvi stupanj srodnosti	0
	Drugi stupanj srodnosti	0
	Treći stupanj srodnosti	5 (17)

U obiteljskoj anamnezi bilježi se najviše malignih bolesti, kod 16 (53 %) ispitanika. Komorbiditeti su prisutni kod 14 (47 %) ispitanika (Tablica 2.).



Tablica 2. Opća obilježja ispitanika (2/2)

	Broj (%) ispitanika
Ostala obiteljska anamneza	
Maligne bolesti	16 (53)
Autoimune bolesti	9 (30)
Kronične nezarazne bolesti	8 (27)
Neurološke bolesti	7 (23)
Hematološke bolesti	1 (3)
Komorbiditeti	
Hematološke bolesti	4 (13)
Autoimune bolesti	6 (20)
Down sindrom	5 (17)

Od ukupnog broja ispitanika, 19 (63 %) ih je s leukemijom a 11 (37 %) s limfomom. Od 11 (37 %) ispitanika s limfomom 4/11 je s Non-Hodgkinov, a 7/11 s Hodgkinovim limfomom. Medijan pojavnosti limfoproliferativnih bolesti je 5 ispitanika godišnje (Tablica 3).

Tablica 3. Pojavnost limfoproliferativnih bolesti u KBC-u Osijek.

	Broj (%) ispitanika
Godišnja pojavnost limfoproliferativnih bolesti [Medijan (interkvartilni raspon)]	5 (1 – 6)
Leukemija	
Akutna limfoblastična leukemija	15 (79)
Akutna mijeloblastična leukemija	4 (21)
Limfom	
Non-Hodgkinov (n* = 4)	B-limfoblastični limfom 2 / 4
	Burkittov limfom 1 / 4
	DLBL <sup>†</sup> 1 / 4
Hodgkinov (n* = 7)	Nodularna skleroza 4 / 7
	Miješana celularnost 2 / 7
	NLPHL <sup>‡</sup> 1 / 7

\*n – broj; †DLBL – difuzni B-velikostanični limfom; ‡NLPHL – nodularna limfocitna predominacija Hodgkinov limfom

Značajno je starija dob kod dijagnosticiranja u slučaju limfoma u odnosu na leukemiju (Mann Whitney U test,  $P = 0,03$ ), dok u ostalim podjelama nema značajnih razlika u odnosu na dob (Tablica 4).

Tablica 4. Limfoproliferativne bolesti u odnosu na dob ispitanika.

	Medijan (interkvartilni raspon) Dobi (godine)	$P^*$
Limfoproliferativne bolesti		
Leukemija	5 (3 -14)	<b>0,03</b>
Limfom	13 (12 – 15)	
Leukemija		
Akutna limfoblastična	11 (3 - 14)	0,42
Akutna mijeloična	3 (0 - 13)	
Limfom		
Non-Hodgkinov	13 (7 - 16)	0,70
Hodgkinov	13 (12 - 14)	

\*Mann Whitney U test

Najučestaliji perinatalni čimbenik je kod 7 (23 %) ispitanika komplikacija tijekom trudnoće/poroda, dok je preeklampsiju imala samo jedna majka (Tablica 5).

Tablica 5. Raspodjela ispitanika u odnosu na perinatalne čimbenike.

	Broj (%) ispitanika
Blizanačka trudnoća	2 (7)
Komplikacije tijekom trudnoće/poroda	7 (23)
Preeklampsija	1 (14)
IUGR*	2 (29)
Infekcije	4 (57)

\*IUGR – Intrauterini zastoj rasta (prema engl. *Intrauterine growth restriction*)

Prilikom postavljanja dijagnoze, najučestalije kliničko obilježje kod 19 (63 %) ispitanika je supraklavikularna i cervikalna limfadenopatija, bljedoća kod 16 (53 %) ispitanika, a povišena tjelesna temperatura kod njih 17 (57 %) (Tablica 6).

Tablica 6. Klinička obilježja limfoproliferativnih bolesti pri postavljanju dijagnoze.

	Broj (%) ispitanika
<b>Nespecifični simptomi</b>	
Umor	10 (33)
Povišena tjelesna temperatura	17 (57)
Bljedoća	16 (53)
B-simptomi	2 (7)
Hemoragijska dijateza	9 (30)
Ulceracije usne sluznice	2 (7)
<b>Limfadenopatija</b>	
Supraklavikularna i cervikalna	19 (63)
Ingvinalna	11 (37)
Hepatomegalija	6 (20)
Splenomegalija	11 (37)
Bol u kostima	4 (13)
Kronični kašalj	2 (7)
Gubitak na težini	7 (23)
<b>Ostali simptomi</b>	
Kožni	4 (13)
Neurološki – sinkopa i glavobolje	6 (20)
Gastrointestinalni – povraćanje i proljev	4 (13)
Muskuloskeletni – frakture i hipotonija	5 (17)

U biokemijskim pokazateljima, 9 (30 %) ispitanika je povišenih vrijednosti aspartat-aminotransferaze, 4 (13 %) s povišenim vrijednostima alanin-aminotransferaze, 6 (20 %) ispitanika je s povišenom gama-glutamilttransferazom, a povišene laktate ima 19 (63 %) ispitanika. Povišeni urati bilježe se kod 16 (53 %) ispitanika, željezo niže od referentne

vrijednosti imaju 2 (7 %) ispitanika, a povišen feritin njih 9 (30 %). Više vrijednosti C-reaktivnog proteina bilježe se kod 20 (67 %) ispitanika (Tablica 7).

Tablica 7. Prikaz biokemijskih nalaza u ispitanika.

		Broj (%) ispitanika
Aspartat-aminotransferaza	Uredna	20 (67)
	<b>Povišena</b>	9 (30)
Alanin-aminotransferaza	Uredna	24 (80)
	<b>Povišena</b>	4 (13)
Alkalna fosfataza	Uredna	18 (60)
	<b>Snižena</b>	8 (27)
Gama-glutamilttransferaza	Uredna	23 (77)
	<b>Povišena</b>	6 (20)
Laktat dehidrogenaza	Uredna	10 (33)
	<b>Povišena</b>	19 (63)
Ukupni proteini	Uredni	22 (73)
	Sniženi	3 (10)
Albumini	Uredni	16 (53)
	Sniženi	7 (23)
Urati	Uredni	5 (17)
	<b>Povišeni</b>	16 (53)
Željezo	Uredno	15 (50)
	<b>Sniženo</b>	2 (7)
	Povišeno	4 (13)
UIBC	Uredan	17 (57)
	Snižen	3 (10)
	Povišen	1 (3)
TIBC	Uredan	14 (47)
	Snižen	5 (17)
	Povišen	1 (3)
Feritin	Uredan	12 (40)
	Snižen	1 (3)
	<b>Povišen</b>	9 (30)
C – reaktivni protein	Uredan	8 (27)
	<b>Povišen</b>	20 (67)

U slučaju hematoloških nalaza, većina ispitanika ima snižen hemoglobin, hematokrit, i trombocite. Povišena sedimentacija se bilježi kod 10 (33 %) ispitanika, a fibrinogen kod 13 (43 %) ispitanika (Tablica 8).

Tablica 8. Prikaz hematoloških nalaza u ispitanika.

		Broj (%) ispitanika
Leukociti	Uredni	14 (47)
	<b>Sniženi</b>	5 (17)
	<b>Povišeni</b>	7 (23)
	<b>Hiperleukocitoza</b>	4 (13)
Eritrociti	Uredni	16 (53)
	<b>Sniženi</b>	14 (47)
Hemoglobin	Uredan	12 (40)
	<b>Snižen</b>	18 (60)
Hematokrit	Uredan	15 (50)
	<b>Snižen</b>	15 (50)
Trombociti	Uredni	10 (33)
	<b>Sniženi</b>	17 (57)
	Povišeni	3 (10)
Sedimentacija eritrocita	Uredno	7 (23)
	<b>Povišeno</b>	10 (33)
PV	Uredan	22 (73)
	Snižen	5 (17)
Fibrinogen	Uredan	14 (47)
	<b>Povišen</b>	13 (43)

Kod diferencijalne krvne slike, povišeni limfociti zabilježeni su u 7 (26 %) ispitanika, dok su neutrofili sniženi u 9 (56 %) ispitanika (Tablica 9).

Tablica 9. Prikaz nalaza diferencijalne krvne slike u ispitanika.

		Broj (%) ispitanika
Limfociti (n* = 27)	Uredni	17 (63)
	Sniženi	3 (11)
	Povišeni	7 (26)
Neutrofili (n* = 16)	Uredni	6 (38)
	Sniženi	9 (56)
	Povišeni	1 (6)

\*n – broj ispitanika

U razmazu periferne krvi većina ispitanika ima uredne nesegmentirane granulocite, monocite i limfocite. Snižene segmentirane granulocite ima 18 (67 %) ispitanika, a povišene mijelocite i metamijelocite 11 (37 %) ispitanika. Više od 20 % blasta ima 10 (50 %) ispitanika (Tablica 10).

Tablica 10. Laboratorijski nalazi razmaza periferne krvi.

		Broj (%) ispitanika
Nesegmentirani granulociti (n* = 24)	Uredni	14 (58)
	Sniženi	2 (8)
	Povišeni	8 (34)
Segmentirani granulociti (n* = 27)	Uredni	9 (33)
	Sniženi	18 (67)
Monociti (n* = 25)	Uredni	18 (72)
	Sniženi	5 (20)
	Povišeni	2 (8)
Limfociti (n* = 27)	Uredni	13 (48)
	Sniženi	6 (22)
	Povišeni	8 (30)
Mijelociti i metamijelociti	Povišeni	11 (37)
Blasti (n* = 20)	< 5%	4 (20)
	5 – 20 %	6 (30)
	> 20 %	10 (50)

\*n – broj ispitanika

U uzorku periferne krvi blasti limfoidne loze bilježe se kod 15 (88 %) ispitanika, a limfoidne loze u uzorku koštane srži kod 18 (86 %) ispitanika. U uzorcima limfnog čvora, po 4 (36 %) ispitanika imaju biljege specifične za nodularnu sklerozu ili za Non-Hodgkinov limfom (Tablica 11).

Tablica 11. Nalaz imunofenotipizacije iz uzoraka periferne krvi, koštane srži i limfnog čvora u ispitanika s limfoproliferativnim bolestima.

	Broj (%) ispitanika
<b>Uzorak periferne krvi</b>	
Blasti limfoidne loze	15 (88)
Blasti mijeloidne loze	2 (12)
<b>Uzorak koštane srži</b>	
Blasti limfoidne loze	18 (86)
B – imunofenotip („ <i>common</i> “ imunofenotip)	15 (83)
T – imunofenotip	3 (17)
Blasti mijeloidne loze	3 (14)
<b>Uzorak limfnog čvora</b>	
CD 30, CD15, BCL6, MUM1, PAX5 – HL* nodularna skleroza	4 (36)
CD20, CD3, CD5, ciklin D1, EMA – NLPHL†	1 (9)
CD20, PAX5, CD30, MUM1, BCL6 – HL* miješana celularnost	2 (18)
CD20, PAX5, BCL6, CD10, Ki-67, c-myc – NHL‡	4 (36)

\*HL – Hodgkinov limfom; †NLPHL –nodularna limfocitna predominacija Hodgkinov limfom; ‡NHL – Non-Hodgkinov limfom

U ukupno 18 (60 %) nalaze se kromosomske aberacije. Od strukturnih klonalnih preuredbi 9 (30 %) ispitanika je s delecijom 9p21, a hiperploidija, kao numerička klonalna preuredba, nalazi se kod 12 (40 %) ispitanika. Preuredba gena T-staničnog receptora nalazi se kod 6 (20 %) ispitanika, a kod 13 (43 %) preuredba gena imunoglobulinskog teškog lanca (Tablica 12).

Tablica 12. Prikaz rezultata citogenetike i polimerazne lančane reakcije (PCR) iz uzorka koštane srži u pacijenata s limfoproliferativnim bolestima.

	Broj (%) ispitanika
Kromosomske aberacije	18 (60)
<b>Strukturne kromosomske aberacije</b>	13 (43)
Delecija 9p21	9 (30)
Inverzija kromosoma 16 – <i>CBFβ-MYH11</i>	2 (7)
Translokacija (12;21) – <i>ETV-RUNX1</i>	2 (7)
Intrakromosomska amplifikacija 21. kromosoma	1 (3)
Izokromosom	3 (10)
Ostale strukturne promjene ( <i>BCR-ABL1</i> i <i>JAK1/JAK2</i> )	1 (3)
<b>Numeričke kromosomske aberacije</b>	14 (47)
Trisomija 21. kromosoma	3 (10)
Hiperploidija	12 (40)
Klonalna preuredba <i>TCR</i> <sup>*</sup> gena	6 (20)
Klonalna preuredba <i>IgH</i> <sup>†</sup> gena	13 (43)

<sup>\*</sup>TCR – T-stanični receptor (prema engl. *T-cell receptor*); <sup>†</sup>IgH – imunoglobulinski teški lanac

Rezultati biopata limfnog čvora i punktata koštane srži prikazanu su u Tablici 13.

Tablica 13. Prikaz histoloških nalaza citološke punkcije limfnih čvorova i koštane srži u ispitanika s limfomom i leukemijom.

	Broj (%) ispitanika
<b>Biopat limfnog čvora</b>	
Hodgkinove stanice	6 (60)
Reed-Sternbergove stanice	6 (60)
Histiocitarne stanice	8 (80)
Limfoblasti i mali limfociti	10 (100)
<b>Punktat koštane srži</b>	
Blasti	< 5% 5 (25)
	5 – 20% 5 (25)
	> 20% 10 (50)



Kod 17 (57 %) ispitanika primijenjen je terapijski protokol ALL-IC-BFM 2009, a BFM-NHL samo kod jednog ispitanika. Remisija je postignuta kod svih pacijenata (Tablica 14).

Tablica 14. Primijenjeni terapijski protokoli.

	Broj (%) ispitanika
ALL-IC-BFM 2009	17 (57)
AML-BFM-2019	2 (7)
EuroNet PHL C1	7 (23)
BFM-NHL	1 (3)

Nema značajne razlike u vremenu do remisije s obzirom na skupine (Tablica 15).

Tablica 15. Medijan vremena do postignute remisije u mjesecima.

	Medijan (interkvartilni raspon) vremena do remisije (mjeseci)	<i>P</i> *
<b>Limfoproliferativne bolesti</b>		
Leukemija (n = 9)	6 (5 - 16)	0,38
Limfom (n = 8)	5 (2 - 12)	
<b>Leukemija</b>		
ALL (n = 7)	7 (6 - 24)	0,14
AML (n = 2)	5 (4 - 5)	
<b>Limfom</b>		
Non-Hodgkinov (n = 3)	12 (2 - 12)	0,52
Hodgkinov (n = 5)	2 (2 - 13)	

\*Mann Whitney U test

Tijekom liječenja, kod 28 (93 %) ispitanika korišteni su antibiotici, a kod 19 (63 %) ispitanika krvni derivati kao potporna terapija (Tablica 16).

Tablica 16. Vrste potporne terapije korištene tijekom liječenja.

	Broj (%) ispitanika
Antibiotici	28 (93)
Antimikotici	17 (57)
Krvni derivati	19 (63)
Potporna gastrointestinalnog sustava	10 (33)
Intravenski imunoglobulin	7 (23)
Ostala potporna terapija	6 (20)

Tijekom liječenja, kod 14 (47 %) ispitanika kao komplikacija bilježi se pancitopenija, kod 13 (43 %) ostale komplikacije. Febrilnu neutropeniju ima 7 (23 %) ispitanika a po 5 (17 %) ispitanika alergijsku reakciju na citostatike ili gastrointestinalne komplikacije (Tablica 17).

Tablica 17. Komplikacije zabilježene tijekom liječenja.

	Broj (%) ispitanika
Respiratorne bolesti	8 (27)
Pancitopenija	14 (47)
Febrilna neutropenija	7 (23)
Alergijska reakcija na citostatike	5 (17)
Hipogamaglobulinemija	3 (10)
Osteoporoza i frakture	1 (3)
Gastrointestinalne komplikacije	5 (17)
Ostale komplikacije	13 (43)

Nema značajnih razlika u raspodjeli ispitanika prema spolu, pozitivnoj obiteljskoj anamnezi i komorbiditetima u odnosu na to radi li se o limfomu ili leukemiji (Tablica 18).

Tablica 18. Raspodjela ispitanika prema općim obilježjima i vrsti limfoproliferativne bolesti.

	Broj (%) prema bolesti			P*
	Leukemija	Limfom	Ukupno	
Spol				
Muško	10 (53)	9 (82)	19 (63)	0,14
Žensko	9 (47)	2 (18)	11 (37)	
Pozitivna obiteljska anamneza (leukemija/limfom)	3 (17)	2 (18)	5 (17)	> 0,99
Komorbiditeti	10 (53)	4 (36)	14 (47)	0,47
Hematološke bolesti	4 (21)	0	4 (13)	0,27
Autoimune bolesti	4 (21)	2 (18)	6 (20)	> 0,99
Down sindrom	5 (26)	0	5 (17)	0,13

\*Fisherov egzakti test

Nema značajnih razlika u raspodjeli ispitanika prema perinatalnim čimbenicima u odnosu na vrstu bolesti (Tablica 19).

Tablica 19. Raspodjela ispitanika prema perinatalnim čimbenicima u odnosu na limfoproliferativne bolesti.

	Broj (%) prema bolesti			P*
	Leukemija	Limfom	Ukupno	
Blizanačka trudnoća	0	2 (18)	2 (7)	0,14
Preeklampsija, IUGR <sup>†</sup> , infekcije	4 (22)	3 (27)	7 (24)	> 0,99

\*Fisherov egzakti test; <sup>†</sup>IUGR – Intrauterini zastoje rasta (prema engl. *Intrauterine growth restriction*)

Povišenu tjelesnu temperaturu (Fisherov egzakti test,  $P = 0,002$ ), bljedoću (Fisherov egzakti test,  $P = 0,007$ ) i hemoragijsku dijatezu (Fisherov egzakti test,  $P = 0,01$ ) imaju značajnije više ispitanici s leukemijom u odnosu na one s limfomom.

Supraklavikularnu i cervikalnu limfadenopatiju imaju značajnije više ispitanici s limfomom u odnosu na one s leukemijom (Fisherov egzakti test,  $P = 0,02$ ) (Tablica 20).

Tablica 20. Raspodjela ispitanika prema pojavnosti limfoproliferativnih bolesti u odnosu na klinička obilježja.

	Broj (%) prema bolesti			P*
	Leukemija	Limfom	Ukupno	
<b>Nespecifični simptomi</b>				
Umor	9 (47)	1 (9)	10 (33)	0,49
Povišena tjelesna temperatura	15 (79)	2 (18)	17 (57)	<b>0,002</b>
Bljedoća	14 (74)	2 (18)	16 (53)	<b>0,007</b>
Hemoragijska dijateza	9 (47)	0	9 (30)	<b>0,01</b>
Ulceracije usne sluznice	2 (11)	0	2 (7)	0,52
<b>Limfadenopatija</b>				
Supraklavikularna i cervikalna	9 (47)	10 (90)	19 (63)	<b>0,02</b>
Ingvinalna	7 (37)	4 (36)	11 (37)	> 0,99
Hepatomegalija	6 (32)	0	6 (20)	0,06
Splenomegalija	8 (42)	3 (27)	11 (37)	0,47
Skeletna bol	3 (16)	1 (9)	4 (13)	> 0,99
Kronični kašalj	1 (5)	1 (9)	2 (7)	> 0,99
Gubitak na težini	5 (26)	2 (18)	7 (23)	> 0,99
<b>Ostali simptomi</b>				
Kožni	1 (5)	3 (27)	4 (13)	0,13
Neurološki	5 (26)	1 (9)	6 (20)	0,37
Gastrointestinalni	3 (16)	1 (9)	4 (13)	> 0,99
Muskuloskeletni	4 (21)	1 (9)	5 (17)	0,63

\*Fisherov egzakti test

Nema značajnih razlika u raspodjeli ispitanika prema nalazu imunofenotipizacije iz uzoraka periferne krvi i koštane srži kod limfoproliferativnih bolesti (Tablica 21).

Tablica 21. Usporedba nalaza imunofenotipizacije iz uzoraka periferne krvi i koštane srži prema limfoproliferativnim bolestima.

	Broj (%) prema bolesti			P*
	Leukemija	Limfom	Ukupno	
<b>Periferna krv</b>				
Blasti limfoidne loze	9 (82)	6 (100)	15 (88)	0,52
Blasti mijeloidne loze	2 (18)	0	2 (12)	
<b>Koštana srž</b>				
Limfoidna loza				
B-immunofenotip	11 (100)	4 (57)	15 (83)	0,84
T-immunofenotip	0	3 (42)	3 (17)	
Mijeloidna loza	2 (15)	1 (12)	3 (14)	> 0,99

\*Fisherov egzaktni test

Klonalna preuredba gena za teški lanca imunoglobulina, nalazi se značajnije kod ispitanika s leukemijom u odnosu na one s limfomom (Fisherov egzaktni test,  $P = 0,01$ ), dok u ostalim strukturnim i numeričkim klonalnim preuredbama nema značajne razlike u odnosu na vrstu bolesti (Tablica 22).

Tablica 22. Usporedba klonalnih preuredbi u ispitanika prema limfoproliferativnim bolestima.

	Broj (%) prema bolesti			<i>P</i> *
	Leukemija	Limfom	Ukupno	
<b>Strukturne kromosomske aberacije</b>				
Delecija 9p21	8 (47)	1 (20)	9 (41)	0,36
Inverzija kromosoma 16	2 (12)	0	2 (9)	> 0,99
Translokacija 12;21	2 (12)	0	2 (9)	> 0,99
Intrakromosomska amplifikacija 21. kromosoma	1 (6)	0	1 (5)	> 0,99
Izokromosom	3 (18)	0	3 (14)	> 0,99
Ostale klonalne preuredbe	1 (6)	0	1 (3)	> 0,99
<b>Numeričke kromosomske aberacije</b>				
Trisomija 21. kromosoma	3 (18)	0	3 (14)	> 0,99
Hiperploidija	10 (59)	2 (40)	12 (55)	0,62
Klonalna preuredba <i>TCR</i> <sup>†</sup> gena	4 (33)	2 (50)	6 (40)	0,60
Klonalna preuredba <i>IgH</i> <sup>‡</sup> gena	12 (100)	1 (25)	13 (81)	<b>0,01</b>

\*Fisherov egzaktni test; <sup>†</sup>TCR – T-stanični receptor (prema engl. *T-cell receptor*); <sup>‡</sup>IgH – imunoglobulinski teški lanac

Rezultati povezanosti kromosomskih abnormalnosti s kliničkim i biološkim karakteristikama ispitanika s limfoproliferativnim bolestima nisu prikazani zbog nedovoljno velikog uzorka ispitanika i njihovih nalaza. Povezanost kromosomskih abnormalnosti s ishodima nije prikazana jer su svi ispitanici postigli remisiju.

## 5. RASPRAVA

Provedeno je istraživanje u obliku presječne studije s povijesnim podacima na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra u Osijeku. Istraživanje je uključivalo 30 ispitanika s limfoproliferativnim bolestima čija je dijagnoza postavljena u sedmogodišnjem razdoblju, od 1. siječnja 2017. do 31. prosinca 2023. godine. Budući da je u pitanju mali uzorak ispitanika ovog istraživanja, teško je donositi konkretne zaključke koji vrijede za opću populaciju, no rezultati ovog istraživanja pridonose pravovremenom prepoznavanju kliničkih obilježja u djece s limfoproliferativnim bolestima, te njihovim citogenetskim karakteristikama prema kojima se potom određuje adekvatan terapijski protokol te procjenjuje prognostički značaj.

Od ukupnog broja ispitanika s dijagnozom limfoproliferativnih bolesti u sedmogodišnjem razdoblju, njih 19 (63 %) je imalo leukemiju, a 11 (37 %) limfom, što je u skladu s dosadašnjom literaturom koja navodi kako je incidencija leukemija u djece do 20 godina života češća u usporedbi s incidencijom limfoma, kako na globalnoj razini tako i u Republici Hrvatskoj (1, 2). Medijan pojavnosti novodijagnosticiranih limfoproliferativnih bolesti na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra u Osijeku prema rezultatima iznosi pet slučajeva godišnje, dok u promatranom sedmogodišnjem periodu nije uočeno povećanje incidencije. Analizirana je pojavnost podtipova leukemija i limfoma u ispitanika. Rezultati istraživanja pokazali su prevagu u pojavnosti ALL (79 %), dok je AML zastupljena u 21 % ispitanika, te je time potvrđena činjenica kako je ALL najčešći podtip leukemije u pedijatrijskoj populaciji, s incidencijom od 75 % u djece do 15 godina (1, 19, 56). Nijedan ispitanik nije imao kroničan oblik leukemije. S druge strane, HL koji je potvrđen u 7 (74 %) ispitanika, češće je pojavnosti u odnosu na NHL s ukupno 4 (36 %) ispitanika, što se razlikuje s obzirom na najnovije dostupnu literaturu koja navodi kako je incidencija NHL nešto viša od incidencije HL (1). Prema histološkoj podjeli, najzastupljeniji je klasični HL, čiji se podtip nodularne skleroze pojavio kod 4 od ukupno 7 ispitanika, dok se podtip miješane celularnosti pojavio u dva slučaja. Oni čine najčešće podtipove HL prema pojavnosti, što je u skladu s istraženom literaturom (18). Također, utvrđena je i pojavnost podtipova NHL, kod kojeg je od ukupno 4 ispitanika, u polovice utvrđen B-LBL, te BL i DLBL u po jednog. Pregledom literature, najčešće se pojavljuje BL, zatim LBL i DLBL, no nepodudarnost literature s rezultatima istraživanja je očekivana radi malog uzorka (57).

Nadalje, pokazano je da je od ukupno 30 ispitanika 63 % bilo muškog spola, a 37 % ženskog spola. Prema istraživanju E. Lupatsch i suradnika provedenog u Švicarskoj 2021. godine,

utvrđena je češća incidencija leukemija u dječaka (58), što vrijedi i za incidenciju limfoma prema spolu (59), međutim zbog malog uzorka ispitanika u ovom istraživanju, nije se pokazala statistički značajna razlika u pojavnosti leukemija i limfoma prema spolu. Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze limfoproliferativnih bolesti iznosio je 12 godina, pri čemu su rezultati pokazali statistički značajno stariju dob pri dijagnosticiranju limfoma (13 godina) u odnosu na leukemiju (5 godina), što podupire ostale navode u literaturi, prema kojima je incidencija limfoma najčešća u dobi između 15 i 19 godina (14, 60), dok je u leukemija između 1 i 4 godine (11, 60).

Prema demografskim obilježjima ističe se kako je najveći broj ispitanika s limfoproliferativnim bolestima iz Osječko-baranjske županije, čak njih 67 %, dok je ostatak ispitanika iz Vukovarsko-srijemske te Brodsko-posavske županije. Svi ispitanici potiču iz urbanih dijelova. Studija Malagoli C. i suradnika provedena od 1998. do 2011. pokazala je kako djeca u urbanim sredinama imaju veći rizik za razvoj leukemije od djece u ruralnim područjima, što je u skladu s rezultatima ovog istraživanja (61).

Mehanizam nastanka leukemija i limfoma izrazito je kompleksan, a uključuje međudjelovanje endogenih i egzogenih čimbenika poput imunodeficientnih sindroma te nasljednih i stečenih genetskih i kromosomskih poremećaja, kojima je potreban okolišni faktor kako bi bolest započela (14, 19, 20, 25, 26). Stoga se posebna pozornost obratila obiteljskoj anamnezi i ostalim prisutnim komorbiditetima. Pozitivnu obiteljsku anamnezu na limfoproliferativne bolesti, posebice leukemije, imalo je 17 % ispitanika, kod kojih se radilo o trećem stupnju srodnosti. Od ostale obiteljske anamneze isticala se prisutnost malignih bolesti u 53 % ispitanika, te autoimunih bolesti u 30 %, dok je samo u jednog ispitanika (3 %) uočena hematološka bolest. Usporedbom pozitivne obiteljske anamneze i prisutnosti ostalih bolesti u obitelji, nije dokazana statistička značajna razlika s obzirom na leukemiju ili limfom.

Osobna anamneza u 47 % ispitanika ukazivala je na priležće komorbiditete, dok se od dodatnih komorbiditeta ističu autoimune bolesti kao što su hipotireoza, urtikarija te celijakija, u 20 % i hematološke bolesti u 13 %. U literaturi se ne navodi povećani rizik za nastanak limfoproliferativnih bolesti u slučaju pridruženih hematoloških i autoimunih bolesti, no navodi se poveznica za nastanak leukemije u djece s trisomijom 21. kromosoma te u blizanačkih trudnoća uz djelovanje perinatalnih čimbenika kao što su infekcije (14, 20). Stoga, iz istraživanja izdvajamo kako je u 5 ispitanika utvrđen Downov sindrom, dok je blizanačka trudnoća zastupljena u 2 ispitanika, što nije pokazalo statističku značajnost s obzirom na vrstu



limfoproliferativne bolesti. S obzirom na promatrane perinatalne čimbenike, ustanovljeno je kako je u 23 % ispitanika bila prisutna komplikacija tijekom trudnoće ili poroda od kojih se u polovice radilo o prisutnoj infekciji u navedenom razdoblju, što podupire literaturne navode kako je za razvoj limfoproliferativnih bolesti uz genetsku predispoziciju, prisutne somatske fuzijske gene ili epigenetske promjene nužan i egzogeni okidač, od kojih je infekcija najviše istražena u oboljele djece (20, 26, 62). Međutim, rezultatima nije pokazana statistički značajna razlika u pojavnosti limfoproliferativnih bolesti u usporedbi s perinatalnim čimbenicima i prisutnim komorbiditetima.

S obzirom na klinička obilježja prilikom postavljanja dijagnoze, u ispitanika s limfoproliferativnim bolestima najučestalije prijavljivani simptomi su supraklavikularna i cervikalna limfadenopatija (63 %), zatim bljedoća (53 %) te povišena tjelesna temperatura (57 %). Nadalje, rezultati istraživanja pokazali su kako od ukupno 19 ispitanika s dijagnozom leukemije, njih 15 je imalo povišenu tjelesnu temperaturu pri hospitalizaciji, a čak njih 14 prijavljuje bljedoću, dok su u polovice ispitanika primijećeni znakovi hemoragijske dijateze. Time je pokazana statistički značajnija pojavnost navedenih kliničkih obilježja u ispitanika s leukemijom. Navedeni rezultati djelomično se podudaraju s metaanalizom provedenom od strane Clarke T. i suradnika, prema kojoj su najučestaliji klinički znakovi leukemije bili hepatomegalija i splenomegalija, koji su u ovom istraživanju bili prisutni u trećine ispitanika (32). Nadalje, bljedoća, povišena tjelesna temperatura te znakovi hemoragijske dijateze prisutni su u polovice ispitanika uključenih u metaanalizu (32). S druge strane, kod ispitanika s limfomom najučestalije prijavljeni simptom bila je supraklavikularna i cervikalna limfadenopatija (90 %), što se u potpunosti podudara s ostalim literaturnim podacima prema kojima su najčešći simptomi limfadenopatija, povišena tjelesna temperatura te B-simptomi (63). Prema literaturi, uz navedene simptome u limfoma iznimno je česta prisutnost nadražajnog kašlja i dispneje, koje u ovom istraživanju nije značajno zabilježeno.

Pretraživanjem literature pokazano je da na limfoproliferativne bolesti ukazuju abnormalni hematološki parametri, zbog čega smo posebnu pozornost obratili na laboratorijske nalaze u ispitanika. Prema podacima iz dostupnih istraživanja, navedeno je kako se u perifernoj krvnoj slici u djece s leukemijom pronalaze parametri koji ukazuju na prisutnu anemiju, trombocitopeniju i granulocitopeniju, dok su razine leukocita varijabilne (18, 31, 64). Taj literaturni podatak sukladan je s rezultatima ovog istraživanja u kojemu su u polovice ispitanika bile prisutne snižene vrijednosti hemoglobina, hematokrita i eritrocita, ukazujući na prisutnost anemije. Također ističemo kako su rezultati pokazivali prisutnost trombocitopenije i

neutropenije u 57 % ispitanika, dok su vrijednosti leukocita varirale, pa je tako u 17 % ispitanika prisutan nalaz leukopenije, u 23 % leukocitoze, dok su u najvećeg broja (47 %) vrijednosti leukocita bile uredne. Ipak, kod malog broja ispitanika (13 %) zabilježena je hiperleukocitoza, koja se prema studiji Kittivisit S. i suradnika, provedenoj 2023. godine, nalazi u 19,2 % djece s ALL i u 21,7 % djece s AML, te čini loš prognostički faktor radi mogućeg razvoja napadaja, intrakranijalnog krvarenja, respiratornih poteškoća, koagulopatije, te raznih drugih metaboličkih stanja (65). U ovom istraživanju zbog malog uzorka ispitanika nije se analiziralo nalaz hiperleukocitoze prema ishodima bolesti.

Osim hematoloških nalaza, analizirali smo i biokemijske parametre iz kojih su zabilježeni povišeni upalni parametri u ispitanika s limfoproliferativnim bolestima, pa je tako C-reaktivni protein povišen u 67 % ispitanika dok je sedimentacija eritrocita povišena u trećine, što je očekivani rezultat s obzirom na dosadašnju literaturu (18). Od ostalih biokemijskih parametara, rezultati ukazuju da su u oko trećine ispitanika s limfoproliferativnim bolestima potvrđene povišene vrijednosti jetrenih enzima što upućuje na proširenost malignih stanica na organe gastrointestinalnog sustava (18, 31). Nadalje, pokazane su i povišene vrijednosti laktat dehidrogenaze, što je prema studiji Zahra SSA. i suradnika očekivan rezultat, s obzirom na to da su vrijednosti laktat dehidrogenaze povišene u malignih oboljenja (66). Osim navedenih biokemijskih parametara, važno je izdvojiti kako su vrijednosti urata i feritina također povišene.

Analizirali smo i uzorke razmaza periferne krvi u ispitanika, koji su pokazali snižene vrijednosti segmentiranih granulocita u 67 % ispitanika. Od 20 ispitanika, kojima je uzorkovana periferna krv za razmaz, u njih 4, razina blasta bila je manja od 5 %, dok je u njih 10 razina iznosila preko 20 %, što je uz dodatne citološke i citokemijske pretrage koštane srži, te imunofenotipizaciju i citogenetiku, pripomoglo u razlučivanja pri postavljanju dijagnoze leukemije i limfoma. Prema literaturnim navodima kojima su se istraživale vrijednosti blasta u perifernoj krvi i koštanoj srži, limfom obično karakterizira prisutnost istih u rasponu od 5 do 20 %, dok su vrijednosti veće od 20 % vezane uz leukemiju (31).

Imunofenotipizacijska analiza omogućava razlikovanje staničnog podrijetla i stadija sazrijevanja malignih stanica prema njihovim površinskim i citoplazmatskim antigenima, te ih razlikuje od zdravih stanica (67). Pretragom literaturnih podataka i drugih studija baziranih na proučavanju imunofenotipa u leukemija i limfoma, navedeni su specifični markeri za prepoznavanje blasta limfoidne loze (CD10 i TdT) od blasta mijeloidne loze (anti-MPO, CD13,

CD14, CD33, CD64, CD117, CD41, CD61). Ujedno se razlikuju markeri kojima se može diferencirati B-limfoidna loza (CD19, CD20, citoplazmatski CD22) od T-limfoidne loze (CD2, CD3, citoplazmatski CD3, CD4, CD5, CD8, CD7) u slučaju leukemija (68). Rezultati nalaza imunofenotipizacije iz uzoraka periferne krvi i koštane srži, pokazali su kako je više od 85 % ispitanika imalo prisutne blaste limfoidne loze, dok su u manjine ispitanika bili prisutni blasti mijeloidne loze. Također smo dodatno iz uzorka koštane srži analizirali učestalost B i T-staničnog podrijetla, no zbog nedostataka informacija nismo mogli proučiti stupanj zrelosti leukemijskih stanica. Od 18 analiziranih uzoraka, u 15 ispitanika dokazan je B-imunofenotip, a kod svih se radilo o *common* B-ALL, dok je u ostalih ispitanika pokazano kako se radi o T-ALL imunofenotipu. Dakle, prema rezultatima zaključujemo kako je incidencija B-ALL češća naspram T-ALL kao i sama pojavnost akutne leukemije limfoidne loze naspram akutne leukemije mijeloidne loze (1, 56, 62). Nadalje, imunofenotipski smo obradili i uzorke limfnih čvorova u ukupno 11 ispitanika s limfomom, čijim je rezultatima pokazana prisutnost markera specifičnih za NHL (CD20, CD10, PAX5, BCL6, Ki-67, c-myc) i za nodularnu sklerozu HL (CD30, CD15, BCL6, MUM1, PAX5) u po četvero ispitanika, dok je u dvoje ispitanika pokazana prisutnost biljega karakterističnih za HL miješane celularnosti (CD20, CD30, PAX5, BCL6, MUM1), a u jednog su pokazani biljezi za HL nodularne limfocitne predominacije (CD20, CD3, CD5, EMA, ciklin D1), što je prema proučenim podacima literature, u skladu s rezultatima istraživanja (39). Konačna dijagnoza podtipa limfoma postavlja se morfološkom analizom patohistološkog nalaza iz uzorka bioptata limfnog čvora, no radi nedostatnog broja nalaza nismo proučavali navedeni parametar. Navodimo kako se nije pokazala statistička značajnost u nalazima imunofenotipizacije usporedbom leukemija i limfoma.

Osim imunofenotipa u ispitanika s leukemijom i limfomom, analizirali smo i uzorke prikupljene za citogenetiku i molekularnu analizu, koji pružaju uvid o prisutnosti klonalnih preuredbi i imaju dijagnostičko-prognostički značaj (45). Citogenetska analiza FISH metodom proučavana je u ispitanika s leukemijom. Rezultati istraživanja pokazali su kako su stečene kromosomske aberacije prisutne u 60 % ispitanika. Nadalje, promatrala se prisutnosti strukturnih i numeričkih kromosomskih aberacija, kojima je dokazano kako se u najvećeg udjela ispitanika (30 %) pojavila delecija 9p21, dok su inverzija kromosoma 16 (*CBF-MYH11* fuzijski gen) i translokacija 12;21 (*ETV-RUNX1* fuzijski gen) podjednako zastupljene (7 %). Intrakromosomska amplifikacija 21. kromosoma i *BCR-ABL1* fuzijski gen pojavili su se u po jednog ispitanika. Prema studiji provedenoj od strane Hyun-Jong C. i suradnika, kojima se istraživala pojavnost kromosomskih aberacija u četverogodišnjem periodu, pokazano je kako

je fuzijski gen *ETV-RUNX1* (*TEL-AML1*), nastao translokacijom 12;21, najčešća kromosomska abnormalnost prisutna u 15 % djece s leukemijom, što nije u skladu s rezultatima ovog istraživanja (69). Hiperploidija se pokazala najprisutnijom strukturnom klonalnom preuredbom s pojavom u ukupno 40 % ispitanika, dok se hipoploidija nije našla ni u jednog ispitanika. Osim citogenetskog nalaza iz uzorka koštane srži, analiziran je i nalaz polimerazne lančane reakcije (PCR) u ispitanika s leukemijom i limfomom, kojim je dokazana prisutnost preuredbe gena za imunoglobulinski teški lanac u 43 % ispitanika. Pokazana je statistička značajnost rezultata molekularne analize prema tipu limfoproliferativne bolesti, iz koje zaključujemo kako se klonalna preuredba gena za imunoglobulinski teški lanac više pojavljuje u ispitanika s leukemijom.

Kako je provedena detaljna dijagnostička obrada imunofenotipa i kromosomskih aberacija klonalnih stanica, te time postavljena točna dijagnoza leukemije i limfoma, dalje se pristupalo liječenju. Od ukupno 19 ispitanika s leukemijom, 17 ispitanika podvrgnuto je protokolu za liječenje akutne limfoblastične leukemije, ALL-IC-BFM 2009, dok je dvoje ispitanika liječeno protokolom za akutne mijeloične leukemije, AML-BFM 2019. Nadalje, podatci o započetom liječenju limfoma prisutni su za ukupno 8 ispitanika, od kojih je 7 podvrgnuto EuroNet PHL C1 protokolu za liječenje limfoma, a jedan ispitanik se liječio po BFM-NHL protokolu. Unatoč prognostičkim faktorima određenim kromosomskih aberacijama klonalnih stanica, svi liječeni pacijenti postigli su remisiju bez podataka o relapsu bolesti. Međutim, rezultati istraživanja ne podudaraju se s istraženom literaturom, koja ukazuje na visoki rizik za relaps bolesti kod ispitanika s lošim prognostičkim faktorima, kao što su *BCR-ABL1* fuzijski gen te intrakromosomska amplifikacija 21. kromosoma (47, 11), no ovu nepodudarnost prepisujemo malom uzorku ispitanika. U istraživanju, medijan postignute remisije u pacijenata s leukemijom iznosi 6 mjeseci, dok u pacijenata s limfomom iznosi 5 mjeseci, pri čemu statistička značajnost prema tipu limfoproliferativne bolesti nije pokazana.

Usporedbu stečenih kromosomskih aberacija s kliničkim obilježjima i biološkim karakteristikama u limfoproliferativnih bolesti, nismo analizirali zbog početnog nedostatnog uzorka pacijenata i njihovih nalaza citogenetike. Povezanost stečenih kromosomskih aberacija s ishodom bolesti također nije analizirana zbog činjenice da su svi ispitanici postigli remisiju.

S obzirom na to da navedeni terapijski protokoli, primjenjivani kod ispitanika s leukemijom i limfomom imaju agresivan pristup s kombinacijom citostatika i kortikosteroida tijekom više ciklusa, u određenog broja ispitanika razvile su se razne komplikacije tijekom liječenja te je

radi istih uvedena i potporna terapija. Radi pancitopenije, najčešće komplikacije dokazane ovim istraživanjem, koja se pojavila u 47 % ispitanika, te febrilne neutropenije u 23 %, zahtijevala se primjena antibiotika u 93 % ispitanika uz antimikotike u 57 % radi liječenja i suzbijanja nastalih infekcija. Istraživanjem provedenom od strane Inaba H. i suradnika, koje je proučavalo najčešće komplikacije infektivnog podrijetla, pokazano je da je febrilna neutropenija prednjačila s obzirom na rezultate, dok je najčešći zahvaćeni organski sustav bio respiratorni (70). S druge strane, infekcije respiratornog sustava u ovom istraživanju, bile su zastupljene u 27 % ispitanika. Osim primjene antibiotika i antimikotika, u 63 % ispitanika primjenjivani su krvni derivati kao što su koncentracije trombocita i eritrocita. Alergijska reakcija na citostatike je prijavljena u 17 % pacijenata.

## 6. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Medijan pojavnosti limfoproliferativnih bolesti je do pet novootkrivenih bolesnika godišnje, najčešće ALL.
2. Limfoproliferativne bolesti nešto se češće javljaju kod dječaka, leukemija kod djece mlađe predškolske dobi, a limfomi češće kod adolescenata.
3. Obiteljska anamneza, perinatalni čimbenici kao ni komorbiditeti nisu pokazali značajan utjecaj na pojavnost limfoproliferativnih bolesti.
4. Vodeće kliničko obilježje kod djece s leukemijom bilo je povišena tjelesna temperatura i bljedilo kože prisutno kod više od polovine djece, te hemoragijska dijateza kod 1/3 ispitanika, dok je više od 60 % djece imalo supraklavikularnu i cervikalnu limfadenopatiju kao vodeći klinički znak kod limfoma.
5. Imunofenotipizacijom iz uzorka koštane srži, blasti limfoidne loze prisutni su kod 86 % ispitanika, a u 83 % radi se o B-imunofenotipu. Stečene kromosomske aberacije prisutne su u 60 % ispitanika, dok je delecija 9p21 najčešća strukturna, a hiperploidija numerička aberacija.
6. Svi oboljeli postigli su remisiju unutar 5 – 6 mjeseci liječenja, a u promatranom razdoblju nisu zabilježeni smrtni ishodi.

## 7. SAŽETAK

**CILJEVI ISTRAŽIVANJA:** Ispitati klinička obilježja, učestalost i ishod limfoproliferativnih bolesti te njihovu razliku u odnosu na dob, spol, komorbiditete, perinatalne čimbenike rizika i obiteljsku anamnezu; utvrditi vrste kromosomskih abnormalnosti i imunofenotipa.

**NACRT STUDIJE:** Presječno istraživanje s povijesnim podacima.

**ISPITANICI I METODE:** Istraživanje je provedeno na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Osijek u razdoblju od 2017. do 2023. godine. Pregledom medicinske dokumentacije i bolničkog informatičkog sustava prikupljeni su: demografski, klinički, biokemijski, hematološki i genetički podaci u 30 ispitanika s novodijagnosticiranom leukemijom i limfomom.

**REZULTATI:** U promatranom razdoblju dijagnosticirano je 30 djece s limfoproliferativnim bolestima (LPB) pri čemu medijan pojavnosti iznosi 5 slučajeva godišnje s većom pojavnošću leukemija (63 %) naspram limfoma (37 %). Medijan dobi pri dijagnozi leukemija iznosi 5 godina, a 13 godina u limfoma. S obzirom na spol, pojavnost LPB veća je u dječaka (63 %). Razlika u pojavnosti LPB s obzirom na pozitivnu obiteljsku anamnezu, komorbiditete i perinatalne čimbenike, ne postoji. Supraklavikularna i cervikalna limfadenopatija (63 %), febrilitet (57 %) i bljedoća (53 %), najčešća su klinička obilježja u djece s LPB. Imunofenotipizacijom pronalaze se blasti limfoidne loze u 86 % ispitanika, dok se citogenetikom potvrđuje prisutnost strukturnih i numeričkih kromosomskih aberacija u 60 %. Nakon postavljanja dijagnoze citogenetikom i imunofenotipizacijom, pristupa se liječenju prema protokolima kojima sva djeca postižu kompletnu remisiju.

**ZAKLJUČAK:** Ne postoji razlika u pojavnost LPB u odnosu na spol, komorbiditete, perinatalne čimbenike rizika i obiteljsku anamnezu, ali postoji u odnosu na dob. Utvrđivanjem kromosomskih aberacija pristupa se adekvatnom liječenju uz povoljan ishod u bolesnika.

**KLJUČNE RIJEČI:** citogenetika, imunofenotipizacija, limfoproliferativne bolesti

## 8. SUMMARY

**TITLE:** Clinical and cytogenetic features of leukemias in children treated in the Pediatric Department of KBC Osijek

**OBJECTIVES:** The aim of this study is to examine the clinical characteristics, frequency and outcome of lymphoproliferative diseases and their difference in relation to age, sex, comorbidities, perinatal risk factors and family history; determine the types of chromosomal abnormalities and immunophenotype.

**STUDY DESIGN:** A cross-sectional study with historical data.

**PARTICIPANTS AND METHODS:** The research was conducted at the Pediatric Clinic of Clinical Hospital Center Osijek in the period from 2017 to 2023. By reviewing the medical documentation, demographic, clinical, biochemical, hematological, and genetic data were collected in 30 subjects with diagnosed leukemia and lymphoma.

**RESULTS:** In the observed period, 30 children with lymphoproliferative diseases (LPD) were diagnosed, with an incidence of 5 children per year, and a higher incidence of leukemia (63 %) versus lymphoma (37 %). The median age at diagnosis of leukemia is 5 years, and 13 years for lymphoma. The occurrence of LPD is higher in male pediatric population (63 %). There are no differences in the occurrence of LPD considering a positive family history, comorbidities, and perinatal factors. Supraclavicular and cervical lymphadenopathy (63 %), fever (57 %) and pallor (53 %) are the most common clinical features in children with LPD. Immunophenotyping revealed blasts of the lymphoid lineage in 86 % of subjects, while cytogenetics confirmed the presence of structural and numerical chromosomal aberrations in 60 %. After establishing the diagnosis by cytogenetics and immunophenotyping, treatment is started according to the protocols by which all children achieved complete remission.

**CONCLUSION:** There is no difference in the occurrence of LPD in relation to gender, comorbidities, perinatal risk factors and family history, but the difference exist in relation to age. Determining the presence of chromosomal aberrations leads to adequate treatment with a favorable outcome among patients.

**KEY WORDS:** cytogenetics, immunophenotyping, lymphoproliferative diseases



## 9. LITERATURA

1. The Leukemia & Lymphoma Society. Facts 2022-2023. Updated Data on Blood Cancers. Kolovoz 2023. Dostupno na: <https://www.lls.org/booklet/facts-updated-data-blood-cancers>. Datum pristupa 2.1.2024.
2. Međunarodni dan djece oboljele od malignih bolesti (2023.) Hrvatski zavod za javno zdravstvo. Dostupno na: Međunarodni dan djece oboljele od malignih bolesti | Hrvatski zavod za javno zdravstvo (hzjz.hr). Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/aktualnosti/medunarodni-dan-djece-oboljele-od-malignih-bolesti-2/>. Datum pristupa: 30.12.2023.
3. National Cancer Institute. Cancer in Children and Adolescents 2023. Dostupno na adresi: <https://www.cancer.gov/types/childhood-cancers/child-adolescent-cancers-fact-sheet>. Datum pristupa: 05.03.2024.
4. Li W. The 5th Edition of the World Health Organization Classification of Hematolymphoid Tumors. Brisbane (AU): Exon Publications; 2022. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK586208/>. Datum pristupa: 05.03.2024.
5. Medeiros LJ, Chadburn A, Natkunam Y, Naresh KN, WHO 5th Edition Classification Project. Fifth Edition of the World Health Classification of Tumors of the Hematopoietic and Lymphoid Tissues: B-cell Neoplasms. *Modern Pathology: an official Journal of United States and Canadian academy of pathology Inc.* Veljača 2024. 2;37(4):100441.
6. Rajić Lj. Leukemije dječje dobi. *MEDICUS*. 2001. Vol. 10, No. 2, 167 – 172. Dostupno na adresi: <https://hrcak.srce.hr/file/30292>. Datum pristupa: 30.12.2023.
7. Huang FL, Liao EC, Li CL, Yen CY, Yu SJ. Pathogenesis of pediatric B-cell acute lymphoblastic leukemia: Molecular pathways and disease treatments. *Oncol Lett*. Srpanj 2020;20(1):448–54.
8. Tubergen D, Bleyer A, Ritchey K, Friehling E. The Leukemias. In: *Nelson Textbook of Pediatrics*, 20th edit. 2015. p. 2437–45.
9. Key Statistics for Childhood Leukemia. Dostupno na: <https://www.cancer.org/cancer/types/leukemia-in-children/about/key-statistics.html>. Datum pristupa: 06.03.2024.
10. Bowman RL, Busque L, Levine RL. Clonal hematopoiesis and evolution to hematopoietic malignancies. *Cell Stem Cell*. 2018;22:157–170.

11. Quessada J, Cucuini W, Saultier P, Loosveld M, Harrison CJ, Lafage-Pochitaloff M. Cytogenetics of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Review of the Current Knowledge. *Genes*. Lipanj 2021;12(6):924.
12. Creutzig U, Heuvel-Eibrink M.M.V.D, Gibson B, Dworzak M.N, Adachi S, De Bont E, i sur. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in children and adolescents: Recommendations from an international expert panel. *Blood* 2012;120:3187–3205.
13. Ford M, Mauro M, Aftandilian C, Sakamoto KM, Hijjiya N. Management of Chronic Myeloid Leukemia in Children and Young Adults. *Curr Hematol Malig Rep*. Listopad 2022;17(5):121–6.
14. Li W. Pathogenesis and Pathology of Pediatric Lymphoma. In: Gallamini A, Juweid M, editors. *Lymphoma*. Brisbane (AU): Exon Publications; 2021. Dostupno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK578254/>. Datum pristupa: 7. ožujak 2024.
15. Chang KC, Chang Y, Jones D, Su IJ. Aberrant expression of cyclin a correlates with morphogenesis of reed-sternberg cells in Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol*. Srpanj 2009;132(1):50–9.
16. Bienz M, Ramdani S, Knecht H. Molecular Pathogenesis of Hodgkin Lymphoma: Past, Present, Future. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):6623.
17. Cesare AJ, Hayashi MT, Crabbe L, Karlseder J. The telomere deprotection response is functionally distinct from the genomic DNA damage response. *Mol Cell*. Srpanj 2013; 25;51(2):141–55.
18. Mardešić D. *Pedijatrija*. 7. izd. Zagreb: Školska knjiga; 2016.
19. Bispo JAB, Pinheiro PS, Kobetz EK. Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harb Perspect Med*. Lipanj 2020;10(6):a034819.
20. Bilić E, Turudić D, Jelić M. Etiologija akutnih leukemija u djece. *Paediatr Croat*. 2021; 65 (Supl 1): 4-9
21. Cairo MS, Beishuizen A. Childhood, adolescent and young adult non-Hodgkin lymphoma: current perspectives. *Br J Haematol*. Lipanj 2019;185(6):1021–42.
22. Vukoje Matea. Leukemije u dječjoj dobi. Dostupno na adresi: <https://kromreza-hmst.hr/2023/09/04/leukemije-u-djecjoj-dobi/>. Datum pristupa: 2.1.2024.
23. Tebbi CK. Etiology of Acute Leukemia: A Review. *Cancers*. Svibanj 2021; 13(9):2256.
24. Conneely SE, Stevens AM. Acute Myeloid Leukemia in Children: Emerging Paradigms in Genetics and New Approaches to Therapy. *Curr Oncol Rep*. Siječanj 2021;13;23(2):16.

25. Bloom M, Maciaszek JL, Clark ME, Pui CH, Nichols KE. Recent advances in genetic predisposition to pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Expert Rev Hematol*. Siječanj 2020;13(1):55–70
26. Greaves M. Author Correction: A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2018; 18 (8): 526.
27. Hijiya N, Ness KK, Ribeiro RC, Hudson MM. Acute leukemia as a secondary malignancy in children and adolescents: current findings and issues. *Cancer*. Siječanj 2009;115(1):23–35.
28. Pearce MS, Salotti JA, Little MP, McHugh K, Lee C, Kim KP, i sur. Radiation exposure from CT scans in childhood and subsequent risk of leukaemia and brain tumours: a retrospective cohort study. *Lancet Lond Engl*. Kolovoz 2012;380(9840):499–505.
29. Yanik EL, Smith JM, Shiels MS, Clarke CA, Lynch CF, Kahn AR, i sur. Cancer risk after pediatric solid organ transplantation. *Pediatrics*. Svibanj 2017;139(5).
30. Houot J, Marquant F, Goujon S, Faure L, Honoré C, Roth MH, i sur. Residential Proximity to Heavy-Traffic Roads, Benzene Exposure, and Childhood Leukemia-The GEOCAP Study, 2002-2007. *Am J Epidemiol*. Listopad 2015;182(8):685–93.
31. Roganović J. Akutna limfoblastična leukemija u djece. *Med Flum*. 2011;47(4).
32. Clarke RT, Van Den Bruel A, Bankhead C, Mitchell CD, Phillips B, Thompson MJ. Clinical presentation of childhood leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child*. Listopad 2016;101(10):894–901.
33. TIEFENBACH A. Akutne leukemije u djece. *Bilten Hematol Transf* 1983;10:51-9.
34. Temple WC, Mueller S, Hermiston ML, Burkhardt B. Diagnosis and management of lymphoblastic lymphoma in children, adolescents and young adults. *Best Pract Res Clin Haematol*. Ožujak 2023;36(1):101449.
35. Suttorp M, Millot F, Sembill S, Deutsch H, Metzler M. Definition, Epidemiology, Pathophysiology, and Essential Criteria for Diagnosis of Pediatric Chronic Myeloid Leukemia. *Cancers*. Veljača 2021;13(4):798.
36. Buga Corbu V, Glück A, Arion C. Actual biological diagnosis of acute myeloblastic leukemia in children. *J Med Life*. Siječanj 2014;7(2):291–5.
37. Piscinato Piedade Rosa B, Augusto F, Celso F, Toyoshi Mizuno L, Takahama A. Oralne manifestacije kao glavni znak uznapredovale akutne promijelocitne leukemije. *Acta stomatol Croat*. 2018;52(4):358-362.
38. Landgren O, Porwit MacDonald A, Tani E, Czader M, Grimfors G, Skoog L, i sur. A prospective comparison of fine-needle aspiration cytology and histopathology in the

- diagnosis and classification of lymphomas. *Hematol J Off J Eur Haematol Assoc.* 2004;5(1):69–76.
39. Allen CE, Kelly KM, Bollard CM. Pediatric Lymphomas and Histiocytic Disorders of Childhood. *Pediatr Clin North Am.* Veljača 2015;62(1):139–65.
  40. Derqaoui S, Boujida I, Marbough O, Rouas L, Hessissen L, Lamalmi N. Non Hodgkin Lymphoma Among Children: Pathological Aspects and Diagnostic Challenges. *Clin Pathol.* Travanj 2022;15:2632010X221090156.
  41. Quessada J, Cucuini W, Saultier P, Loosveld M, Harrison CJ, Lafage-Pochitaloff M. Cytogenetics of Pediatric Acute Myeloid Leukemia: A Review of the Current Knowledge. *Genes.* 2021; 12(6):924.
  42. Labar B, i sur. *Hematologija.* Zagreb: Školska knjiga; 2017.
  43. Dubravčić K, Batinić D. Imunofenotipizacija akutnih leukemija i minimalna ostatna bolest Summary Immunophenotyping of acute leukemia and minimal residual disease. *Paediatr Croat.* Travanj 2013;57:258–62.
  44. Noronha EP, Marques LVC, Andrade FG, Thuler LCS, Terra-Granado E, Pombo-de-Oliveira MS, i sur. The Profile of Immunophenotype and Genotype Aberrations in Subsets of Pediatric T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol.* 2019;9:316.
  45. Lozić B, Zemunik T. Klinički značaj citogenetike u leukemijama dječije dobi. *Paediatr Croat.* 2013;57, Suppl 1:150–7.
  46. Braoudaki M, Tzortzatou-Stathopoulou F. Clinical cytogenetics in pediatric acute leukemia: An update. *Clin Lymphoma, Myeloma Leuk.* 2012;12(4):230–7.
  47. Inaba H, Pui CH. Advances in the Diagnosis and Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. *J Clin Med.* Siječanj 2021;10(9):1926.
  48. Lejman M, Chałupnik A, Chilimoniuk Z, Dobosz M. Genetic Biomarkers and Their Clinical Implications in B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *Int J Mol Sci.* Ožujak 2022;23(5):2755.
  49. Mroczek A, Zawitkowska J, Kowalczyk J, Lejman M. Comprehensive Overview of Gene Rearrangements in Childhood T-Cell Acute Lymphoblastic Leukaemia. *Int J Mol Sci.* Siječanj 2021;22(2):808.
  50. Bertrums EJM, Smith JL, Harmon L, Ries RE, Wang YCJ, Alonzo TA, et al. Comprehensive molecular and clinical characterization of *NUP98* fusions in pediatric acute myeloid leukemia. *Haematologica.* Veljača 2023;108(8):2044–58.
  51. Inaba H, Mullighan CG. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica.* Rujan 2020;105(11):2524–39.

52. Pawinska-Wasikowska K, Bukowska-Strakova K, Surman M, Rygielska M, Sadowska B, Ksiazek T, i sur. Go with the Flow—Early Assessment of Measurable Residual Disease in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated According to ALL IC-BFM2009. *Cancers*. Listopad 2022;14(21):5359.
53. Mauz-Körholz C, Landman-Parker J, Fernández-Teijeiro A, Attarbaschi A, Balwierz W, Bartelt JM, i sur. Response-adapted omission of radiotherapy in children and adolescents with early-stage classical Hodgkin lymphoma and an adequate response to vincristine, etoposide, prednisone, and doxorubicin (EuroNet-PHL-C1): a titration study. *Lancet Oncol*. Ožujak 2023;24(3):252–61.
54. Mauz-Körholz C, Landman-Parker J, Balwierz W, Ammann RA, Anderson RA, Attarbaschi A, i sur. Response-adapted omission of radiotherapy and comparison of consolidation chemotherapy in children and adolescents with intermediate-stage and advanced-stage classical Hodgkin lymphoma (EuroNet-PHL-C1): a titration study with an open-label, embedded, multinational, non-inferiority, randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. Siječanj 2022;23(1):125–37.
55. Brivio E, Baruchel A, Beishuizen A, Bourquin JP, Brown PA, Cooper T, i sur. Targeted inhibitors and antibody immunotherapies: Novel therapies for paediatric leukaemia and lymphoma. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. Ožujak 2022;164:1–17.
56. Kakaje A, Alhalabi MM, Ghareeb A, Karam B, Mansour B, Zahra B, i sur. Rates and trends of childhood acute lymphoblastic leukaemia: an epidemiology study. *Sci Rep*. Travanj 2020;10:6756.
57. Britto TI, Fattah SA, Rahman MAU, Chowdhury MAU. A Systematic Review on Childhood Non-Hodgkin Lymphoma: An Overlooked Phenomenon in the Health and Research Sector of Bangladesh. *Cureus*. Rujan 2023;15(9):e45937.
58. Lupatsch JE, Kreis C, Konstantinoudis G, Ansari M, Kuehni CE, Spycher BD. Birth characteristics and childhood leukemia in Switzerland: a register-based case–control study. *Cancer Causes Control*. 2021;32(7):713–23.
59. Predojević-Samardžić J., Roganvić J. Limfomi u djece. *Pedijatr Danas*. 2009;(5(1)):51–61.
60. Steliarova-Foucher E, Colombet M, Ries LAG, Moreno F, Dolya A, Bray F, i sur. International incidence of childhood cancer, 2001–10: a population-based registry study. *Lancet Oncol*. Lipanj 2017;18(6):719–31.

61. Malagoli C, Malavolti M, Costanzini S, Fabbri S, Tezzi S, Palazzi G, i sur. Increased incidence of childhood leukemia in urban areas: a population-based case-control study. *Epidemiol Prev.* 2015;39(4 Suppl 1):102–7.
62. Schmidt JA, Hornhardt S, Erdmann F, Sánchez-García I, Fischer U, Schüz J, i sur. Risk Factors for Childhood Leukemia: Radiation and Beyond. *Front Public Health.* Prosinac 2021;9:805757.
63. Fragkandrea I, Nixon JA, Panagopoulou P. Signs and symptoms of childhood cancer: a guide for early recognition. *Am Fam Physician.* Kolovoz 2013;88(3):185–92.
64. Roganović J., Čučak T., Seili-Bekafagio I., Dubravčić K., Lasan-Trčić R. Akutna mijeloična leukemija u djece: analiza kliničkih i bioloških značajki te rezultata liječenja u Klinici za pedijatriju Kliničkog Bolničkog Centra Rijeka Med Flum. 2016;52:532–9.
65. Kittivisuit S, Jongthitnon N, Sripornsawan P, Songthawee N, Chavananon S, Limratchapong C, i sur. Hyperleukocytosis in Childhood Acute Leukemia: Early Complications and Survival Outcomes. *Cancers.* Lipanj 2023;15(12):3072.
66. Zahra SSA, Al-Shammary EH, Hameed IM. Serum lactate dehydrogenase level in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Iraqi J Hematol.* Lipanj 2021;10(1):55.
67. Rezaei MS, Esfandiari N, Refoua S, Shamaei M. Characterization of Immunophenotypic Aberrancies in Adult and Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Lessons from Regional Variation. *Iran J Pathol.* 2020;15(1):1–7.
68. Lee HG, Baek HJ, Kim HS, Park SM, Hwang TJ, Kook H. Biphenotypic acute leukemia or acute leukemia of ambiguous lineage in childhood: clinical characteristics and outcome. *Blood Res.* Ožujak 2019;54(1):63–73.
69. Choi HJ, Kim HR, Shin MG, Kook H, Kim HJ, Shin JH, i sur. Spectra of Chromosomal Aberrations in 325 Leukemia Patients and Implications for the Development of New Molecular Detection Systems. *J Korean Med Sci.* Srpanj 2011;26(7):886–92.
70. Inaba H, Pei D, Wolf J, Howard SC, Hayden RT, Go M, i sur. Infection-related complications during treatment for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Ann Oncol.* Veljača 2017;28(2):386–92.

## 10. ŽIVOTOPIS

### OPĆI PODATCI

Ime i prezime: Lucija Todić

Datum i mjesto rođenja: 9. prosinaca 1998., Osijek, Republika Hrvatska

Državljanstvo: hrvatsko

### OBRAZOVANJE:

2005. – 2013. Osnovna škola Frana Krste Frankopana, Osijek

2013. – 2017. III gimnazija Osijek

2017. – 2018. Sveučilišni prijediplomski studij Medicinsko laboratorijska dijagnostika, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

2018. – 2024. Sveučilišni integrirani prijediplomski i diplomski studij Medicina, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

### STRUČNE AKTIVNOSTI:

2019. – pasivni sudionik na studentskom kongresu OSCON

2020. – 2023. – aktivni sudionik i predsjednica Pododbor za ambasadore, partnerstva i podršku prijavljenih na kongresu studenata i mladih liječnika OSCON

2022. – demonstrator na Katedri za farmakologiju Medicinskog fakulteta u Osijeku

2022. – pasivni sudionik ISABS kongresa

2024. – pasivni sudionik na studentskom kongresu hitne medicine u Rijeci

2024. – aktivni sudionik i članica Organizacijskog odbora kongresa studenata i mladih liječnika OSCON

### ČLANSTVA U UDRUGAMA:

2018. – 2024. – članica studentske udruge CROMSIC

2023. – članica studentske sekcije za pedijatriju

**NAGRADE I PRIZNANJA:**

2019./2020. godina – Dekanova nagrada za izvannastavnu aktivnost Organizacija kongresa studenata medicine u Osijeku - OSCON2020 u akademskoj 2019./2020.godini

2020./2021. godina – Dekanova nagrada za izvannastavnu aktivnost Organizacija kongresa studenata medicine u Osijeku - OSCON2020 u akademskoj 2020./2021.godini