الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة دمشق
كلية الطب البشري
مشفى الأطفال الجامعي بدمشق

تحديد علاقة طفرات "FLT3" مع انذار الابيضاض النقوي الحاد لدى الاطفال

اطروحة مقدمة لنيل درجة الدكتوراة في امراض الدم والاورام عند الاطفال

إعداد

د. لينا محمد منصور

الأستاذ المشرف
أ.م.د. عثمان حمدان
كلية الطب البشري- جامعة دمشق

الأستاذ المشرف المشارك
أ.م.د. رامي جرجور
كلية الطب البشري- جامعة دمشق

1445هـ . 2023م

Approval page قرار لجنة الحكم

شكر وتقدير

الى من علماني ان الحب ليس له عمر وان العطاء ليس له حدود، وان الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة، ومن كانو سندي في كل خطوة من عمري. الى اعز الناس : ابي وامي الغاليين

الى قرة عيني واقرب الناس الى قلبي: اخوتي. رنا . فاتن . وهلا

الى كل من اعطاني يد العون من قريب او بعيد وساعدوني في انجاز هذه الاطروحة وغمروني بالحب والتقدير

الى استاذي المشرف الدكتور عثمان حمدان الذي لم يدخر جهدا في توجيهي ونصيحتي وارشادي

الى كل هولاء اهديهم هذا العمل المتواضع سائلة الله العلي القدير ان ينفعنا به ويمدنا بتوفيقه

فهرس المحتويات Table of Comtents

العدد	العنوان	رقم الصفحة
الجزء التمهيدي: مقدمة البحث		١
	مصطلحات البحث	٣
الباب الاول : الدراسة النظرية		٤
الفصل الاول:	**اعتبارات عامة**	٤
1-1	**اللطاخة الدموية – بزل النقي – خزعة النقي**	٤
١-٢	**تحليل السائل الدماغي الشوكي CSF**	٥
١-٣	**الدراسات التصويرية التشريحية**	٥
١-٤	**Immumohischemistry(IHC)**	٦
١-٥	**تحليل التدفق الخلوي FLOW CYTOMETRY**	7
١-٦	**معدل البقيا**	٨
الفصل الثاني :	**الابيضاض النقوي الحاد AML**	٩
٢-١	**BIOLOGY OF AML**	١٠
٢-٢	**تصنيف AML**	١٢
٢-٣	**التنميط المناعي**	١٨
٢-٤	**انماط الابيضاض النقوي الحاد**	٢٣
٢-٥	**الموجودات السريرية والمخبرية**	٢٨
٢-٦	**اجراءات التشخيص**	٣٠
٢-٧	**فرط الكريات البيض**	٣١
٢-٨	**الاعتلال التخثري**	٣٢
٢-٩	**علاج AML**	٣٣
2-١٠	**HSCT كعلاج للابيضاض النقوي الحاد**	٤٠
٢-١١	**معايير الخطورة**	٤٠
٢-١٢	**MINIMAL REDIDUAL DISEASE (MRD)**	٤٣
٢-١٣	**MOLECULAR MRD**	٤٣
٢-١٤	**IMMUNOPHENOTYPIC MRD**	٤٤
٢-١٥	**المرض خارج النقوي**	٤٥
٢-١٦	**الابيضاض النقوي الناكس**	٤٦
٢-١٧	**خصائص المرض الانذارية**	٤٧
الفصل الثالث :	**بنية ووظيفة FLT-3 / FMS-LIKE TYROSINE KINASE/**	٥١
٣-١	**وظيفة FLT-3 في تكون الدم الطبيعي والخبيث**	٥٣
٣-٢	**التبدلات الجينية ل FLT-3 في الابيضاض النقوي الحاد**	٥٤
٣-٣	**الاهمية السريرية لطفرات FLT-3**	٥٧
3-٤	**الاهمية الانذارية لطفرة FLT3/ITD**	٥٨
٣-٥	**Underlying mechanism of allelic variation in FLT-3 /ITD**	٥٩

٦-٣	**التداخلات العلاجية لدى مرضى يحملون طفرات FLT-3**	٦٠
الفصل الرابع :	**دور HCT لدى مرضى $^{+}$AML FLT-3/ITD**	٦١
الفصل الخامس :	**المثبطات صغيرة الجزيئة كخيار علاجي**	٦٢
٥-١	**ماهي مثبطات FLT-3 المتوفرة.. وكيف تعمل ؟**	٦٤
٥-٢	**مثبطات FLT-3 اللانوعية**	٦٥
٥-٣	**مثبطات FLT-3 النوعية**	٦٨
٥-٤	**FUTURE- DIRECTIONS**	٧٠
5-5	**ماهي التأثيرات الجانبية المرتبطة بمثبطاتFLT-3 وكيف يتم تدبيرها**	٧١
الفصل السادس :	**ماهو التاثير الانذاري لطفرة FLT-3**	٧٤
الباب الثاني : الدراسة العملية		٧٦
الفصل الاول: مبررات واهداف البحث		٧٦
الفصل الثاني : المواد والطرائق		٨٠
الفصل الثالث : نتائج الدراسة		٨٣
الفصل الرابع مناقشة النتائج والمقارنة مع الدراسات العالمية		١٠٣
الباب الثالث : الاستنتاجات والمقترحات والتوصيات		١٠٨
الباب الرابع : المراجع		١٠٩
الباب الخامس : الملاحق		١٢٦
الملخص باللغة الانكليزية		١٢٨

فهرس الوسائل الايضاحية والاجرائية في البحث :

قائمة بالاشكال والصور List of Figures

الشكل	الدلالة	رقم الصفحة
١	**عينات لبزل نقي ذو خلوية طبيعية ، فرط خلوية ، ناقص الخلوية**	**٤**
٢	**صورة طبقي محوري مع حقن لدى مريض لديه لمفوما في العنق ، الصدر ، البطن مقارنة لصورة طبقي محوري مع pt scan– وصورة مدمجة لدى مريض لديه لمفوما في العنق**	**٦**
٣	**صورة ل FCM مقارنة بين دم طبيعي ودم مصاب ب AML .**	**7**
4	**: عصيات اورو التي تشاهد في الابيضاض النقوي الحاد نمط M3**	**14**
5	**نماذج نسيجية لانماط الابيضاض النقوي الحاد زفق تصنيف FAB**	**١٥**
٦	***سبيل نقل اشارة جين FLT-3***	**٥٢**

قائمة بالجداول List of Tables

رقم الجدول	الدلالة	رقم الصفحة
1	**تصنيف الابيضاض النقوي الحاد وفق FAB:**	**١٣**
٢	**تصنيف WHO للابيضاض النقوي الحاد**	**١٦**
٣	**التنميط المناعي للابيضاض النقوي الحاد**	**١٨**
٤	**الشذوذات الوراثية والخلوية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد لدى الاطفال**	**٢٠**
٥	**حول الموجودات السريرية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد**	**٢٩**
٦	**حول الموجودات التشخيصية في الابيضاض النقوي الحاد**	**٣٠**

الملخص

خلفية البحث : الابيضاض النقوي الحاد مرض نادر عند الأطفال ، وتبقى معدلات البقيا لدى المرضى منخفضة.

حسنت التعديلات في أنظمة التشخيص والعلاج الكيميائي والرعاية الداعمة، في السنوات الأخيرة، بشكل كبير من انذار المرضى الذين يعانون من الابيضاض النقوي الحاد (AML) .

ومع ذلك مازالت نسبة مرتفعة من الاطفال لاتستجيب للعلاج الاول او تصاب بالنكس، ويحتاجون للخضوع لعلاج جديد.

لذا تم تسليط الضوء على الحاجة لتحديد عوامل جدديدة غير العلاج الكيميائي في السنوات الماضية للتغلب على اختلاطات الادوية المرتبطة بالمقاومة والسمية.

ومن ضمن هذه العوامل، التعرف على الطفرات الجزيئية والشذوذات الوراثية الخلوية ،وصلتها التشخيصية والعلاجية بانذار الابيضاض النقوي الحاد.ومن ضمن هذه الطفرات : طفرات الجين FLT-3

جين FLT-3 : جين ورمي من مستقبلات التيروزين كيناز من الصف الثالث class-3، يتدخل في المراحل الأساسية المكونة للدم، مثل التكاثر، والتمايز، والبقيا .

أصبحت طفرات FLT-3 في السنوات الأخيرة ، واسماً مهماً في الخباثات الدموية ، ولها دور بارز ومميز في الابيضاض النقوي الحاد، حيث ارتبطت هذه الطفرات مع الإنذار السريري، والعلاج ، والبقيا لدى الأطفال.

هدف البحث سنقوم بتحليل طفرات FLT-3 لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد بانماطه الفرعية المختلفة ، وتحديد نسبة انتشارها لدى مرضى AML ، ودراسة قيمتها الانذارية وعلاقتها بالاستجابة للمعالجة .

المواد والطرائق : شملت الدراسة 49 مريضاً لديهم ابيضاض نقوي حاد مع نمط نووي طبيعي . تم متابعة المرضى من خلال دراسة طفرات الFLT-3 عبر اجراء تفاعل سلسلة البوليمراز (PCR) .ومن ثم تم تحليل النتائج التي حصلنا عليها لتحديد العلاقة بين طفرات الFLT-3 وبين انذار المرض : اي هل يوجد ارتباط بين وجود التبدلات في جين الFLT-3 وبين الاستجابة للمعالجة ومعدل البقيا .

النتائج : اثبت الدراسة ان انتشار طفرات FLT-3 بين مرضى الابيضاض النقوي الحاد منخفض فقد بلغت نسبة انتشار طفرة FLT-3/ITD (8.2%) بينما لم تسجل طفرة FLT-3/TKD لدي اي مريض (0%).

واظهرت الدراسة انه لايوجد ارتباط حقيقي بين وجود طفرات FLT-3 وبين الهدأة الأولية حيث بلغت قيمة (P=0.038) والتي هي اكبر من مستوى الدلالة . الا انه تبين ومن خلال متابعة المرضى لمدة 3 سنوات ان هنالك علاقة هامة مابين وجود طفرات FLT-3ومابين معدل البقيا EFS و OS حيث بلغت قيمة (P=(0.012 P=(0.021 على الترتيب ، و اثبت ذلك ان معدلات EFS وOS كانت ادنى لدى المرضى الذين كان لديهم طفرة FLT-3

الاستنتاج : يمكن ان نستخدم طفرات FLT-3 كمشعر انذاري لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML لدى الاطفال لكونها تؤثر على معدل البقيا بشكل واضح ، والقاء الضوء على اهميتها ليس فقط لقيمتها الانذارية بل لقيمتها في اختيار المرضى الذين سيخضعون للعلاج بمثبطات FLT-3 والتي تشكل خطاً علاجياً جديداً مساعداً في الابيضاض النقوي الحاد .

كلمات مفتاحية : FLT-3 ، الابيضاض النقوي الحادAML، طفرة ، معدل البقيا ، جين ، النمط النووي ، الوراثة الخلوية.

الجزء التمهيدي (الاطار العام)

مقدمة البحث :

يتم التعرف على النمط النووي على نطاق واسع باعتباره احد اهم العوامل الانذارية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML

ويتم استخدام بيانات الوراثة الخلوية بشكل متزايد لتعيين المرضى ضمن برتوكول متميز عن طريق تحليل نطاقات الصبغيات التقليدية ، وتقريبا ٣٥-٥٠% من المرضى مع نمط نووي طبيعي يفتقرون الى الزيغانات الصبغية النسيلية والى العوامل الوراثية الخلوية الطبيعية المرتبطة بنتيجة سريرية متوسطة . ومع ذلك تشير العديد من الدراسات الى ان المرضى ذوي الانماط النووية الجزيئية الطبيعية يمثلون مجموعة غير متجانسة وان الاختلافات الجزيئية من المرجح ان ترتبط بالتشخيص ، ولذلك فان تحديد واسمات جزيئية جديدة والتحقق من فعاليتها المحتملة ضمن مسارات المعالجة المتعددة امر بالغ الاهمية .

FMS-LIKE TYROSINE KINASE (FLT-3) : وهو عضو من عائلة التيروزين كيناز من الصف الثالث CLAA-3 . يتم التعبير عنه بشكل تفضيلي على الخلية السليفة المكونة للدم ويتوسط تكاثر الخلايا الجذعية وانتشار المستقبل من خلال تقليص البلمرة الثنائية DIMERIZATIONالبروتين والفسفرة الذاتية اللاحقة لبروتين FLT-3 ، يتبعها مسارات متعددة داخل الخلايا . وقد ثبت ان تنشيط FLT-3 ناجم عن ترابط مشابه يعزز القدرة التكاثرية لخلية AML.

يرسم الجين المشفر لflt-3 شريط الصبغي 13q12 ويشتمل على 24 اكسن عبر منطقة جينومية تبلغ 100kb

تم وصف نوعين من طفرات التنشيط في جين FLT-3 لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML

FLT-3(ITD) : ITD- AN INTERNAL tandem -duplication of FLT-3 gen تم تحديدها لدى 20-30% من مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML

FLT-3-TKD : طفرة نقطية في منطقة ASP835 ضمن مجال FLT-3 تم وصفها موخرا لدى ٧% من مرضى AML

اقترحت دراسات سابقة ان طفرات FLT-3 ترتبط مع نتائج سريرية اسوأ بكثير لدى المرضى الاصغر سنا والاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد AML ، الا ان الدراسات التي تظهر ارتباط هذه الطفرات في المرضى الاطفال كانت محدودة بحقيقة ان عدد المرضى كانو غير متجانسين للغاية فيما يتعلق بالعمر عند التشخيص والصيغة الصبغية وانظمة العلاج .

تم في هذه الدراسة تحليل حدوث هذه الطفرات لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد بانماطه الفرعية المختلفة، وتحديد نسبة انتشارها لدى مرضى AML، ودراسة قيمتها الانذارية وعلاقتها بالاستجابة للمعالجة .

وتكمن أهمية هذا البحث في تحديد الانتشار والإنذار والبقيا لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد، إضافة لامكانية مستقبلية لمقاربات علاجية جديدة كمثبطات التيروزين كيناز ، كعلاج هدفي واعد.

المشكلة البحثية :

ان طفرات FLT-3 لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد لدى الاطفال تحمل انذار سلبيا على معدل البقيا . وقد يقود دراسة طفرات FLT-3 لدى هؤلاء المرضى الى تخفض معدل الوفيات وتحسين معدل البقيا من خلال اضافة علاجات جديدة تؤثر على هذه الطفرات .

السؤال البحثي: هل وجود طفرات FLT-3 يحمل لهمية انذارية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد

الفرضية البحثية : تفترض ان طفرات FLT-3 لها علاقة بانذار المرضى الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد .

مسوغات و هدف البحث :

تظهر الدراسات العالمية اهمية وجود الطفرات المورثية في انذار الابيضاض النقوي الحاد والاستجابة للعلاج ، وهذه الدراسات مازالت قيد التجربة حتى اليةم ، وبما انه لايوجد دراسات مشابهة لدينا فقد قمنا باجراء هذه الدراسة والتي تهدف بشكل رئيسي الى تحديد العلاقة بين طفرات FLT-3 وبين انذار المرض لدى الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد .

كما تهدف الدراسة الى تحديد مدى انتشار طفرات FLT-3 لدى الاطفال المرضى ب AML مع نمط نووي طبيعي .

اهمية البحث :

اظهرت الدراسات الحديثة ان تقييم طفرات FLT-3 لدى الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد له اهمية انذارية في تديد معدل البقيا لدى هؤلاء الاطفال ومن هنا تكمن اهمية هذه البحث كونه يهدف الى دراسة طفرات FLT-3 وعلاقتها باالانذار من اجل الوصول الى علاجات حديثة تؤثر على هذه الطفرات وتؤدي الى تحسين معدل البيا لدى مرضى AML

حدود البحث: التكلفة المادية المرتفعة لاجراء تحليل لطفرات FLT-3 واكذلك العلاجات الحديثة التي يمكن تطبيقها لدى هؤلاء المرضى

مناهج البحث وادواته :

تصميم البحث :

الدراسة التي نقوم بها هي دراسة حشدية مستقبلية طولانية تشخيصية تداخلية من المقبولين في شعبة الدو والاورام في مشفى الاطفال الجامعي بدمشق وفي وحدة بسمة التخصصية لعام ٢٠١٩ .

معايير القبول :

جميع الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد المقبولين في شعبة الدم والاورام في مشفى الاطفال الجامعي بدمش وقسي وحدة بسمة والذين كان لديهم نمط نووي طبيعي .

معايير الاستبعاد :

تشمل استبعاد كل الاطفال المشخص لديهم ابيضاض نقوي حاد ثانوي او من كان لديه ابيضاض نقوي حاد مع شذوذلت صبغية مثبتة بتحلي KARYOTYPE

طريقة العمل :

سيقوم الفريق الباحث باجراء دراسة حشدية مستقبلية طولانية تشخيصية تداخلية لجمهرة من الاطفال الذين قبلوا في مشفى الاطفال الجامعي في دمشق وفي وحدة بسمة التخصصية وشخص لديهم حديثاً ابيضاض نقوي حاد بدئي ببزل نقي واجراء التدفق الخلوي FCM

سيتم بعدها اجراء KARYOTYPE لاستبعاد الاطفال الذين لديهم شذوذات صبغية وسيدخل في الدراسة فقط الاطفال الذين لديهم صيغة صبغية طبيعية NK

ثم سنقوم باخذ عينات دم محيطية واراسالها الى هيئة الطاقة الذرية حيث سيتم هنالك عزل عينة DNA من الدم المحيطي ومن ثم تطبيق تقانة التفاعل التسلسلي للبوليميراز PCR لتحري وجود او غياب طفرات FLT-3 (ITD, TKD)

بعدها سيتم تطبيق بروتوكول العلاج المتبع لدينا او في وحدة بسمة التخصصية لعلاج الابيضاض النقوي الحاد بعد اخذ الموافقة المستنيرة من الاهل قبل أي اجراء او تطبيق علاج كيميائي .

سيقوم الباحث بملء استمارة خاصة بكل طفل تتعلق بالعمر ، الجنس . تاريخ القبول رقم الاضبارة، مكان السكن، السوابق العائلية والشخصية ، اضافة لنتائج التحاليل الدموية ، نتيجة اللطاخة الدموية . بزل النقي ، FCM ، الصيغة الصبغية . نتيجة PCR لطفرات FLT-3 . ايكو القلب. المعالجة المطبقة. نتيجة متابعة المريض في نهاية الدراسة .

تتم المتابعة باجراء بزل نقي او MRD في نهاية مرحلة INDUCTION وفي نهاية الدراسة

بعدها سنقوم بتطبيق الاحصاء لجمع المعلومات وسيتم تطبيق اختبار كاي مربع من اجل قياس الانتشار ومعنويته عند مستوى دلالة 0.05 وسيتم تطبيق اختبار معنويتها . وبعدها سيتم مقارنة النتائج بالدراسات العالمية المشابهة لهذه الدراسة للتنبؤء بمدى الاستجابة للعلاج في حال وجود الطفرة .

الدراسات المرجعية :

- **دراسة ناتاشا كولوفيك وزملائها في صربيا** . [١٧٢] **٢٠٠٧, :**

اجريت هذه الدراسة في صربيا, وشملت (١١٣) مريض بالغ . كانت طفرةFLT-3/ITD ايجابية لدى ١٧,٧% من المرضى .حدثت طفرة ITD بشكل اكثر توترا لدى النمط M5 و M0 من الانماط الفرعية من AML . ووجد ان كل المرضى الذين يحملون طفرة FLT-3/ITD كان لديهم تعداد اعلى للكريات البيض (P=0.27) ، وارتبطت طفرة FLT-3/ITD مع معدل هجوع اقل (P=0.017) ومع معدل بقيا اقصر (OS) (P=0.0031) .

- **دراسة ايزابيل مارينو وزملائها في اسبانيا .٢٠٠٣** [١٧٣]**:**

شملت هذه الدراسة ١٢٣ مريضا مصاب بالابيضاض النقوي الحاد . تم تحديد طفرات FLT-3 لدى (24%) من المرضى . ٤ مرضى حملوا كلا الطفرتين ITD و D835 . 90% من المرضى الحاملين لطفرات FLT-3 تم تصنيفهم كمجموعة مرضى متوسطي الخطورة . لم يوجد ارتباط بين وجود طفرات FLT-3 وبين الاستجابة للعلاج في مرحلة INDUCTION . في حين ارتبط وجود طفرات FLT-3 مع EFS اسوأ لدى مجموعة المرضى ذوي الخطورة العالية والمتوسطة .

مصطلحات البحث :

AML : الابيضاض النقوي الحاد

ALL : الابيضاض اللمفاوي الحاد

IHC: الكيمياء المناعية الخلوية

FCM:مقياس التدفق الخلوي

MRD القسم الادنى المتبقي من المرض

PCR : تفاعل البوليميراز المتسلسل

OS: معدل البقيا

EFS : البقاء على قيد الحياة خالية من المرض

BM: بزل نقي العظم

CSF: بزل سائل دماغي شوكي

FISH: التهجين الفلوروسنت في الموقع

LSC: الخلايا الجذعية لابيضاض الدم

FAB: التصنيف الغرنسي– الامريكي –البريطاني

WHO: منظمة الصحة العالمية

WBC: تعداد العاد للكريات البيض

TLS: متلازمة الانحلال الورمي

DIC: التخثر المنتشر داخل الاوعية

CNS: الجملة العصبية المركزية

CR: الهجوع التام

RT: العلاج الشعاعي

HSCT: زرع الخلايا الجذعية الغيري

FMS-LIKE TYROSINE KINASE : FLT-3

الباب الاول

الدراسة النظرية

الفصل الاول : اعتبارات عامة:

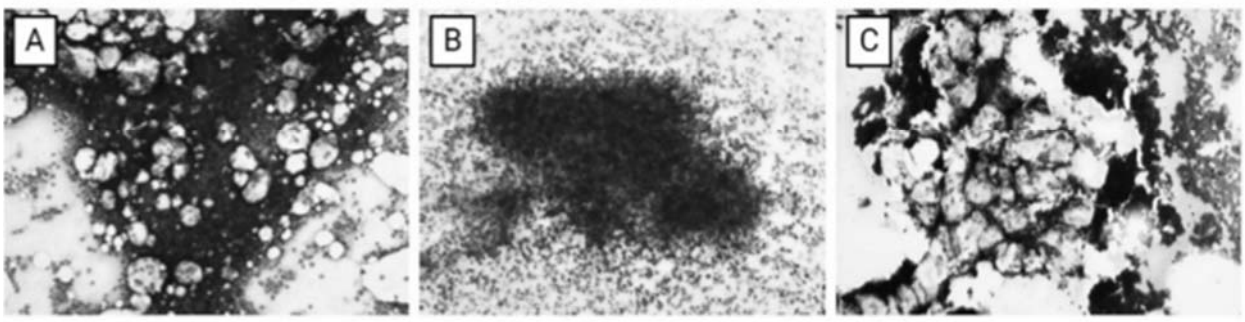
تضم الخباثات الدموية المجموعة الاكبر من سرطانات الاطفال ، ويمثل الابيضاض حوالي (٣٠-٣٥) % من سرطانات الاطفال ، و واللمفوما (١٠-١٥) % [٣]. ووفقاً للاصل والمظاهر السريرية لهذه الامراض يؤكد التشخيص عبر تقييم لطاخات الدم المحيطية ، وبزل نقي العظم ، وخزعة النقي ، واجراء خزعة مباشرة من النسج (غالباً من العقد اللمفية) في حال اللمفومات [٣].

تحتاج ميزات المرض لتقييم النمط الشكلي . والنمط المناعي ، والواسمات الجزيئية ، و الوراثة الخلوية . يتم تقييم انتشار الابيضاض باجراء بزل للسائل الدماغي الشوكي .اما بالنسبة للمفوما يتم تحري التوزع التشريحي للمرض من خلال اجراء التصوير الشعاعي [٤].

١-١ اللطاخة الدموية، بزل النقي ، خزعة النقي :

قد يأتي المرضى بابيضاض مع أورمات محيطية ،لذا فان استعراض لطاخة الدم المحيطية لديهم يزودنا بمفتاح التشخيص الاولي للابيضاض والذي يمكن تأكيده باجراء تحليل التدفق الخلوي لعينة دم محيطية او عينة من نقي العظم والذي يشير الى الاصل الخلوي للابيضاض ويزودنا بمعلومات حول الاصابة والتي تكون في حال اللمفوما هي علامة انذارية وتدل على حمل (عبء) مرضي اكبر وخطورة اكبر [٤]

Figure 8.1: (A) Normocellular, (B) hypercellular, and (C) hypocellular bone marrows



الشكل (١) : عينات لبزل نقي ذو خلوية طبيعية ، فرط خلوية ، ناقص الخلوية

تعرف اصابة النقي المجهرية في الابيضاض الحاد كمايلي [٥]:

M1: اورمات ٥%

M2 : أورمات ٥-٢٠ %

M3 : أورمات > ٢٥ %

١-٢ تحليل السائل الدماغي الشوكي CSF :

بعد الحصول على عينة CSF ، يتم مد لطاخة CSF والتي من خلالها توضع نقطة من CSF على شريحة وتترك لتجف قبل تلوين الشريحة لاجراء تعداد للكريات البيض والكريات الحمر بكل حقل عالي القوة -per high power field .

بقية العينة في الانبوب supn down ،ويتم تحليل العينة من الخلايا المركزة تحت المجهر .نظرياً يظهر ٥٠-١٠٠ من تعداد الكريات المختلفة ،ويتم تقييم وجود الاورمات .

يتم تقييم العينة لدى المرضى الذين لديهم بزل نقي راض (TLP) Traumatic lumber puncture وفق Steinherz-Bleyer algorithm. [٤]

١-٣ الدراسات التصويرية التشريحية : Anatomic imaging studies

التصوير اداة تشخيص ضرورية لتقييم انتشار المرض خاصة في اللمفوما مثل حمل المرض disease burden لتحديد درجة الورم .

تحديد المرحلة ضروري لمعايير الخطورة والعلاج المعتمد على درجة الخطورة (risk –based therapy) .

ان كل من الصور الشعاعية radiographs، و الايكو ultrasonography ، والطبقي المحوري CT ، والمرنان MRI ، تستخدم جميعها لتحديد الميزات التشريحية للمرض .

يجرى CT-Scan مع اجراء تباين (حقن مادة ظليلة) عبر الوريد لتمييز الاوعية عن العقد اللمفية ، واعطاء عبر الفم لتمييز الامعاء عن العقد اللمفية [٣].

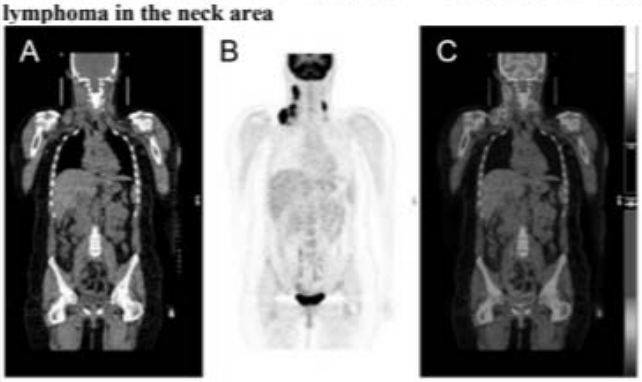
PET-Scan : position emission tomographic: طريقة تصوير حساسة جدا تزودنا بمعلومات حول نشاط المرض **الاستقلابي. الشكل (٢)**

FDG (**Radioactive glucose , ^{18} Fluorodeoxy gl**ucose) هي مادة تعطى عبر الوريد وتستهلك في المناطق التي فيها زيادة في الاستقلاب الفيزيولوجي (كالدماغ ، وtonsils ، والقلب) او زيادة في الاستقلاب المرضي (مثل الخمج او الخباثة) . تطرح ^{18}FDG من خلال الجهاز البولي . لذا فان PET-Scan يفيد في التشخيص وتقييم الاستجابة للعلاج ، ولكنه يحتاج الى استخدامه بحذر عندما يستخدم في المتابعة [٣] .

Figure 8.2: CT scan with contrast of a patient with lymphoma (red arrows) in the neck (A), chest (B), and abdomen (C)

Positron emission tomographic (PET) scans are an extremely sensitive imaging modality and provide information about metabolic disease activity. Radioactive glucose (^{18}F-fluorodeoxyglucose [FDG]) is administered intravenously and accumulates in areas with increased physiologic (brain, tonsils, or heart) or pathologic metabolism (e.g., infection and malignancy). ^{18}F-FDG is excreted through the urinary system. PET scans are helpful at diagnosis and for response evaluation but need to be carefully interpreted when used during follow-up.

Figure 8.3: Examples of a CT scan (A), PET scan (B), and merged image (C)in a patient with lymphoma in the neck area



الشكل (٢) : طبقي محوري مع حقن لمريض لديه لمفوما في العنق، الصدر ، والبطن

مقارنة لصورة طبقي مع pt-scan وصورة مدمجة لدى مريض لديه لمفوما في العنق .

<u>Immunohischemistry4-1: (IHC) :</u> هي اشيع تقنية تستخدم لدراسة التعبير البروتيني للخلايا من مناطق نسيجية او توقف الخلايا عن العمل (دم . نقي العظم . سوائل الجسم كالجنب والبريتوان) . كل

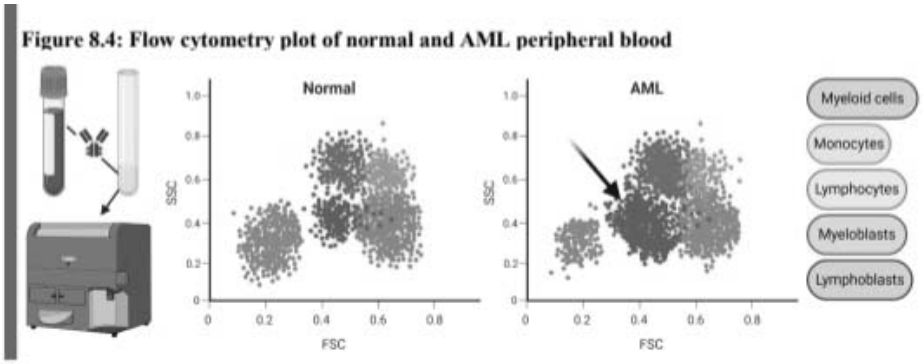
مجموعة من الخلايا لها واسمات مناعية مميزة لها ، والتي يتم تحديدها من خلال اضداد نوعية ، ومن ثم هنالك استراتيجيتان تستخدمان لتصوير تفاعل ضد–مستضد [٥]:

١. Chromogenic IHC : وفيها يترافق الضد مع انزيم (مثل البيروكسيداز) والذي يحفز التفاعل الذي ينتج اللون .
٢. Immunofluorescence IHC : يترافق لبضد مع Fluorophore مثل (fluorescein او rhodamine) ومن ثم يتم تصويرها بمجهر متحد البؤر confocal microscopy .

١–٥ تحليل التدفق الخلوي : flow cytometry :

طريقة حساسة جدا لتحديد وقياس الواسمات النوعية للذرية المعبر عنها على سطح الخلايا او داخل الخلايا .

في البداية يتم تلوين الخلايا ب antibody – cocktails الذي يحوي مزيجاً من الاضداد النوعية للواسمات والتي تترافق مع fluorophorses مختلفة . استخدام مثل هذا الكوكتيل يسمح بتحليل متزامن لعدة واسمات في عينة واحدة وبكل خلية . تغسل الخلايا الملونة ومن ثم تعلق في مخفف buffer ثم يتم تحليلها باستخدام التدفق الخلوي للتعبير عن الواسمات المسماة (المصنفة) . وكجزء من تحليل الخلايا فان مجموع الخلايا يمكن فصلها فيزيولوجياً وبذلك يتم تنقيتها بناء على البروفايل الخاص بتعبيرهم [٣]. الشكل (٣)



الشكل (٣) : صورة ل FCM مقارنة بين دم طبيعي ودم مصاب ب AML .

١-٦ معدل البقيا :

ويتم الاعتماد هنا على تعريفيين اساسيين وهما :

١. معدل البقيا دون مراضة : Event free survival (EFS) : ويعبر عنه كنسبة مئوية للحالات التي بقيت على قيد الحياة ويتم حسابها من تاريخ التشخيص وحتى حدوث نكس او وفاة ولمدة ٥ سنوات[1] .
٢. معدل البقيا على قيد الحياة : Over all survival (OS) : وهو يمثل النسبة المئوية للحالات التي بقيت على قيد الحياة من تاريخ التشخيص وحتى حدوث الوفاة او حتى اخر تاريخ متابعة للمرض لمدة ٥ سنوات [١].

الفصل الثاني : ***الابيضاض النقوي الحاد : Acute Myeloid Leukemia : AML :***

كل سنة تقريباً 10٠آلاف طفل(بعمر من 0 حتى21 سنة) يطورون ابيضاضاً نقوياً حاداً حول العالم [١] . يقدر حدوث AML لدى الاطفال مابين (5-7) حالات / من كل مليون شخص/ السنة [٢].

مابين عامي ١٩٧٥و٢٠١٠ ، ازدادت البقيا لدى المرضى المصابين بالAML من أقل من ٢٠% الى ٦٨% .

لدى الاطفال دون ١٥ سنة فان الابيضاض اللمفاوي الحاد ALL أكثر شيوعاً بحوالي ٥ مرات بالمقارنة مع الابيضاض النقوي الحاد AML ، ويشكل ٧٥% من مجموع الابيضاضات المشخصة عند الاطفال . في حين يشكل AML فقط (١٥-٢٠)% من حالات المرضى الاصغر من ١٥ سنة .

ذروة حدوث AML عند الاطفال هي خلال السنة الاولى من العمر ثم ينقص بثبات حتى عمر ال ٤ سنوات والتي يبقى عندها مستقرا نسبيا خلال فترة الطفولة والمراهقة [٢].

لايوجد اختلاف نوعي بالجنس في نسبة الحدوث . باي حال ، فقد لوحظ وجود تنوع عرقي في AML ،رغم ان البيانات الباكرة قد برهنت على حدوث اعلى لل AML لدى البيض مقارنة بالسود. فقد اظهرت بيانات حالية ان حدوث AML تقريبا متساوي لدى العرقين (٦,٧/من كل مليون ابيض و ٦,٤/ من كل مليون اسود) . باي حال فان الاطفال من اصل اسباني لديهم النسبة الاعلى من المجموعات العرقية [٢،٦].

هنالك دليل على حدوث اعلى للAML بين بعض السكان الاسيويين اضافة الى ١١ حالة /من كل مليون شخص في الصين و ١٩ حالة / من كل مليون شخص في جنوب شرق اسيا الذين يعيشون في انكلترا [٢]. ويوجد نسبة حدوث اقل في الهند (٣,٥ حالة/ من كل مليون) .

تواتر بعض الانماط الفرعية لل AML قد يكون مختلفا حسب العرق . مثلا، الابيضاض بسليفات النقوية promyelocytic leukemia (apl) يحدث بشكل اعلى لدى الاسبان، اما ساركوما granulocytic sarcoma فهي اكثر تواترا لدى اطفال افريقيا وتركيا [٢-٧] .

يحدث الابيضاض النقوي الحاد AML نتيجة تبدلات جينية في الخلايا الجذعية والسليفة المكونة للدم HPS ، والتي تؤدي الى تغيير التكاثر المكون للدم والتمايز . وكنتيجة لذلك ، يكون لدى المريض عدداً كبيراً من الخلايا

غير الناضجة والشاذة في نقي العظم والدم المحيطي ، وهي عبارة عن تجمع من الخلايا المجددة لذاتها التي تحافظ على المرض وتعتبر كخلايا جذعية ابيضاضية .

الطفرات الابيضاضية Leukemogenic والتبدلات في الوراثة الخلوية يمكن ان تورث في حالات AML العائلية ، او تتطور من التعرض للعلاج الكيماوي ، او الاشعاع المؤين ، او التعرض الكيماوي , او التعرض لخمج بالفيروسات الرجعية Retroviruses .

ان وجود شذوذات وراثية خلوية متكررة نوعية وطفرات هي جزء من معايير الخطورة في AML وينبىء بالنتيجة لدى المرضى المصابين وشدة العلاج .

BIOLOGY OF AML 1-2:

يتميز AML بتراكم عدد كبيير من الخلايا غير الطبيعية (الشاذة) والتي تفشل في التمايز الى خلايا محببة او وحيدات ، هذه الخلايا الشاذة ناجمة عن تنوع في الطفرات الجينية المميزة والتي تمنح تكاثراً وافضلية للبقيا بسبب تاثيرها على التمايز والموت الخلوي المبرمج والتجدد الذاتي . هذه الشذوذات الصبغية غير متجانسة ووتضمن زيغانات مثل الزيادة او الخسارة لكامل الصبغيات وحدوث الشذوذات البنيوية او حدوث انتقال متوازن .[2]

الافكار الجديدة حول تاثير الطفرات الجينية على تكون الابيضاض قادت الى تحسينات في االمميزات الجينية للعديد من حالات AML من حيث الوراثة الخلوية . ففي الحقيقة حتى ٤٥% من المرضى مع نمط نووي طبيعي يمتلكون شذوذات جينية والتي ترتبط مع مظاهر سريرية للمرض وغالبا ذات دلالات انذارية قوية على النتائج [١,٢،٨،١١].

قاد الاكتشاف الحديث لواسمات جزيئية هائلة الى نظرية تكون الابيضاض، والتي تدور حول مفهوم تعاون الطفرات والضربات (hits) المتعددة والتي تكون مطلوبة للتحول الى ابيضاض .

التجارب على الفئران و التحقيقات (التقصيات) حول المتلازمات الابيضاضية الورائية (FDP-AML) تدعم النظرية التي تقول بان خطوات عديدة مطلوبة للتقدم في AML [٢].

تحليل الطفرات المحددة للابيضاض البشري يقترح بان الاليل الشاذ يمكن ان يقسم الى مجموعتين رئيسيتين :

المجموعة الاولى : وهي الطفرات التي تمنح تكاثراً و/ او خصائص بقيا ، وهي الصنف الاول من الطفرات

والمجموعة الثانية : وهي الطفرات التي تضعف او تؤذي التمايز وتمنع خصائص التجديد الذاتي ، وهي الصنف الثاني من الطفرات .

CLASS 1 : من الجينات الطافرة ،والتي تبذل تاثيرها من خلال تفعيل شاذ (منحرف) لاشارة مسارات التتبيغ signaling and kinase pathway، ومن امثلة الصنف الاول تتضمن : FLT-3/ITD ، C-KIT ، ONGOGENIC RAS و PTPN2 ،

وجينات الانصهار مثل : BCR/ABL ، TEL/PDGFRB .

CLASS2 : يتضمن شذوذات في النسخ او عوامل مساعدة (متممة) مفعلة للنسخ ، والتي هي مهمة لتمايز مكونات الدم الطبيعية . ومن الامثلة الانصهارات الجينية للصف الاول في AML تتضمن : AML1/ETO ، PROMYELOCYTIC LEUKEMIA، PML/ RARA ، واعادة الترتيب ل MLL (MLL-REARRAGMENTS) .

ومن امثلة طفرات الصف ٢ تتضمن : Core binding factor(CBF) ، Hox family members ، co-activators of transcriptional -Intermediary factor 1(TIF-1) ، CBF/P300،C/EPBA [٢].

وتقترح البيانات ان طفرات الصنف الاول والثاني تتعاون لتحريض الابيضاض .فعندما يتم التعبير عن طفرات CLASS1 لوحدها فانها تحرض CML-like disease الذي يتميز : بفرط كريات بيض مع نضج طبيعي للخلايا . وبالمثل فان طفرات Class2 عندما يعبر عنها لوحدها فانها تمنح نمط ظاهري يشبه MDS .

بغض النظر عن الاستحواذ لهاتين الطفرتين فان الاشخاص الذين يحدث لديهم طفرات Class1 و Class2 يكون لديهم نمط ظاهري للAML يتميز بتكاثر مفرط مع اذية للتمايز المكون للدم [١،٢]، الى عوامل هدفية لكلا الشذوذيين الجزئيين [٢].

هنالك دليل تراكمي على ان الخلية الجذعية الابيضاضية (LSC) والتي تدعى ايضاً (الخلية المهيأة للابيضاض المتجددة ذاتياً) تنشأ على مراحل متعددة من تمايز السليفة المكونة للدم الطبيعية [١،٢،١٢].

في عام ١٩٩٤ تمكن ديك DICK وزملائه من تمييز LSC ضمن كتل من خلايا AML من خلال تجزئة مستمرة الى مجموعات فرعية وتعبير عن التجدد الذاتي و multi potentiality ووالتكاثر حتى تحقيق تعداد نقي من الخلايا الجذعية [١٢].

من الميزات الاخرى للخلايا الجذعية المكونة للAML هو تحديد النمط المناعي الظاهري ، مثل $CD34^{+}$/ $CD38^{-}$ / $CD71^{-}$ /HLA-DR-/ $CD90^{-}$ /$CD117^{-}$/$CD123^{+}$, {112} [٢].

والاهم : LSC_S ، $CD38^-$ ، $CD34^+$ كانو قادرين على نقل AML الى فئران غير بدينة ولديها عوز مناعي مشترك شديد مع الداء السكري ، في حين ان خلايا AML: $CD34^+$. $CD38^+$ الاكثر نضجاً لم تزرع بشكل ناجح [١] .

هنالك دراسات زرع بالزجاج لدى فئران ناقصة المناعة اوضحت ان القدرة على اعادة التجديد الذاتي لخلايا LSC_S أعلى وبشكل واضح مما لدى خلايا HSC_S [١،٢،١٢] هذه الخلاياLSC_S نادرة جدا مع معدل تواتر = 0.2 –٢٠٠/ من $١٠^٦$ من الخلايا وحيدة النوى [٢،١٣] .

من وجهة نظر سريرية فقط فان اقلية صغيرة من LSC_S ذاتية اعادة التجدد مع تعداد غير متجانس وظيفياً ،ربما تكون مسؤولة عن قيادة التطور نحو AML وحدوث المرض الناكس .

من غير المعلوم او المؤكد ان كانت الطفرات تحدث في الخلايا الجذعية المكونة للدم الاكثر بدائية (الاولية) ، او ان كانت الطفرات تحدث في خلايا جذعية اكثر تمايزا والتي تستحوذ على مظاهر اعادة التجدد الذاتي [٢].

2-2 تصنيف AML :

- ***مقاربة تاريخية : HISTORICAL :***

بالرغم من ان اول تسجيل نشر عن الابيضاض حدث عام ١٨٤٥ من قبل Bennett، و Virchow ، فان النقص في المنهجية التشخيصية المشتقة ادت الى الحد في التمييز مابين الابيضاض النقوي واللمفاوي .

مع تطور التقنيات الصبغية المكررة والتي تلاها المجهر والاصبغة النسيجية الكيمائية في منتصف القرن ٢٠ اصبح التمييز بينها ممكنا

اول نظام للتصنيف الشكلي لل AML كان تصنيف FAB الذي تاسس عام ١٩٧٦ ، ولاحقا اصبح مرجعا في عام ١٩٨٥ .

يعتمد تصنيف FAB على التحليل الشكلي والنسيجي الكيميائي للخلايا الخبيثة فقط بعد تلوينها بصبغة رايت WRIGHT وصبغة رايت جيمزا Wright-giemsa ، اضافة الى جدول للواسمات النسيجية الكيميائية .

وعلى الرغم من انه يجب اخذ تصنيف التشؤات بعين الاعتبار ، فان كل المعلومات المتوفرة (مورفولوجيا ،والكيمياء الخلوية والنمط المناعي والجيني genetics والمظاهر السريرية) قد استغرقت عدة سنوات لتحقيق نظاما شاملاً comprehensive[١] .

- ***تطور التصنيف الحالي:***

قسم تصنيف FAB مرض الابيضاض النقوي الحاد AML الى ٨ مجموعات فرعية (من M0 الى M7) والذي اعتمد بشكل اولي على الواسمات الصبغية والنسيجية الكيميائية فقط[٢].

جدول (١) : تصنيف الابيضاض النقوي الحاد وفق FAB:

FAB GROUP	FEATURES
M0 **NO differentiation**	**No MPO** **POSITIVE FOR CD13 , CD33 , CD117** **No lymphoid differentiation**
M1 **Minimal differentiation**	**Positive for MPO**
M2 **With differentiation**	**Auer rods** **t(8;21)** **chloromas**
M3 **Promyelocytic , hypergranular type**	**Auer rods** **t(15;17)** **DIC**
M3V **Promyelocytic , microgranular type**	**Same clinical , cytogenetic, therpeutic implication as M3** **Fine granularity**
M4 **Myelomonocytic**	**Myeloblasts (at least 20%) and monoblasts** **Often peripheral blood monocytosis** **11q23 rearrangement**
M4Eo **With eosinophilia**	**dysplastic eosinophil precursors with %٥<** **basophilic granules** **Inv(16)**
M5 **Monocytic**	**monoblasts %٥<** **M5a: monoblastic** **M5b: monocytic** **11q23rearrangement** **Ghloromas , CNS involvement , gingival hyperplasia**
M6 **Erythroblastic**	**M6a: erythroleukemia** **M6b: pure erythroid leukemia** **M6c: presence of myeloblasts and proerythroblasts**
M7 **Megakaryoblastic**	**t(1;22)** **often in Down syndrome** **myelofibrosis**

DIC: Disseminated intravascular coagulopathy

MPO: myeloperoxidase

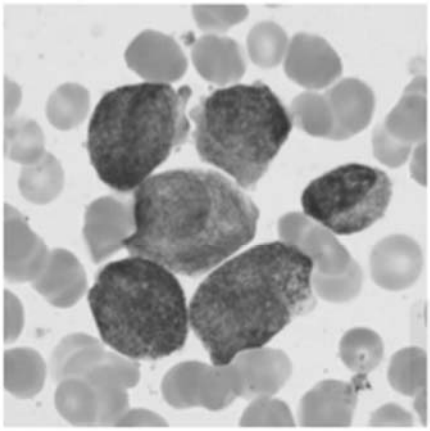


Figure 8.6: Auer rods
Auer rods are needle-like structures that are pathognomon
AML. They emerge after an abnormal fusion of the prima
(azurophilic) granules.

الشكل (٤) : عصيات اورو التي تشاهد في الابيضاض النقوي الحاد نمط M3

Histologic examples of FAB subtypes:

Figure 8.7: FAB-M0

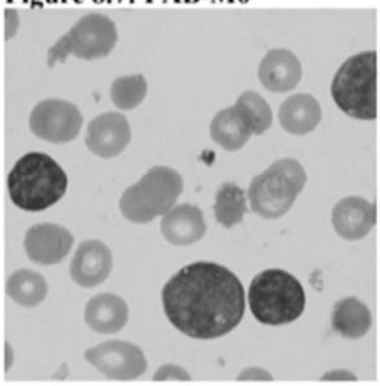


Figure 8.8: FAB-M1

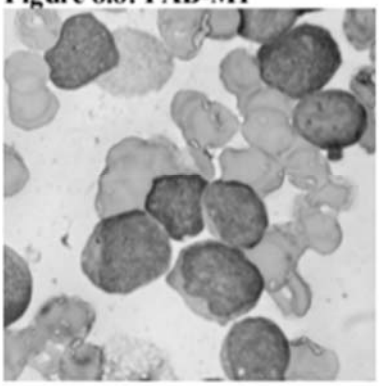


Figure 8.9: FAB-M2

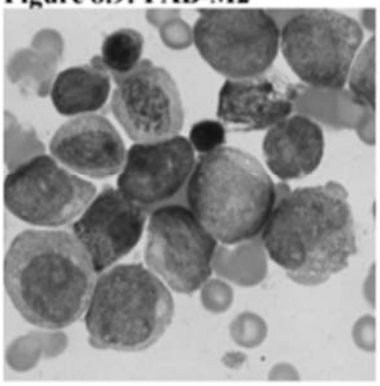


Figure 8.10: FAB-M3

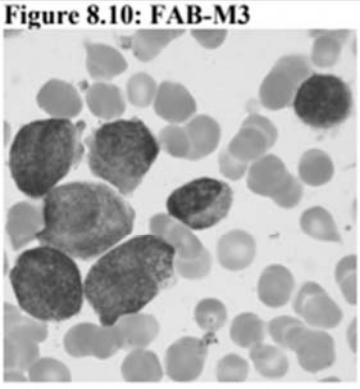


Figure 8.11: FAB-M4

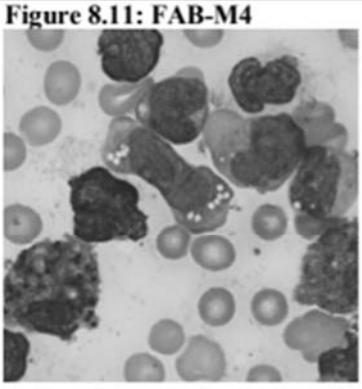


Figure 8.12: FAB-M5a

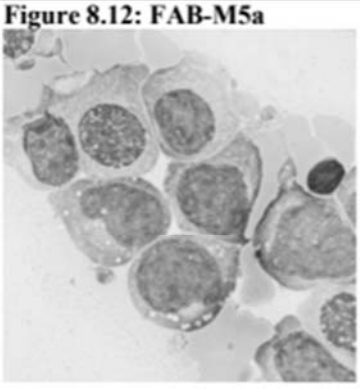


Figure 8.13: FAB-M5b

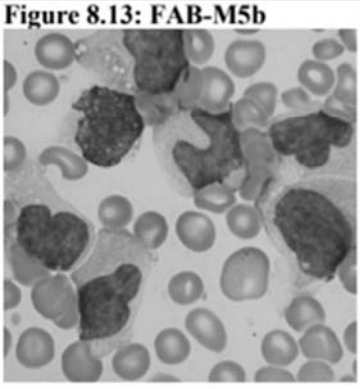


Figure 8.14: FAB-M6

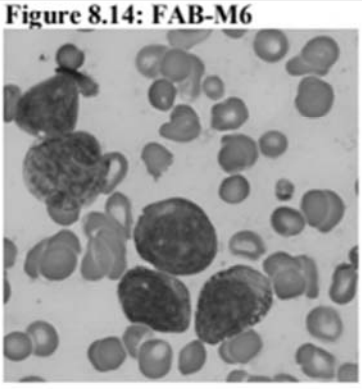
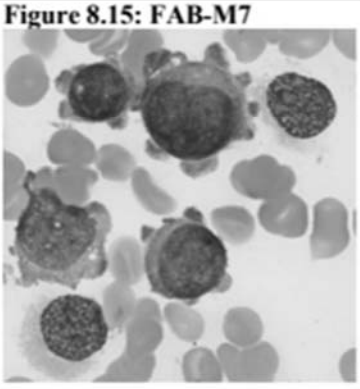


Figure 8.15: FAB-M7



الشكل (٥) : نماذج نسيجية لانماط الابيضاض النقوي الحاد زفق تصنيف FAB

في عام ١٩٩٧ م راجعت منظمة الصحة العالمية تصنيف FAB ليتضمن النسب المئوية ، وايداع الذرية ، والاختلاف بين الخلايا من الناحية المورفولوجية والتنميط المناعي والمظاهر الوراثة الخلوية . وبالرغم من ان مخطط التصنيف الاولي تطلب وجود (٣٠)% من الاورمات في نقي العظم BM لتاكيد التشخيص (باستثناء M6. M7) ، الا ان تصنيف منظمة الصحة العالمية WHO خفض النسبة المئوية للاورمات الخبيثة المطلوبة لتصنيف AML الى (٢٠)% من الخلايا النقوية [٢].

وبما ان هنالك دليل صغير على تخفيض تعداد الاورمات الى ٢٠% ،لذا فان المقاربة لطبيب الاطفال قد تطورت لتعتمد ليس فقط على تعدادا الاورمات النقوية ، وانما ايضا ان ياخذ بعين الاعتبار المظاهر السريرية والوراثة الخلوية [٢].

اذن، هنالك نظامان يتم من خلالهما تصنيف AML :

- تصنيف FAB : وقد كان اول تصنيف لل AML بناء على الموجودات الشكلية والكيميائية النسيجية ، مع اخذ درجة التمايز بالحسبان. وقد تم تصنيف AML من M0 الى M7 . ويتطلب التشخيص وجود ٣٠% من الاورمات في نقي العظم [1].
- تصنيف WHO : حيث تم استبدال التصنيف السابق FAB بتصنيف WHO والذي يقوم بتقسيم AML الى مجموعات بناء على النمط الشكلي، وتحديد IHC من خلال الواسمات السطحية. وفي هذا التصنيف يتطلب التشخيص نسبة مئوية اقل من الاررومات في نقي العظم تصل الى ٢٠% [1] .

جدول(٢): تصنيف WHO للابيضاض النقوي الحاد

WHO CLASSIFICATION of Acute Myeloid Leukemia on Related Myeloid Neoplasms

Acute myeloid leukemia with recurrent genetic abnormalities : **AML with t(8;21) (q22;q22); RUNX1-RUNX1T1** **AML with inv (16) (p13.1; q22) or t(16;16)(p13.1; q22); CBFB-MYH11** **APL with t(15;17)(q22; q12); PML –RARa** **AML with t(9;11)(p22;q23); MLLT3-MLL** **AML with t(6;9)(p23;q34); DEK-NUP214** **AML with inv(3) (q21; q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2) ; RPN1-EV11** **AML (megakaryoblastic) with t(1; 22) (p13;q13); RBM15-MKL1** **Provisional entity: AML with mutated NPM1** **Provisional entity : AML with mutated CEBPA**
Acute **myeloid leukemia with myelodysplasia –related changes**
Therapy –related myeloid neoplasma
Acute myeloid leukemia , not otherwise specified

AML with minimal differentiation **AML without maturation** **AML with maturation** **Acute myelomonocytie leukemia** **Acute erythroid leukemia :** **Pure erythroid leukemia** **Erythro leukemia , erythroid /myeloid** **Acute megakaryoblastic leukemia** **Acute basophilic leukemia** **Acute panmyelosis with myelofibrosis**
Myeloid Sarcoma
Myeloid Proliferations related to Down . Syndrom **Transient abnormal myelopoiesis** **Myeloid leukemia associated with Down Syndrom**
Blastic **plasmacytoid dendritic cell neoplasms**

في عام ٢٠٠١م ،نشرت WHO تصنيفاً جديداً والذي اعتبر للمرة الاولى مزجاً (دمجاً) للمعلومات الجينية مع المورفولوجية والكيميائية الخلوية والتنميط المناعي والموجودات السريرية في الخوارزمية المشخصة للتنشؤات النقوية [٢]. هذه التغيرات سمحت بتشخيص AML بغض النظر عن تعداد الارومات وتضمنت جهات مرتبطة مع شذوذات جينية نوعية .

الشذوذات الثلاث التي تضمنتها الخوارزمية هي اعادة ترتيب الجينات :

AML مع t (8;21) (q22;q22); RUNX1-RUNX1T1

AML مع inv (16) (p13; q22), CBFB-MYH11 او t (16;16) (p13; q22)

APL مع t (15;17) (q22; q12); PML-RARA ، والتي تشفر عوامل ناسخة وترتبط مع مظاهر شكلية وسريرية مميزة

في عام ٢٠٠٨ م تم مراجعة معايير ال WHO ، وتضمنت ادخالات اضافية في مجموعة AML مع شذوذات جينية متكررة . المراجعة الاهم كانت في تعديل AML مع شذوذات في 11q23 و MLL من الطبعة السابقة وتغييرها الى MLL. T3 –MLL ; t (9;11) (p22;q23). وهذا عكس ان كل MLL

REARRANGEMENTS ليست متطابقة ، في الحقيقة ، فان انتقالات MLL المتنوعة اعتبرت نوعية في التشخيص .

ومن تصانيف chromosomal Rearrangements الاضافية التي تم اضافتها الى تصنيف ال WHO الاكثر حداثة تتضمن :

t (6;9)(p23; q34) ; DEK-NUP,21

Inv (3) (q21;q262) or t (3;3)(q26.2); RPN1-EV11

[1] t (1;22) (p13;q13) ; RBM15-MKL1

- **2-3 التنميط المناعي :**

رغم ان كل من تصنيف FAB وتصنيف WHO لم يستخدما التنميط المناعي لاهداف تصنيفية ، فقد استخدم التنميط المناعي في التشخيص البدئي ومراقبة المرض ، واعتبر معيار بالعناية وضروري لتمييز AML عن ALL [1].

جدول (٣) : التنميط المناعي للابيضاض النقوي الحاد :

Marker	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
Myeloid CD11b				+	++	++	-	-
CD13	++	++	+	+	++	-	+	+
CD14	-	-	-	-	++	-	-	-
CD15	+	+	+	++	++	++	-	-
CD33	++	++	++	+++	++	+++	++	++
CD34	++	++	++	+/-	+	+/-	-	+/-
CD65	++	++	++	++	++	++	++	+
ERYTHROID GLYCOPHORIN A	-	-	-	-	-	-	++	-
MEGAKARYOCYTIC CD41/61	-	-	-	-	-	-	-	++
CD42	-	-	-	-	-	-	-	++
CD36	+/-	+/-	+/-		++	++		++
B CELL Lingeage								
CD10	-	+	+	-	-	-	-	-
CD19			-	-	-	-	-	-
CD20	--	--	-	-	-	-	-	-
T-CELL Lingeage								
CD2	+	+	+	+	+	+	-	++
CD3	-	-	-	-			-	-
CD4	-	-	-		++	++	-	+
CD7	-	+	+	+	+	+	+	+
CD56	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	-	+

OTHER HLA-DR	++	++	++	+/-	+++	+++	-	+
CD117	++	++	+	+	+	+/-	+/-	+

ان النوعية والحساسية عاليتان باستخدام التنميطات المناعية الموجودة على سطح الخلية للتمييز بين AML ، ALL [٢].

ان تحديد التدفق الخلوي FLOW CYTOMETERIC للارومات الابيضاضية يعتمد على التحليل متعدد المعالم لنماذجها الزائغة في التعبير عن مستضدات التمييز الطبيعية.

ويمكن ان يستخدم التحليل متعدد المعالم باستخدام FCM لتحديد القياس الكمي لوجود الارومات الابيضاضية بمستويات منخفضة تصل الى ١/١٠٠٠٠ من خلايا BM وحيدة النوى [١٤، ٢]. هذا المستوى من القدرة على تحديد المرض المتبقي الاصغري Minimal residual disease (MRD) يتجاوز الوسائل الاخرى كالتنميط الظاهري والجينية الخلوية والتي يمكنها ان تحدد ١ خلية/من ١٠٠ خلية BM وحيدة اللنوى [٢،١٥] .

الدراسات للتنميط المناعي اوضحت وجود ارتباط هام بين التعبير عن البروتينات السطحية للخلية وبين تصنيف WHO لانماط AML .

تستخدم المستضدات بشكل شائع في تشخيص AML وهي : CD11b, CD13, CD14, CD34, CD41, CD15, CD33, CD42, CD56, CD61, CD64, LYCOPHORIN A , CLASS 2 human leukocytes antigens(HLA-DR), Myeloperoxidase(MPO), CD117(C-KIT).[1]

ويعتبر كل من CD33, CD13, C-KIT اشيع الواسمات النقوية التي يتم التعبير عنها ، وتوجد على الارومات بنسبة تصل تقريباً الى90 % من المرضى .

النمط FAB(M4) : وهو الابيضاض النقوي الحاد بالوحيدات والنقيات MYELOMONCYTE LEUKEMIA : غالبا مايتم التعبير عنه ب : CD14(73%)

CD15(100%)

CD33(92%)

CD13(57%)

وهذا يوضح الاختلاف في ذرية الوحيدات الخلية [٢].

النمط : FAB (M5) : Acute monocytic leukemia: يظهر نموذجا من التعبير السابق لكنه يفقد التعبير عنCD13 .

ويفيد ايضاً كل من CD64 و CD36 في تحديد الخلايا ذات التمايز الى وحيدات النوى .

بالمقابل فان اورمات (M1- M2) غالبا ماتعبر عن CD13(80%) ، وتتعبر ايضا بمستويات اخفض عن CD10(20%) .

السلائف النقوية التي تتمايز الى ذرية الكريات الحمر تعبر عن Glycophorin A والذي يفيد كواسم في تشخيص الابيضاض النقوي بالاورمات الحمر (M6)Erythroblastic leukemia– ACUTE .

التعبير عن المستضدات السطحية للخلية المرتبطة بالصفيحات بما يتضمن :CD41, CD42, CD61 ،يشير الى التمايز في مسار نسيلة الميغاكاريوساتيك (النواءات)، حيث تفيد هذه التعبيرات في تشخيص الابيضاض بخلايا الميغاكاريو سايت الحاد(النواءات) (M7)Acute megacariocytic leukemia.

يمكن ان تحدث نتائج ايجابية كاذبة باستخدام البروتينات السطحية الخلوية عندما تلتصق الصفيحات الى سطح الاورمات .لذا فان تحديد البروتينات داخل السيتوبلاسما مثل Platelet peroxidase او تحديد النمط المناعي على خزعات BM يجب تاكيدها[١٦].

الوراثة الخلوية Cytogenetics :

تحليل الوراثة الخلوية الكامل للخلايا الابيضاضية هو امر ضروري عند التقييم الاولي لوضع التشخيص والتصنيف حسب الخطورة ولكي يساعد في توضيح بيولوجية المرض [٢]

جدول(٤) : الشذوذات الجينية الخلوية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد لدى الاطفال

CHROMOSOME ABNORMALITY	AML FAB TYPE	AFFECTED GENES	FUNCTIONS	FREQUENCY %	COMMENTS
t(8;21)(q22;q22)	M1, M2	ETO-AML1	Transcription factors	5-15	Aure rods common ; chloromas
t(15;17)(q22;q12)	M3 , M3v	PML-RARa	Transcription factor , hormone receptor	6-15	Coagulopathy – ATRA responsiveness
t(11;17)(q23;q12)	M3	PLZF-RARa	Transcription factor-hormone receptor	Rare	Coagulopathy – ATRA unresponsiveness
Inv(16)(p13;q22) t(16;16)	M4Eo	MYH11-CBFB	MUSCLE PROTRIN –	2-11	CNS LEUKEMIA ; EOSINOPHILIA with basophilic

			TRANSCRIPTION FACTOR		**granules**
t(8;16)	**M5b**	**MOZ-CBP**	**Transcription factors**	**1**	**Infant or young adults; high WBC count ; chloromas; erythrophagocytosis; secondary leukemia after epipodophyllotoxins**
t(9;11)(p22;q23)	**M4 , M5a**	**AF9-MLL**	**Homeodomain peoteins**	**5-13**	**Infant or young adults ; high WBC count ; chloromas ; erythrophagocytosis ; secondary leukemia after epipodophyllotoxins**
t(10;11)(p12;q23)	**M5**	**AF10-MLL**	**Homeodomain proteins**	**Rare**	**Infant or young adults – high WBC count ; chloromas; erythrophagocytosis – secondary leukemia after epipodophyllotoxins**
t(11;17)(q23;q21)	**M5**	**Mll-AF17**	**HOMEOdomain proteins**	**Rare**	**Infant or young adults – high WBC count ; chloromas ; erythyphagocytosis-secondary leukemia after epipodophyllotoxins**
t(11q23)	**M4 , M5**	**MLL, OTHER PARTNERS**	**HOMEODOMAIN protins**	**2-10**	**Infant; high WBC count, CNS and skin involvement; poor prognosis associated often associated with these , especially t(4;11)**
t(1;22)	**M7**	**RBM15-MKL1**	**RNA binding protein , DNA binding protein**	**2-3**	**M7 AML in infants with DOWN SYNDROM ; myelofibrosis**
t(6;9)	**M2, M4**	**DEK- CAN**	**Transcription**	**1**	**Basophilia**

	, MDS		**factor , nuclear protein**		
Inv (3)(q21;q26) t(3;3)(q21;q26)	**M2 , M4 , MDS**	**EV11**	**TRANSCRIPTION FACTOR**	**1**	**PRIOR MDS, thrombocytosis and abnormal platelets**
-7/del (7) (q22;q36)	**All subtypes , MDS**			**2-7**	**TOXIC exposure ; prior MDS ; more common in older adults . bacterial infections common**
-5/del(5)(q11;q35)	**All subtypes, MDS**			**RARE**	**TOXIC exposure , prior MDS, more common in older adults**
+8	**All subtypes**			**5-13**	**Prior MDS ; older patients**

وينصح باعادة التحليل حسب الحاجة بعد التشخيص من اجل الحكم على الاستجابة للمعالجة ، او من اجل تحديد التطور الجيني.

المقاربة الاولية هي تحديد النمط النووي التقليدي والذي يمكن ان يوضح عدد الصبغيات (ploidy) ، والتغييرات البنيوية مثل التضخيم amplification او الحذف deletion او الانقلاب .

وتجرى دراسات جينية اضافية بناء على نتائج التنميط النووي الاولي وحسب التشخيص المشكوك به بناء على الدراسات السريرية والمورفولوجية والنمط المناعي . كما نتج العديد من التقنيات الحديثة التي يمكن استخدامها [٢].

ال FISH= Florescent in situ hybridization : وهي تقنية تستخدم مسابر نووية موسومة بالفلورسين في جينات الخلية في مرحلة interphase و metaphase . هذه التقنية تكمل التنميط النووي من خلال قدرتها على تحليل عددا اكبر من الخلايا الابيضاضية (> من ٥٠٠ خلية تحلل بواسطة FISH) ، اكثر من التنميط النووي التقليدي (تقريبا ٢٠-٤٠ metaphase في التنميط النووي التقليدي).[1]

مسابر ال FISH مصممة بشكل خاص للصبغيات والانتقالات المتضخمة في التنشؤات ،وهي تقنية مفيدة لمراقبة وجود MRD .

او تقنيات التفاعل التسلسلي البوليمرازي Polymerase chain reaction: PCR : تستعمل هذه التقنية من اجل تضخمات نوعية لمناطق محددة من DNA . وبهذا يمكن استخدامها لتحديد تسلسل فريد ونوعي

للشذوذات الجينية مثا : الانقلاب ، والحذف، والنقل [٢] , وعندما تقرن (تشارك) هذه التقنية مع تسلسل DNA فان هذه التقنية تستطيع ان تحدد زوج من الطفرات الوحيدة في DNA ، وهي ذلت حساسية عالية ، فهي تستطيع ان تحدد طفرة في ١٠٠ ألف خلية من نقي العظم .

في حين يمكن تحديد شذوذات استنساخ RNA الناجمة عن انتقال الصبغيات في مستوى عال من الحساسية باستخدام تقنية PCR للنسخ المعاكس(RT-PCR) ، اضافة الى ان التصنيف النوعي باستخدام تعابير RNA وتقنيات Proteomic سيكون لها تاثير اساسي في القدرة على تحديد الابيضاضات وتحديد علاجات جزيئية مناسبة مباشرة في المستقبل [2] .

- ***2-4 انماط الابيضاض النقوي الحاد : The subtypes of AML:***

النمط AML –M0: <u>AML with minimal evidence of myeloid differentiation</u> :

في هذا النمط لايوجد دليل على التمايز النقوي مورفولوجياً او بالدراسات الكيميائية الخلوية المجهرية [١٧]. ويضم هذا النمط < ٣٠% من AML لدى الاطفال . تكون السيتوبلاسما غير محببة مع درجات متنوعة من Basophilia .

يتم التعبير على سطح الخلايا الارومية عن واحد او اكثر من المستضدات السطحية للخلية النقوية وتتضمن : CD117(C-KIT), CD33, CD13. احياناً يوجد تعبير عن المستضدات المرتبطة بالتمايز اللمفاوي مثل : CD2 , CD7 , CD 19، ولكن بكثافة اقل من المشاهد في الابيضاض اللمفاوي [٢،١٨].

النمط AML-M1 : <u>AML without maturation</u> :

يشكل هذا النمط حوالي ٢٠% من AML لدى الاطفال . يتميز بعدم النضج مع وجود نسبة عالية من ارومات BM بدون وجود دليل هام على النضج الى معتدلات اكثر تمايزاً.

مورفولوجياً: يشاهد الارومات النقوية MYELOBLAST ، بعضها يحوي حبيبات Azurophilic ، على عكس AML-M0 .

وغالبا ماتعبر اورمات M1 عن MPO . كما انها تعبر على الاقل عن (٢) من المستضدات النقوية Myelomonocytic والتي تتضمن : CD117 , CD33 , CD13 وغالبا ماتكون CD34 ايجابية [1,2].

- **النمطAML-M2 : AML with Maturation :**

يشكل هذا النمط ٣٠% من حالات AML لدى الاطفال . تكون الاورمات مع او بدون حبيبات azurophilic مع وجود درجات متنوعة من خلل التنسج (dysplasia) .

الحالات التي فيها زيادة Marrow basophilis قد تملك شذوذات جينية خلوية متكررة تتضمن : الحذف والنقل على الصبغي 12p ، و t (6;9) .

يحدث t (8;21) في هذا النمط من الخلايا بتواتر يصل الى (10–15%) [١٩].

- **النمطAML- M3:**

AML with t (15;17)(q22;q12) : AML-APL

و AML. M3. APL= PML/RARA

يشكل هذا النمط %(5–10) من مجموع ال AML لدى الاطفال

مورفولوجيا: يوجد فرط تحبب او نقص تحبب مع تحبب مجهري (M3V) . يكون حجم النوية وشكلها في النمط مفرط التحبب من APL متنوعاً بشدة وغير منتظم . وقد تكون حبيبات السيتوبلاسما كبيرة جدا لدرجة انها تجعل حواف السيتوبلاسما /النواة غير واضحة . العديد من هذه الخلايا يحتوي على حزم من عصيات أور التي تكون عادة اكبر من تلك الموجودة في الانماط الاخرى من AML[2] .

في النمط منخفض الحبيبات :يكون لديه ندرة او غياب للحبيبات وغالباً ذا نواة ثنائية الفصوص [2].

يكون تفاعل MPO ايجابي بشدة

حساسية خلايا APL الى حمض Trans-retinoic (ATRA) قادت الى اكتشاف ان الجين RARA الموجود على الصبغي (١٧) ينصهر مع العامل المنظم للنوية على الصبغي ١٥ (جين PML) مما يرفع من المنتج PML-RARA [1]

هنالك ٣ اشكال من تورط RARA وهي :

t (11;17)(PLZF/RARA)

t (11;17)(NUMA/RARA)

t (15;17)

هذه الانتقالات المختلفة لها اهمية انذارية . حيث يظهر المرضى الذين لديهم t (15;17) استجابة ممتازة الى (ATRA) ، في حين كان المرضى الذين لديهم t(11;17) الاكثر مقاومة [٢،١٩].

- **النمط AML-M4** :

يشكل هذا النمط حوالي %(25-30) من حالات AML لدى الاطفال . يحدث غالباً لدى الاطفال الاصغر من عمر السنتين . عادة مايحتوي BM على > ٢٠% من الارومات وسليفات المعتدلات وسليفات الوحيدات وكل منها يضم ٢٠% من خلايا النقي هذه الحد الادنى من (٢٠)% من الوحيدات هو الذي يميز AML-M4 عن بقية اشكال AML والتي قد يكون فيها وحيدات[٢] .

وهنالك اداة اخرى لتمييز هذا النمط وتشخيصه وهي ، انه يوجد عادة عدداً مرتفعا من الوحيدات في الدم المحيطي (>٥*١٠^٩/ L).[2]

تكون الارومات النقوية في AML-M4 عادة ايجابية MPO ، وتعبر بتمييزالمستضدات السطحية مثل : CD15 , CD13, CD33 .

تعبر ارومات الوحيدات بشكل نوعي عن الواسمات السطحية النقوية اضافة الى : CD4, CD14 , HLA-DR [1].

هنالك شكل من AML-M4 ويدعى M4E0 : والذي يتميز بمحتوى غير طبيعي من الحامضات في النقي . هذا الشكل يرتتبط بقوة مع تغييرات على الصبغي (١٦) وأشيعها : inv(16)(16q22) .

المظهر الشكلي لهذه الحامضات الغير طبيعية هو الدليل الاكبر عن مرحلة promyelocyte، و myelocyte. وتكون الحبيبات عادة ذات لون بنفسجي–ارجواني ، وغالبا ماتكون كثيفة جدا بحيث انها تجعل شكل الخلية غير واضح.

كل من inv(16) و t (16;16) ينتج عن انصهار جين CBFB في النقطة 16Q22 الى السلسلة الثقيلة للميوزين العضللي الاملس (MYH11) في النقطة 16P13 . [2]

في الوراثة الخلوية التقليدية فان inv(16) ينجم عن اعادة ترتيب Rearrangement رقيق ، ولذا فان استخدام FISH و RT-PCR قد يكون ضروري لايجاد الشذوذ الجيني [٢٠].

✚ AML-M5: الابيضاض النقوي الحاد باورمات الوحيدات/الوحيدات: Acute monoblastic/monocytic leukemia :

هو MLS والذي تكون فيه ٨٠ % من الخلايا الابيضاضية هي من نسيلة MONOCYTIC LINEAGE

يمثل هذا النمط ١٥% من AML عند الاطفال بعمر > ٢سنة ، وحوالي ٥٠% من مجموع AML من الاطفال < ٢سنة .

غالبا ماترتبط فترة الرضيع مع الانتقال t (9;11) وفيه يحدث الانتقال من الانتر فرون B في الجين (١١) الى جين MLL المتوضع على (11q23-24) {153} ، اضافة لذلك قد يرتبط الانتقال t (8;16) مع الابيضاض M4 او M5 . وفي غالبية الحالات فانه يرتبط مع Erythrophagocytosis ومع اعتلال تخثري coagulopathy .

المرض خارج النقوي والاضطرابات الدموية شائعة ايضا في AML-M5.

هنالك مجموعتان فرعيتان لل M5 وهما :

$M5_a$ او مايدعى monoblastic leukemia : وتكون الاورمات عادة كبيرة مع نوى متعددة ، ولاتحوي عصيات اور

$M5_b$ او مايدعى :Monocytic leukemia والذي يكون فيه ٨٠% من الخلايا عبارة عن خليط من monoblast و monocytes و promonocytes ، وتكون الاورمات اكثر تمايزا ومحببة ، وعادة ماتوجد عصيات اور .

هذه الابيضاضات تعبر بشكل متنوع عن المستضدات النقوية : CD13 , CD33 , CD117 ، وعادة ماتظهر واسمات تتصف بالتمايز للوحيدات مثل CD14[١،٢] .

✚ النمط AML-M6: AML with predominant erythroid differentiation:

يمثل هذا النمط ٥% من حالات AML لدى الاطفال . ويشخص عندما يكون > من ٥٠% من خلايا BMهي عبارة عن اورمات حمر erythroblasts و>من ٢٠% من مجموع الخلايا غير الحمر هي myeloblasts [١].

الابيضاض بالارومات الحمر النقي pure-erythroid leukemia نادر جدا لكنه يمكن ان يحدث عند الاطفال . وهذا النمط يمثل تكاثر من خلايا غير ناضجة تنتمي حصريا الى نسيلة الحمر erythroid lineage . حيث تشكل هذه الخلايا >٨٠ % من خلايا النقي .

وعادة ماتفتقر الارومات الحمر erythroblasts الى الواسمات المرتبطة بالنقوية ، ويكون MPO سلبياً ، ولكن هذه الارومات ايجابية بشدة الى Periodic acid Schiff(PAS) ، وايضا ايجابية بالنسبة ل carbonic-anhydrase.

لايوجد شذوذات صبغية نوعية مرتبطة مع الابيضاض M6. على اي حال ، فان النمط النووي المعقد شائع مع كون الصبغي ٥ والصبغي ٧ هي الاكثر اصابة [١،٢].

- **النمط AML-M7 : Acute megakaryoblastic leukemia(AMKL) :**

يدث لدى (٥-١٠) % من حالات الابيضاض النقوي الحاد لدى الاطفال، ولكنه النمط الاكثر لدى الاطفال الاصغر من ٢سنةولديهم M DS[٢١،٢٢].

ضخامة الاعضاء غير شائعة باستثناء الرضع المصابين ب AML-M7 والمرتبط مع الازفاء (1;22) t والذي يوجد غالبا مع كتل بطنية كبيرة .

مورفولوجيا (من الناحية الشكلية) فان MEGAKARYOBLST لديها عادة نواة دائرية غير منتظمة او مسننة مع كروماتين ناعم وتحوي (١-٣) نويات . وتكون السيتوبلاسما قاعدية وغير محببة ، وتظهر فقاعات او تشكلات كاذبة .

احياناً تكون الارومات اصغر مع نسبة نواة/الهيولى صغيرة وتشابه الابيضاض اللمفاوي [1.2] .

غالبا ماتتواجد االارومات مع كتل (عناقيد) من الصفيحات التي تحيط بها .

لدى الرضع ، يوجد تعبير بالازفاء t(1;22) ، والفحص قد يكشف نموذج نسيجي stromal من الارتشاح النقوي الذي يحاكي الورم الانتقالي .

التنميط المناعي يظهر تعبيرا عن megakaryoblasts لواحد او اكثر من الغليكوبروتينات الصفيحية مثل: CD41(2b/3a) و/ او CD61(3a)

اما CD36 فيكون ايجابياً[١،٢] .

2-5 الموجودات السريرية والمخبرية:

تكون الاعراض والعلامات الموجودة لدى الاطفال ذات مدى (مجال) كبير . قد يحضر المريض مع الحد الادنى من الاعراض المرتبطة بفقر الدم او بمضاعفات مهددة للحياة بسبب الارتشاح الابيضاضي الذي ينجم عنه سوء وظيفة العضو او فشله.

يقترح التشخيص باجراء تعداد شامل للكريات الدموية والذي يظهر نقص شامل في عناصر الدم pancytopenia مع وجود اورمات في الدم المحيطي .

يكون تعداد الكريات البيض (WBC) عند التشخيص حوالي $20*10^9/L$ ، وحوالي ٢٠% من المرضى يحضرون مع تعداد كريات بيض يزيد عن ١٠٠ ألف / ١٠^٩ ل [٢٣،٢٤].

تركيز الخضاب < ٩ g/dl لدى اكثر من نصف المرضى

تعداد الصفيحات < ١٠٠*١٠^٩ / L لدى ٧٥% من المرضى [٢٥].

فرط البوتاسيوم وفرط الفوسفات قد يقود الى متلازمة الانحلال الورمي TLS (Tumor lysis syndrome) والتي يحتاج خلالها المريض الى عناية داعمة ومكثفة (مركزة) ، رغم انها تحدث بشكل اقل تواتراً في AML مقارنة ب ALL [٢٤].

تكون درجة الاضطرابات الشاردية عادة متنوعة حسب الحمل الابيضاضي ومعدل حجم الخلايا، والتي يمكن ان تعقد (تصعب) من قبول العلاج المخفض للخلايا وبشكل خاص نقص البوتاسيوم ، ونقص الفوسفات ، ونقص الكلس ، ونقص الالبومين واللتي يمكن ان ترتبط مع AML M4/M5 . هذه الشذوذات الشاردية ناجمة عن سوء وظيفة الانابيب الكلوية التي يسببها الليزوزيم النقوي الذي تطلقه الخلايا الابيضاضية [٢].

الحمى من الموجودات الشائعة لدى الاطفال المصابين ب AML ، وغالبا ماتكون ثانوية لل Pyrogens التي تطلقها الخلايا الابيضاضية او كاستجابة التهابية للخلايا الاورمية . على اي حال فان المرضى لديهم خطورة عالية للاصابة بالخمج الجرثومي بسبب العدد المنخفض من العدلات الوظيفية والتي عادة تكون <١٠٠٠ خلية /ml . وجود الحرارة لدى هؤلاء المرضى يعتبر حالة طارئة ، ويجب اجراء زرع دم وبول مع البدء باعطاء الصادات الحيوية واسعة الطيف[٢٦].

يكون فقر الدم سوي الحجم سوي الصباغ ، وينتج عن ارتشاح النقي بالارومات الابيضاضية ، وهو امر شائع ، وينجم عنه : صداع ، دوار ، شحوب وتعب [٢٥]. وقد ينجم فقر الدم عن ارتشاح الاعضاء ، او خسارة الدم بسبب نقص الصفيحات .

يحدث التخثر المنتشر داخل الاوعية (DIC) بسبب الخمج او بسبب اطلاق Procogulant من الحبيبات السيتوبلاسمية من بعض اورمات ال AML .

تشاهد الضخامات الحشوية تشاهد لدى نصف المرضى المصابين ب AML تقريباً ، وتنجم عن ارتشاح الطحال بالارومات الابيضاضية باستثناء مرضى (AML . M7) . هؤلاء المرضى يحضرون عادة مع ضخامة كبدية تالية للتليف والذي يقود الى قصور الكبد [٢٧].

جدول(٥) : حول الموجودات السريرية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد

المضاعفات	الاعراض
DIC	الحمى fever
فرط الكريات البيض HYPERLEUKOCYTOSIS AND LEUKOSTASIS	التعب malaise
اعراض عصبية : NEUROLOGIC DEFICITS : الخمول LETHARGY تبدلات في الحالة العقلية MENTAL STATUS CHANGES شلل العصب القحفي CRANIAL NERVE PALSIES	الام عضلية وهيكلية musculoskeletal pains
اذية كلوية حادة ACUTE KIDNEY INJURY	اعتلال بالعقد اللمفية lymphadenopathy
	ضخامة كبد وطحال hepatosplenomegaly
	النزف bleeding

DIS: Disseminated intravascular coagulopathy

6-2 اجراءات التشخيص :

علاوة على الفحص السريري والقصة الدقيقة يجب اجراء الاختبارات التالية لدى الاطفال الذين نشك بوجود AML لديهم وهي :

- CBC: تعداد عام وصيغة
- لطاخة دم محيطية
- دراسة تخثرية
- بزل للسائل الدماغي الشوكي CSFمع اجراء تحليل لتعداد الخلايا والسكر والبروتين و CYTOLOGY .
- خزعة نقي عظم وحيد الجانب من اجل المراجعة المرضية Pathologic review
- بزل نقي عظم وحيد الجانب من اجل التنميط المناعي والوراثة الخلوية – Metaphase cytogenetics ، وتحليل fish ، الاختبارات الجزيئية النوعية (specific molecular testing)

[١،٢]

جدول(٦) : حول الموجودات التشخيصية في الابيضاض النقوي الحاد

الاختبار Test	
Morphology	**Immature cells with large nuclei , usually with prominent nucleoli, a variable amount of pale blue cytoplasm Auer rods Use FAB Classification**
Immunophenotype التنميط المناعي	**Expression of CD11b, CD34, CD33, CD45, CD64, CD65, CD117, MPO, LYSOZYME**
Cytogenetics / FISH	**t(8;21), inv(16), t(15;17), 11q23 translocations**
Mutation analysis	**PCR or NGS for : NPM1, CEBPA, FLT-3/ITD, KIT, WT1**
CSF analysis	

NGS; Next generation sequencing: is a massively paralle sequencing technology that offers ultra-high throughput , scalability ,and speed .The technology is used to determine the order of nucleotides in entire genomes or targeted regions of DNA or RNA.

2-7 فرط الكريات البيض : HYPERLEUKOCYTOSIS :

بسبب الحجم الكبير للاورمات الابيضاضية في AML وخاصية الالتصاق (Adhesion) ، فان الاطفال الذين لديهم ارتفاعا بتعداد الكريات البيض (WBC) لديهم خطورة عالية للمضاعفات المرتبطة بركودة الكريات البيض Leukostasis .

وقد ينتج عن هذه الحالة اعراض عصبية متقدمة ، واعراض تنفسية ناجمة عن تكتل وترسب الاورمات في الاوعية الدموية الصغيرة[٢،٢٨].

يحدث الموت خلال اول اسبوعين من التشخيص لدى (2-4) % من الاطفال المصابين ب AML . قد يعود ذلك الى النزف وفرط الكريات البيض [٢]. وتصل نسبة الموت الى (٥٢%) لدى المرضى الذين لديهم ارتفاع شديد بالكريات البيض نتيجة حدوث النزف داخل الدماغ او القصور التنفسي [٢٩،٣٠].

ويمكن ان تكون اعراض الجملة العصبية CNS الناجمة عن ابيضاض الدم متنوعة ، وتتضمن : التخليط ، الصداع ،ومتلازمة النوم Somnolence Syndrom والتي يمكن ان تتطور الى سبات .

التظاهرات الرئوية تنجم عن ارتشاح الكريات البيض الى الاسناخ الرئوية والبرانشيم الرئوي مما ينتج عنه وذمة رئوية او قصور تنفسي ، واحيانا نزف رئوي .

وعلى الرغم من ان فرط الكريات البيض هو عامل خطورة هام ، وارتفاع تعداد الكريات البيض لوحده مشعر منبىء inconsistent predictor لفرط الكريات البيض في AML [٣١].

وبالرغم من ان معظم الاطفال لايطورون أعراض مع ارتفاع الكريات البيض فوق ٢٠٠*١٠^{٩} /ل ٠الا ان المرضى الذين لديهم ابيضاض نقوي باورمات الوحيدات (AML-M4)لديهم خطورة عالية مع تعداد كريات بيض يصل الى ١٠٠*١٠^{٩}/ ل بالمقارنة مع الخلايا النقوية الاورمية الاخرى ، كون الاورمات الوحيدة لديها زيادة في اللصوقية (الالتصاق) والحركة الذاتية واحتمال غزو النسج [٣٢].

الاطفال الذين لديهم اعراض بسبب فرط الكريات البيض يميلون ان يكونوا أصغر عمراً (< ٢سنة) ، ولديهم زيادة في حدوث الاعراض خارج النقوية ، والاعتلال التخثري ، وحدوث أعلى للموت الباكر [٢٣]. ومن الضروري

الخفض السريع لتعداد الكريات البيض لدى كل المرضى الذين لديهم خطورة لتطوير فرط كريات بيض . ويتم ذلك غالبا باستخدام فصادة الكريات البيض مع فرط الاماهة [٢٨].

يبدأ استخدام الفصادة لدى مرضى AML عندما يكون تعداد الكريات البيض البدئي WBC > ٢٠٠* ١٠^٩ / ل رغم انه لم يتم اختبار الفائدة منها .

من مساوئ هذا الاجراء هو ضرورة وضع قثطرة وريد مركزي ، وابعد من ذلك انخفاض في عدد الصفيحات لانه يتم التخلص منها بشكل مشترك مع الكريات البيض . ووجد ان تعداد الارومات غالبا مايعود للارتفاع بسرعة بعد الفصادة الا في حال تم البدء فورا باستخدام الادوية الكيماوية المخفضة للخلايا [١،٢].

2-8 الاعتلال التخثري :

يعتبر النزف والخثار من الاسباب الشائعة للمراضة والوفيات عند حضور مريض AML لاول مرة ، وايضا نتيجة بدء علاج مرضى AML .

غالبا ماياتي المريض باعراض تكدم ، او فرفريات ، او رعاف ، او نزف لثوي ، او نزف طمثي. ويمكن ان يتظاهر المريض باعراض نزفية اكثر خطورة والتي تتضمن : نزف صريح من المعاء الغليظة او الدقيقة ، او نزف في الجملة العصبية المركزية CNS .

معظم المرضى لديهم نقص في الصفيحات Thrombocytopenia عند التشخيص . ويترافق نقص الصفيحات غالبا مع نقص في تركيز الفيبرينوجين البلاسمي مع تطاول في زمن البروترومبين (PT) وتطاول في زمن الترومبوبلاستين الجزئي الفعال (a PTT) وزمن الترومبين مع ارتفاع في مستوى مدركات الفيبرينوجين البلاسمي (FDP) [٢،٣٣].

يمكن ان يحدث الاعتلال التخثري نتيجة تطور الاعتلال التخثري المنتشر داخل الاوعية DIC والناجم عن اما الخمج ، او عن اطلاق طلائع التخثر من الحبيبات السيتوبلاسمية من بعض ارومات AML خاصة في النمط الابيضاضي APL ، ويمكن ايضا ان يحدث في النمط AML-M4 و AML-M5 . حيث ان خلايا APL تكون غنية بطلائع التخثر التي تفعل العامل السابع والعامل العاشر .

ويمكن ان ينتج عند البدء بالعلاج الكيماوي اطلاق لطلائع عوامل التخثر او زيادة في سوء DIC [٢،٢٣] .

وغالبا يكون من الضروري اجراء تخفييض للخلايا الابيضاضية ، واعطاء معيضات عوامل التخثر بكثافة ، ونقل الصفيحات ، وذلك لخفض النزف الكارثي catastrophic .

مع استخدام ATRA في مرحلة Induction في علاج APL ، فان ذلك ادى الى انخفاض واضح بالمضاعفات النزفية [٢،٣٤]. حيث ان ATRA تؤمن تغيراً في العلاج الكيميائي السام للخلايا لتحريض الهجوع عبر تعزيز تمايز السليفات النقوية Promyelocytes وهذا يحرض الموت الخلوي المبرمج apoptosis بدون احداث انحلال حاد للاورمات الابيضاضية .

2-9 علاج AML :

تحسن انذار الاطفال المصابين ب AML بشكل كبير خلال العقودالثلاث الماضية [٣٥،٣٦،٣٧،٣٨،٣٩،٤٠،٤١]. وارتفع معدل الهدأة الكاملة CR (COMPLETE REMISSION) الى (٨٠-٩٠)% ، ووصل معدل البقيا OS (Overall survival) حاليا حتى ٦٥% في مختلف انحاء العالم [٢]. fig20.3a–d . وقد تم انجاز هذا التحسن عبر عدد من العوامل والتي تتضمن : تسجيل الاطفال ضمن تجارب سريرية ، واعطاء جرعات مكثفة dose- intensification ، وتحسين الرعاية الداعمة . هذه التدخلات ادت الى تحول في المرض والذي كان قاتل الى مرض مع احتمال قابليته للشفاء .[35.36.37.38.39.40.41]

على اي حال ، وبالرغم من هذا التقدم ، فان معدل الشفاء لدى الاطفال المصابين ب AML قليل بالمقارنة مع المرضى الاطفال ب ALL، وتعود الاسباب الرئيسية لفشل العلاج الى حدوث النكس ، والوفيات المرتبطة بالعلاج .

حالياً فان تقريباً تلت حالات الوفيات الكلية التي تعود للابيضاض متعلقة بالابيضاض النقوي الحاد AML [١،٢].

يتالف نظام العلاج الكيميائي في الابيضاض النقوي اللحاد AML من :

- العلاج الكيميائي بالحث لاحداث الهدأة : Remission-induction-chemotherapy
- العلاج الكيميائي الوقائي للجملة العصبية المركزية prophylaxis CNS
- العلاج مابعد الهجوع

وكانت الاستراتيجيات الاولية للابيضاض النقوي الحاد AML تعتمد على علاج الابيضاض اللمفوي الحاد ALL .مع علاج INDUCTION مكثف ، يتبعه شوط علاجي داعم طويل Prolonged maintence والذي يتضمن تشعيع القحف cranial irradiation.

تطور نظام العلاج الكيميائي كان يعتمد على فرضية Gdldie-Coldman والتي تقول ان الاستخدام الباكر للمشاركات المنطقية للادوية ذات المقاومة غير المتقاطعة والذي يصل بشكل متزامن او بشكل متناوب تسلسلياً سوف يزودنا بتاثير مضاد للابيضاض اكثر فعالية [٢،٤٢].

قادت هذه الفيزيولوجيا العلاجية الى تحسينات في معدل البقيا من <١٠% ماقبل عام ١٩٧٠م الى (٢٥-٣٥) % بين عامي ١٩٧٠-١٩٨٠.

- ***<u>المعالجة التمهيدية او المدخلة بالهدأة (الهجومية)- احداث الهدأة : induction therapy :</u>***

العلاج الدوائي الحاث (المكثف) هو مبدأ علاجي هام والذي يحسن من معدل الهدأة في مرحلة induction ، ويقود الى تحسين معدل البقيا (OS) .

تاريخياً ، فان هدف العلاج الكيماوي INDUCTION هو تحقيق الهدأة الكاملة مورفولوجياً (شكلياً) والذي يعرف بوجود <٥% من اورمات AML في نقي العظم مع وجود شفاء للسلاسل الدموية الثلاث.

في عام ١٩٦٠ كانت تستخدم Cytarabine (ara-c) و anthracycline كعوامل وحيدة في علاج الابيضاض النقوي الحاد AML ، وكانت تحث الهجوع لدى ثلث الى نصف حالات المرضى [٤٣].

في البداية كان باستخدام cytarabine كعامل وحيد لمدة (٥-٧) أيام والذي ادى الى حدوث الهجوع التام CR بمعدل ٢٥% من المرضى . فيما بعد تم استخدام علاج مكثف من CYTARABINE ووجد انه يتغلب على بعض اليات المقاومة [٤٤].

واوضحت الدراسات الاولية للابيضاض النقوي الحاد AML أيضاً مدى فعالية ANTHRACYCLINE عند استخدامها كعنصر وحيد [٢].

في عام ١٩٧٠ م ، تم استخدام هاذان العاملان في المقدمة مع نظام (٣+٧) ، مما نتج عنه معدلات هجوع في مرحلة INDUCTION تصل الى (٦٠-٧٠)% لدى البالغين و (٧٥-٨٠)% لدى الاطفال . هذا النظام المشترك في العلاج كان باعطاء cytarabine تسريب وريدي لمدة ٧ أيام بجرعة ١٠٠مغ /م^{٢} /اليوم مع اعطاء daunorubicin لمدة ٣ أيام بجرعة ٤٥مغ/م^{٢} /اليوم .وركزت التجارب البدئية الوحيدة باستخدام الانتراسكلين على تطوير anthracyclines غير المتصالبة بردة الفعل والمتغيرة مثل mithroxantrone و idarubicin و amsacrine [٢].

ووجدت التجارب السريرية المجراة في مركز Medical Research Council (MRC) أن Daunorubicin و mitroxantrone ذو فعالية متساوية ، لكن mitroxantrone كان ذو فعالية كابحة للنقوية بشكل أكبر [39]، وبالمقارنة مع daunorubicin فان /idarubicin / فانه يدخل الى الخلية بشكل اسرع

وله تفوق في الاحتفاظ به داخل الخلية ، وهذا يرتبط مع مقاومة دوائية أقل (في الزجاج) ، ويتحول الى مستقلب فعال ذي عمر نصفي أطول [45] .

وقامت التجارب السريرية ل Berlin-Frankfurt- Munster (BFM) بمقارنة الفعالية بين IDARUBICIN و daunorubicin في مرحلة علاج ال induction ، حيث ارتبط idarubicin مع تخلص ابكر من الخلايا الارومية لدى المرضى عالي الخطورة . باي حال ، فان معدلات الهجوع و EFS ، كانت متشابهة بين التجربتين [2]. وعند اجراء تجارب اضافية لم يتحقق معدلات هجوع أكبر باستخدام IDARUBICIN [1,46]. وتمحورت التجارب الباكرة حول استخدام CYTARABINE و DAUNORUBICIN في تحسين معدلات الهجوع في مرحلة الINDUCTION من خلال مفاهيم مثل تكثيف الجرعة ، والتعرض المديد لعوامل العلاج الكيماوي و، وتكثيف زمن وصول الدواء .

- **<u>الاستجابة للعلاج التمهيدي (الاولي) induction :</u>**

لم يظهر ان هنالك اهمية انذارية محددة لل MRD: Minimal Residual Disease في نهاية induction لدى الاطفال الذين لديهم عوامل خطورة جيدة او سيئة . باي حال بالنسبة للاطفال الذين لديهم عوامل خطورة متوسطة الذين لايحملون شذوذات وراثية خلوية او جزيئية ذات قيمة انذارية ، فان العامل الانذاري الاكثر اهمية هو MRD في نهاية علاج Induction . فالمرضى الذين لديهم MRD سلبي كان لديهم معدل البقيا خالية من المرض EFS ٦٥% ، والمرضى الذين لديهم MRD ايجابي كانت لديهم خطورة للنكس بنسبة ٦٠%[1,2].

- ***<u>جرعة التصليد اثناء علاج induction :</u>***

قاد نجاح نظام المشاركة (٣+٧) الى اختلافات والتي تحاول تكثيف الاساس (٣+٧) . ونظمت التجارب العشوائية ل CCG-213 في علاج INDUCTION والتي تشارك بين نظام (٣+٧) وبين نظام (Denver) ، والي يضيف Etoposide و Thioquanine و Dexamethasone الى cytarabine و daunorubicin . ولم تجد اختلافا ذو اهمية احصائية في معدل الهجوع التام CR وفي معدل البقيا العام OS بين المجموعتين[2] .

كما قامت دراسات POG (Pediatric – Oncology- Group) بين عام ١٩٨١-٢٠٠٠م لاستكشاف تاثير جرعة التكثيف Cytarabine ، ومنها دراسة POG- 8498 والتي نظمت المرضى بشكل عشوائي لتلقي شوط علاج INDUCTION والذي يتالف من شوطين INDUCTION من DAT (DAUNORUBICIN, CYTARABINE, THIOQAUNINE) او لتلقي شوط واحد من DAT يليه

شوط ثان يتالف من جرعة عالية من CYTARABINE ، ووجدت ان معدلات الهجوع كانت ممتازة (٨٥%) ومتشابهة بين المجموعتين . لكن معدل البقيا من دون احداث (EFS) لمدة ٣ سنوات كانت ممتازة لدى الذين تلقوا جرعة عالية من CYTARABINE مقارنة بالمرضى الذين لم يتلقوا ذلك (٣٤% مقابل ٢٩%)[1].

اما دراسة POG-9461 فقد طورت المفهوم بتوزيع المرضى عشوائياً ليتلقوا اما شوط واحد من DAT وجرعة عالية من CYTARABINE اثناء INDUCTION ، او ان يتلقوا شوطين INDUCTION من جرعة عالية من CYTARABINE ، ووجدت ان معدلات الهدأة الكاملة CR كانت بحدود متشابهة ، لكن المرضى الذين تلقوا شوطيين علاجيين من جرعة عالية من CYTARABINE كانوا متفوقين بالنتائج ، حيث كانت EFS لمدة ٣ سنوات (٤٠,٤%) مقابل (٣٤,٥%) لدى المرضى الذين لم يتلقوا هذا العلاج [2].

واثبتت الجرعة المكثفة من ANTHRACYCLINE صعوبتها ، بسبب ان الجرعات التراكمية بمعدل 375 مغ /م^{٢} ارتبطت مع زيادة خطورة في السمية القلبية ، وحدوث القصور القلبي فقط عند اعطاء كورس ثالث من العلاج الكيماوي (تعرض لل Anthracycline بالجد الادنى ٣٠٠ مغ /م^{٢}) . وهذه الموجودات قادت الى مراقبة قلبية مكثفة واجراء تحقيقات حول اختبار العوامل ذات السمية القلبية [47].

- ***التعرض المديد لعلاج induction :***

اضافة الى جرعة التكثيف ، فان التعرض المديد للعلاج الكيماوي induction يعتبر استراتيجية فعالة في تحسن معدلات الهجوع [1].

- ***Time – Sequential- Induction :***

علاج induction المتسلسل بالوقت استراتيجية بديلة لزيادة الجرعة ، ومدة التعرض للعلاج الكيميائي ، وهي تتم عبر زيادة زمن التكثيف من وصول الدواء .

تم اختبار الفرضية من خلال دراسة CCG-2891 والتي اعتمدت على الدراسات المجراة في الزجاج ، والتي اوضحت ان اورماتAML يتم تجنيدها في مرحلة (S) في اليوم (٦–٨) بالحد الاقصى من جرعة CYTARABINE [1,2]. ، لذلك فان هذه التجربة السريرية تقوم باختبار مقاربة متسلسلة بالتوقيت لعلاج INDUCTION لتحديد اذا كانت هذه المقاربة تستطيع ان تحدث معدلات استجابة عالية ، وتنقص من حدوث النكس [1,48,49].

التوقيت المعياري لنظام INDUCTION والمكون من (٥) أدوية يدعى DCTER-induction ، والذي يتالف من : Dexamethasone , cytarabine , 6-thioquanine , etoposide , daunorubicin . وقد تم مقارنته مع التوقيت المكثف للنظام regimen .

اجري التوقيت المعياري للشوط الثاني من DCTER- INDUCTION في اليوم ١٤ -Demonstrated residual–leukemia بعد الشفاء الدموي ، في حين اعطي التوقيت المكثف من DCTER في اليوم (٠-٣) ومن (١٠-١٣) بغض النظر عن الحالة الدموية . ووجدت ان معدلات الهجوع في INDUCTION كانت متشابهة في كلا الذراعين ، لكن لوحظ فائدة بقيا هامة بالنسبة لل INTENSIFICATION –DCTER بغض النظر عن نوع العلاج المعطى مابعد الهجوع ، وكانت EFS لمدة ٨ سنوات (٤٣%) بالنسبة لل INTENSIFICATION ARM و (٢٧%) بالنسبة لل STANDARD ARM [48,49]. واوضحت هذه النتائج ان علاج intensively –timed- induction يؤثر بشكل هام على نتيجة العلاج الكلية لدى مرضى AML، واصبح العلاج الاساسي الذي يتم اختباره من قبل تجارب CCG=2961 المتسلسلة [1,50].

في عام ١٩٨٨ ، عرفت (قدمت) مجموعة NOPHO (The Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology) مفهوم a time – intensive- induction ، لكن معدل الموت الناجم عن السمية كان مرتفعاً جداً .واستخدمت الدراسة NOPHO-AML93 بنجاح – Time- intensive induction لدى ٣/١ المرضى الذين لم يختبرو الهجوع بعد الشوط الاول من induction ، في حين المرضى الذين كان لديهم استجابة جيدة سمح لديهم بالوقت من اجل التجديد regeneration قبل العلاج المستمر [1].

- ***العلاج مابعدالهداة : post remission therapy :***

منذ عام ١٩٧٠ م ركز الباحثون أطباء الاطفال في مجال الابيضاض النقوي الحاد لديهم ، ليس فقط على تحسين معدلات remission induction ، ولكن ايضا على دور العلاج مابعد الهجوع العدواني (المكثف) في تحسين معدل البقيا OS .

اوضحت الدراسات الباكرة التي اجريت لدى البالغين من قبل Eastern Cooperative Oncology Group انه من دون اعطاء العلاج مابعد الهجوع فان تقريباً كل المرضى سوف يتعرضون للنكس [1].

- ***معالجة الصيانة في الابيضاض النقوي الحاد : Maintenance Chemotherapy in AML:***

في البداية ، استخدم الباحثون العلاج الداعم كمركب وحيد بعد الهجوع مع نتائج ضعيفة . واوضحت تجارب مركز ST.JUDE- AML وتجارب CCG-241 ن اعطاء العلاج الداعم الموسع لوحده مابعد الهجوع نتج عنه معدل EFS لمدة سنتين تراوح بين (٢٠-٢٥)%

وفي دراسة CCG213 تم ادخال المرضى المعالجين بشكل عشوائي ، اما ليتلقوا POST instensificatio- maintenance chemotherapy ، لو لم يتلقوا اي علاج لاحق ، ووجدت ان المرضى الذين تلقوا علاجاً داعماً اضافياً ، كان لديهم معدل البقيا OS أسوأ بالمقارنة مع المرضى الذين لم يتلقوه، وافترض الباحثون ان العلاج الداعم ينتج عنه انتقاء في استنساخ الابيضاض المقاوم للعلاج resistant leukemia clone [46].هذه الموجودات تم دعمها من قبل French-Society of Pediatric .

في دراسة (LAME89/9/ HEMATOLOGY AND IMMUNOLOGY والتي وزعت الاطفال عشوائياً لتلقي ١٨ شهراً من العلاج الداعم مع جرعة مخفضة من Mercaptopurine و Cytarabine مقابل اعطاء intensive –post remmision therapy لوحده ، ووجدت ان المرضى الذين تلقوا العلاج الداعم كان لديهم خطورة مشابهة في النكس لدى الذين لم يتلقوا ، لكن مع معدلات اخفض بشكل هام في معدل البقيا OS مقارنة بالمرضى الذين تلقوا فقط العلاج المكثف مابعد الهجوع [2].

- ***CONSOLIDATION (Hiqh dose cytarabine –based- intensification):***

العلاج الكيماوي متعدد العوامل multiagents chemotherapy مابعد علاج remission induction تم تعديله بنظام VAPA (vincristine, doxorubicin, prednisolone, cytarabine) الذي تم انجازه في معهد dana –farber-cancer الذي قام باعطاء متسلسل من الادوية non- cross- resistant drugs لمدة ١٤ شهراً . ونتج عن تجارب VAPA EFS بمعدل (٣٨%) ، وساعد على تاسيس TOXICITY PROFIL أثناء التكثيف [2].

قامت بعد هذه الدراسة عدد من الدراسات بتقييم دورالتصليد في العلاج مابعد الهجوع ، وقامت بتقييم دور التكثيف في العلاج مابعد الهجوع . واوضحت دراسة CCG-213P ان الجرعات العالية من

CYTARABINE يبدو انها تحسن من فترة البقيا حرا من المرض DFS (DISEASE FREE SURVIVAL) [51].

- **العلاج المباشر للجملة العصبية المركزية: CNS-directed therapy:**

يعطى العلاج الكيماوي داخل القناة intrathecal لكل الاطفال المشخص لديهم AML بغض النظر عن حالة CSF عند التشخيص.

يضم العلاج اعطاء حقن احادي من cytarabine او حقن ثلاثي بمشاركة من cytarabine، ميتوتركسات mtx ، والهيدروكورتيزون hydrocortisone .

لايعطى العلاج التشعيعي RT الوقائي بسبب خطورة التأثيرات اللاحقة .

المريض الذي لديه اصابة CNS مثبتة عند التشخيص، يحتاج الى علاج مباشر مكثف للCNS .

ايجابية CSF عند التشخيص بحد ذاتها ليست عامل انذار سيء عندما يعالج علاجاً كيماوياً مباشراً ومكثفاً ل CNS .

الاعطاء المتكرر للعلاج الكيماوي داخل القناة مع جرعات عالية من CYTARABINE والتمي يمكنها ان تعبر الحاجز الدموي الدماغي يعادلRT . ويمكن تجنب التعرض للاشعاع المؤين [2].

- **انظمة اعادة الهداة : Reinduction regimens :**

تتضمن انظمة اعادة الحث لدى الاطفال الذين لديهم AML ناكس بشكل عام عوامل متعددة بالمشاركة مع احد الانظمة التالية :

- High- dose cytarabine with
- Fludarabine
- Clofarabine
- Anthracyclines
- L-asparaginase
- Etoposide

جرعة anthracycline تعتمد على الوظيفة القلبية ،وعلى جرعة الانتراسكلين التراكمية .

Gemtuzumab ozogamicin تمت الموافقة عليه كعلاج بعامل وحيد single- agent therapy لدى المرضى الذين لديهم مرض معند مع التعبير عن CD33 [٢]

❖ ***2-10 HSCT كعلاج CONSOLIDATION THERAPY للابيضاض النقوي الحاد :***

احدى الوسائل المستخدمة في مرحلة POST REMISSION – INTENSIFICATION هو استخدام زرع الخلايا الجذعية الخيفي Autologous and Allogeneic HSCT ، حيث انه يشكل وسيلة ملائمة في تحسن البقيا لدى الاطفال المصابين بالبيضاض النقوي الحاد AML .

وتكمن فوائد HSCT في قدرته على ايصال زرع خال من الابيضاض ، وايضاً انتاج تاثير قوي للتطعيم ضد الابيضاض (Strong-graft-versus-leukemia effect) .

باي حال فان فوائده المحتملة تحتاج ان تقارن مع خطورة الوفيات التالية للزرع ، ومع المراضة المرتبطة بالزرع لفترة طويلة .

الدراسات متنوعة في توصياتها حول اجراء HSCT في اول الهجوع التام (CR1) وثاني CR (CR2) ، او لدى المرضى المعندين على العلاج الكيميائي [٥٤]. جدول ٢٠,٧

اجراء HSCT من متبرع غير قريب يحقق EFS لمدة ٥ سنوات بنسبة ٤٥% لدى المرضى الذين لديهم AML مزروع له وفي الهجوع الثاني، وبنسبة ٢٠% لدى المرضى الذين لديهم نكس واضح ، ١٢% لدى الذين فشل لديهم علاج Induction البدئي. اجراء زرع نقي من متبرع شقيق مطابق يرتبط مع افضل النتائج .

استخدام متبرع غير مطابق في عامل واحد ، او متبرع غير قريب مطابق . يبقى مشابها في معدلات البقيا لكن مع عدد اكبر من GVHD ونسبة اعلى من الموتى غير الناكسين [٢]

2-11 معايير الخطورة:

تقوم معايير الخطورة لدى مرضى AML على موجودات الوراثة الخلوية والجزيئية . مظاهر الخطورة المنخفضة Low risk features متفق عليها ، الا ان الاجماع بخصوص المعايير الجزيئية عالية الخطورة أكثر تعقيداً .

❖ ***العوامل الانذارية :***

يمكن ان نتعلم الكثير من خلال مراقبة النجاحات التي تم تحقيقها في علاج مرضى الابيضاض اللمفاوي الحاد . وقد قاد Improved- risk assessment of chemotherapy الى تكثيف العلاج لدى مرضى AML عالي الخطورة ، والتهدئة لدى المرضى الذين لديهم مظاهر منخفضة من الخطورة .

وبالرغم من تحسن فهمنا للآلية الامراضية وعوامل الخطورة لدى المرضى الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد AML ، الا ان الانذار لم يكن دراماتيكياً خلال العقدين الماضيين . واحد الاسباب في ذلك يعود الى ان العلاجات في AML تمزج الجرعات المتحملة بالحد الاقصى في السياق مع اجراءات الرعاية المكثفة ، حتى بالنسبة للاطفال الذين يملكون عوامل وراثية خلوية جيدة فان معدل البقيا OS تبقى تقريباً ٦٠%، وهذا المعدل لايبرر جرعة خفض التصعيدDe- escalation [٢] .

لذا رغم تحديد عوامل الانذار لدى مرضى الاطفال AML،تستمر التجارب السريرية في تقييم الطرق الاكثر قابيلية لتنفيذهم .

تتضمن العوامل الانذارية : عوامل المضيف ، والاستجابة للمعالجة ، وخصائص المرض.

- ***عوامل المضيف : host factors*** :

تشمل عوامل المضيف : العمر ، والعرق ، والتشوهات في بنية الجسم . وتم ايضاح ان لها علاقة بنتائج AML لدى الاطفال .

كانت البيانات حول ارتباط العمر بنتيجة مرض AML لدى الاطفال متضاربة ، فمثلاً في دراسات CCG الباكرة ،فان الرضع المصابين بالابيضاض باورمات الوحيدات Monoblastic Leukemia كانت لديهم النتائج الادنى، والاطفال الاصغر من عمر السنة كان لديهم معدلات البقيا الاسوا [٥٥].

على اي حال فان دراسة MRC 10 اوضحت انه على الرغم من ان الرضع قد عولجوا بنفس نظام علاج الاطفال وحتى البالغ ، الا ان النتائج لديهم كانت افضل بشكل خفيف او كانت نتائج متساوية [٢،٥٦].

من حيث العرق : فقد وجد انه يؤثر على النتيجة السريرية . ففي دراسة حديثة لحوالي (١٦٠٠) طفل عولجوا وفق تجارب سريرية CCG289 و CCG 2961 ، اوضحت ان الامريكيين الافارقة والمرضى من اصل اسباني كان لديهم معدل البقيا ٣٥% ، في حين ان معدل البقيا لدى المرضى البيض كانت ٤٨% [٥٧].

المرضى الذين لديهم متلازمات بنيوية يمكن ان يصنفوا كخطورة عالية او منخفضة ، وذلك حسب الشذوذات الموجودة . فالمرضى المصابين ب DS و AML وخاصة الذين اعمارهم < ٢سنة ، كانت لديهم النتائج الاعلى مع معدل هجوع ٩٠% ومعدل بقيا OS(٨٠%) [٢،٢١،٥٩،٥٨] . ويبدو ان هذه النتائج ارتبطت بالحساسية العالية للعلاج بالعوامل السامة للخلايا وخاصة Cytarabine [٢،٦٠،٦١]. بالمقابل فان المرضى الذين لديهم متلازمة الهشاشية الصبغية (تكسر الصبغيات) مثل فقر دم فانكوني ، او عيوب جينية وراثية مثل متلازمة kostmann والذين يطورون تنشؤ ورمي نقوي ، قد يظهرون سمية اكثر (مرتبطة بالعلاج) ، وقد يأتون مع مظاهر وراثية خلوية مثل احادي الصبغي ٧ (monosomy7) .

الحالة التغذوية في بداية المرض ايضا لها تاثير على البقيا ، فالمرضى الذين كانوا ذوي وزن منخفض (<١٠%) او زيادة وزن (>٩٥%) عند التشخيص ، كانت لديهم معدلات OS بالحد الادنى مقارنة باولئك الذين كان لديهم مشعر الجسم متوسط .

واوضحت CCG2961 ان هؤلاء المرضى عرضة بشكل اعلى للموت المرتبط بالعلاج وبالتالي بنتائج بقيا أسوأ [٦٢].

اخيراً ، فان التبدلات الجينية لدى المضيف والتي تتورط في السبيل الاستقلابي للدواء ، تؤثر عالى النتائج النهائية . فمثلاً مرضى AML الذين لديهم تبدلات وراثية في الانزيم المزيل للسموم detoxification enzyme glutathione-transferase ، والتي ينتج عنها null phenotype ، اظهرت نقص في معدل البقيا التالي لزيادة السمية [٢].

وبالرغم من هذه الموجودات الاولية في تورط المتغيرات لدى المضيف ، الا ان هذه العوامل لم تستخدم في معايير مجموعة الخطورة .

- **<u>الاستجابة للمعالجة :</u>**

كانت الاستجابة للمعالجة دائماً مشعر تنبؤي هام في النتائج لدى مرضى AML ، و ALL.

يتم تقييم الاستجابة للعلاج باستخدام MORPHOLOGY اما اثناء او بعد علاج INDUCTION .

باي حال فان التقييم ب MRD قد يساعد لتحديد المرضى الذين لديهم خطورة اعلى للنكس

فشل علاج INDUCTION الاولي : Primary induction –failure :

في حين ان الاستجابة الشكلية morphology لعلاج induction تشكل جزءاً اساسياً في تقييم الخطورة لدى مرضى ALL، الا ان اهمية الاستجابة الشكلية لدى مرضى AML من الاطفال قد بدأ تأسيسها مؤخراً [٦٣،٦٤].

في التجارب السريرية MRC-10 ، بين المحققون ان المرضى الذين لديهم هجوع جزئي في نهاية INDUCTION (والذي يعرف بوجود اورمات في نقي العظم بين ٥ و ١٥%) ، كان لديهم معدل البقيا مشابه لاولئك الذين كان معدل الهجوع لديهم تام (اورمات <٥%) . اما المرضى الذين كان لديهم > ١٥% من الاورمات في INDUCTION كان لديهم معدل البقيا OS سيء، وبناء على ذلك استخدمت MRC العتبة (الحد) (١٥%) لتعريف المرض المعند (المقاوم) [٢،٤٧،٥٧،٥٨،٥٩،٦٠،٦١،٦٢،٦٣،٦٤] .

حاليا فان COG (The children's oncology Group) تستخدم هذا الحد لتحديد فشل induction الاولي في تجاربهم السريرية ، وهؤلاء المرضى لديهم انذار رديء ، ويحتاجون الى مقاربة بديلة والتي تتضمن HSCT من معطي غير قريب [٢]

MRD (Minimal residual disease)الداء المتبقي الاصغري 12-2 :

على الرغم من الاستجابة الشكلية لعلاج induction قد تم اعتمادها كعامل انذاري مهم ، الا ان (٣٠-٥٠)% من المرضى الذين لديهم هجوع تام CR بناء على النمط الشكلي لل BM مازالوا ينكسون .

تحديد Residual disease لدى المرضى الذين لديهم هجوع شكلي morphology قد يسمح بتحديد المرضى الذين لديهم زيادة خطر النكس . وقد تطورت عدة مقاربات لتحديد MRD [٢].

ومن المهم ان ينجز تقييم MRD وفق معايير اساسية ، وان يسري على جميع المرضى المصابين ب AML ، وان يسمح بوقت كاف من تحديد MRD الى حدوث النكس الشكلي ، وان يكون مجدي ومربح ، وان يكون قابل للانتاج مجددا [٢،٦٥،٦٦].

Molecular-MRD 13-2:

تستخدم تقنيات PCR بشكل عام لتحديد الجينات المنصهرة Fused genesالفريدة والتي تبقى موجودة اثناء العلاج او النكس [١،٢].

النمط الوحيد من AML الذي من اجله يستخدم PCR بشكل حاسم لتحديد MRD هو APL(AML-M3) . يرتبط وجود t (15;17) (pml-rara) مع خطورة اعلى للنكس واظهر التدخل العلاجي انه يحسن النتائج [٢].

وهنالك مثال اخر لاستخدام MRD المعتمد على PCR هو في تحديد الازفاء t (8;21) ، وقد كان تحديد PCR لهذا الازفاء مثار جدل في البداية ، لان t(8;21) قد يبقى قابل للتحديد لفترة محددة من الوقت اثناء الهجوع مابعد العلاج [67,68,69].

على اي حال فان real –time-quantitative PCR (RQ-PCR) ، أظهر ان t(8;21) الغير طبيعي و inv (16) تختفي اثناء العلاج ، وبذلك فان مستوى التعبير ومعدل التراجع يتنبأ بالنتيجة السريرية ومعدل النكس [1].وبما ان جينات الانصهار النوعية للابيضاض توجد فقط لدى ٣٠% من المرضى ، لذا فان التعبير عن الجينات اللانوعية مثل wilms tumor1(WT1) قد يفيد في مراقبة MRD .[٢]

14-2 Immunophenotypic MRD :

تستخدم دراسات التنميط المناعي MFC (Multiparameter flow) لتحديد التنميطات المناعية الشاذة ، وهي وسيلة فعالة لتحديد MRD [1,71]. وهي وسيلة تسمح بتحليل متزامن لحجم الخلية ، وودقة التفاصيل (التحبب) , وشدة التعبير عنى الجزيئات السطحية وداخل الخلية .

استخدام هذه الوسائل يمكن ان يحدد خلية واحد ذات تنميط مناعي ابيضاضي من بين ١٠٠٠-١٠٠٠٠ خلية طبيعية [72].

فائدة هذه الطريقة انه يمكن تطبيقها على معظم المرضى المصابين ب AML ، فعلى الاقل ٨٠% من المرضى لديهم تنميط ظاهري شاذ والذي يمكن تحديده عبر MFC [1]. ففي دراسة مستقبلية ل (٢٥٢) مريض سجلوا لدى CCG . اظهرت ان استخدام MFC كدليل لوجود الابيضاض مابعد البدء بالعلاج ، كان اكثر العوامل الانذارية المستقلة والقوية المرتبطة مع الانذار السيء [73] .واصبحت التجارب السريرية العالمية تدخل اختبار MRD باستخدام MFC لتحسيين المعايير والتي يتم وفقها التدخل لدى مريض لديه AML[1,2] .

- ***2-15 المرض الخارج النقوي : (Extramedullary myeloid disease (EMD:***

الساركوما النقوية myeloid sarcoma او الكلوروما chloroma او granulocytic sarcoma ، تتالف من ارومات نقوية او خلايا نقوية غير ناضجة في مواقع خارج النقي . هذه التوضعات للارومات النقوية خارج النقي يمكن ان تسبب تخرب او انضغاط في النسيج الطبيعي.

الساركوما النقوية او /الكلوروما / المناطق التي يمكن ان تصاب هي : CNS، الجلد ، الحجاج ، والعظم [2].

تصل نسبة حدوث الكلوروما الى ١٠% ، وهي اشيع عند وجود احد عوامل الخطورة التالية :

- عمر أصغر
- ارتفاع في تعداد الكريات البيض عند اتشخيص
- T(8;21)
- النمط الظاهري : [1] FAB M4 AND M5

٢٠% من مرضى AML لديهم ضخامة لثوية او اعتلال عقد غدية . ويجب معالجة هذه الاورام حتى في غياب موجودات لل AMLفي النقي BM . قد تحدث هذه الاورام عند التشخيص او عند النكس ، وغالبا مايشاهد ارتباطها مع الازفاء t(8;21) او inv (16) او 11q23MLL [2,74].

ويمكن ان نجد EMD في منطقة الحجاج او ماحول الحجاج ، او يمكن ان يتظاهر على شكل كتلة حول النخاع الشوكي مما ينتج عنه متلازمة ذيل الفرس او شلل سفلي [75]. اصابة الجملة العصبية المركزية CNS يشاهد بشكل اكثر شيوعاً مع النمط AML-M4 و AML-M5 ،وغالبا ماتتظاهر مع وجود تعداد كريات بيض مرتفع ، ويمكن ان تتواجد مع وجود ارومات ابيضاضية في السائل الشوكي او على شكل كلوروما CHLOROMA ، وترتبط مع موجودات عصبية [2]

وقد يظهر EMD بشكل نادر في الخصى خاصة عند مقارنة حدوثها لدى الاطفال المصابين ب ALL [2] .

انذار الاطفال الذين لديهم AML وكلوروما يعتمد على موقع التظاهر السريري . فالمرضى الذين لديهم كلوروما في CNS او الحجاج لديهم معدلات بقيا أعلى بالمقارنة مع الكلوروما الجلدية .

يميل النكس خارج النقي ان يحدث بشكل اشيع لدى الاطفال الذين لديهم مرض خارج نقوي عند التشخيص مقارنة بالاطفال الذين ليس لديهم مرض خارج النقي .

تحدد الخزعة من الكلوروما التشخيص ، ويقدم التشعيع الموضع اضافة للعلاج الكيميائي الجهازي ويمكن ان يؤمن تخفيف الاعراض.[1,2]

في دراسة رجعية من قبل CCG، تم تقسيم مرضى AML الى (٣) مجموعات :

١- المجموعة الاولى : EMD يصيب الجلد (مع او بدون اصابات في اماكن اخرى). ويميل هؤلاء المرضى ان يكونوا اصغر سناً مع حدوث اعلى لاصابة الجملة العصبية المركزية CNS .ومع تعداد كريات بيض مرتفع ، وحدوث اعلى للنمط AML-M4/M5 . ويصل معدل البقيا خالي من المرض EFS الى ٢٦%

٢- المجموعة الثانية : EMD لايصيب الجلد ، ويعتبر هذا النمط ذو عامل انذاري جيد ومستقل مع معدل بقيا خالي من المرض (EFS) لمدة ٥ سنوات يصل الى ٤٦%

- المجموعة الثالثة : المرضى الذين ليس لديهم اصابات خارج نقوية (EMD) ، ويصل معدل EFS لمدة ٥ سنوات الى ٢٩%[2] .

- **<u>2-16 الابيضاض النقوي الناكس :</u>**

حوالي ٣٠% من الاطفال المصابين ب AML يمرون باختبار (تجربة) النكس . ومن ضمن هؤلاء المرضى يمكن انقاذ ثلث الحالات فقط . [١]

نصف مجموع حالات النكس تحدث خلال السنة الاولى من التشخيص في نقي العظم .

عوامل الانذار الجيدة تشمل :

- وجود وراثة خلوية جيدة مثل : T(8;21) / t (15;17) / inv (16) : هي عوامل انذار جيدة . في حين ان الطفرات في WT1 و FLT-3/ITD تشكل عوامل انذار سيئة .
- عدم وجود زرع نقي خيفي سابق Allogeneic HSCT .
- زمن اطول حتى حدوث النكس (النكس بعد ١٢ شهر من تحقيق CR هو عامل انذار جيد) .

يحدث النكس في CNS لدى (٣-٦)% من المرضى ، والانذار لدى هؤلاء المرضى يشابه الانذار لدى المرضى الذين لديهم نكس نقوي عندما يعالج جهازيا [1,2].

*عوامل الخطورة لحدوث نكس في CNS معزول هي :[1,2]

١. العمر < ٢ سنة عند التشخيص
٢. اصابة بالنمط M5 من الابيضاض

٣. MLL. REARRANGEMENT
٤. اصابة من الدرجة CNS2 او CNS3 عند التشخيص البدئي.

عودة الحدوث (النكس) Recurrence: يعرف بوجود > ٥% من الارومات في نقي العظم لدى المريض الذي كان قد حقق سابقاً هجوعاً بعد ان تلقى علاج AML .

حجر الاساس (حجر الزاوية) في علاج الانقاذ SALVAGE therapy بالنسبة لل AML الناكس هو علاج كيمائي متعدد العوامل Multi-agent chemotherapy ، مع زرع خلايا جذعية خيفي Allogeneic HSCT .

تحقيق الهجوع التام للمرة الثانية هو اهم عامل انذاري لدى المرضى الناكسيين . وكان لدى الاشخاص الذين لديهم MRD غير ملحوظ (قليل) قبل اجراء HSCT الخيفي افضل النتائج[2]

- ***2-17 خصائص المرض الانذارية :***

ان التطور الحاصل في مخططات التصنيف يعكس تطور فهمنا للامراضية الجزيئية للابيضاض النقوي الحاد AML . ففي مخطط WHO الحالي ادخل معلومات جينية الى التنميط المناعي التقليدي ، والكيمياء الخلوية ، والتنميط الشكلي ، والطرق السريرية ، في تحديد تصنيف المرضى . وبالرغم من ان كل هذه الخصائص وميزات المرض يمكن ان تؤثر ، الا ان التبدلات الجينية الخلوية المتكررة والشذوذات الجزيئية تملك حالياً التأثير الأكبر على تقييم الخطورة (FIG20.5 AND 20.6) .

- ✓ ***الوراثة الخلوية CYTOGENETICS :***

بالنسبة لمرضى الابيضاض النقوي الحاد AML فان التحليل الصبغي (النووي) عبر الوراثة الخلوية المشخصة هو احد اهم المشعرات التنبؤية على النتيجة .

يتم تحديد الشذوذات الوراثية الخلوية لدى (٧٠-٨٠)% من المرضى الاطفال المصابين ب AML . كما تم تحديد شذوذات النسيلة CLONEL لدى تقريباً ٨٠% من المرضى [2]. وقد تم تقييم الاهمية الانذارية لشذوذات الوراثة الخلوية بشكل رجعي في عدة تجارب ولدى المجموعتين ذات الانذار الجيد والانذار السيء.

المرضى الذين لايملكون ميزات (خصائص) صبغية (نووية) يشكلون حوالي ٥٠% من مجموع مرضى AML ويشكلون المجموعة ذات الخطورة المتوسطة او المعيارية [2,56-76,

االشذوذات الوراثية جيدة الانذار FAVORABLE CYTOGENETICS :

ظهرت عدة شذوذات صبغية كعوامل تنبؤ جيدة او ذات انذار جيد لدى الاطفال المصابين ب AML [1,2] .

ويعد INV (16) والازفاء t (8;21) اثنان من اشيع الازفاءات ، ويتميزان بحدوث انقطاع في الجين CBFB وجين AML1 بشكل تراتبي [2,] .

الشذوذ t (8;21) يقود الى بروتين اندماجي شاذ هو AML/ETO . هذا الاندماج ينتج عنه اشارة (بروتين – بروتين) غير طبيعي ، وتبدل في تنظيم الاستنساخ الداخل في تكوين الدم الطبيعي . اما الشذوذ INV(16) فينتج عنه انتاج بروتين دمج شاذ CBFB/MYH11 والذي ينتج عنه انقطاع في تنظيم الاستنساخ .

كلا هذين بروتيني الاندماج يؤثران على سبيل CBF واللذي وظيفته الطبيعية كمعقد مفعل للاستنساخ [2,77].

وقد اظهرت التجارب السريرية نتائج افضل لدى المرضى الذين لديهم هذه الازفاءات [2,50,] . كما ان الخبراء في المجموعة B للسرطان والابيضاض CALGB قد وضعوا تقريراً مفاده ان هؤلاء المرضى الذين لديهم هذه الازفاءات لديهم حساسية للجرعات العالية من CYTARABINE [2].

وفي تجارب MRC10 قدر معدل البقيا OS لمدة ٥ سنوات لدى الحاملين للازفاء t(8;21) بمعدل ٦٩% ، ولدى الحاملين للازفاء inv (16) بمعدل ٦١% [1].وقادت البيانات الى التوصية بالامتناع عن اجراء HSCT لدى المرضى الذين لديهم CBFB-AML في الهجوع الاول CR1.

الشذوذات الوراثية ذات الخطورة المتوسطة انذارياً Prognostically .intermediate cytogenetics :

هنالك عدد محدد من الشذوذات الصبغية التي اثبتت ان لها تاثير ايجابي او سلبي على النتيجة لدى مرضى AML من الاطفال . ويعتبر المرضى الذين لايملكون شذوذات جينية هامة انذارياً ان لديهم انذار متوسط . وتتضمن هذه المجموعة المرضى الذين لديهم شذوذات بنيوية تصيب منطقة الصبغي ١١(11q23) وتصيب جين MLL ، وهي واحدة من اشيع الازفاءات التي تحدث في الابيضاض النقوي الحاد AML ، وتحدث بشكل اكثر شيوعاً لدى الاطفال الاصغر من (٢سنة) [1,2,] .

في معظم الحالات يكون هنالك ازفاء متبادل بين الجزء ذو النهاية الامينية Amino-terminal-portion لجين MLL وواحد من (٥٠) جين شريك . هذه البروتينات الناجمة عن الاندماجات الشاذة تقطع تنظيم الاستنساخ الطبيعي المكون للدم ، وينتج عنها تكون الابيضاض LEUKEMOGENESIS .

في الدراست الاولية فان وجود الشذوذ 11q23 كان يرتبط مع نتائج بالحد الادنى . الا ان الدراسات الاكثر حداثة لاتدعم هذا الكلام [1,2] .

المرضى الذين لديهم الازفاء(9;11) t كانت لديهم نتائج انذار جيدة في البدء[78,79] . وفي دراسات ST.JUDE (NOPHO) وجدت ان t(9;11) يستجيب بشكل افضل للعلاج ولديه معدل بقيا OS بالحد الاعلى مقارنة بالازفاء 11q23 [1,2] . مؤخراً، اظهرت دراسات كبيرة اختلافاً في النتائج التي تتضمن مجموعة AMl.11q23/MLL Rearranged ، حيث وجدت ان لديهم معدل بقيا بالحد الاعلى بين الذين يملكون t(1;11) [80] .

الشذوذات الوراثية سيئة الانذار unfavorable cytogenetics :

وهي عبارة عن شذوذات في الصبغيات الفردية اكثر من انها ازفاءات صبغية ، وهي تحمل انذاراً سيئاً وبشكل خاص الشذوذات في الصبغي ٥ و ٧ ، والتي ارتبطت مع نتائج سيئة لدى مرضى AML [2,76, 81, 57, 58,59] .

أحاد الصبغي ٧ (monosomy 7) اما ان تحدث لوحدها او تتواجد مع نمط نووي معقد complex karyotype والذي يعرف بوجود > ٥ من الشذوذات الوراثية الخلوية .

مرضى AML الناجميين من اصابة سابقة ب MDS او مرضى AML الذين لديهم Monosomy 7 يميلون ان يكون لديهم مرض مقاوم للعلاج ويحملون انذاراً سيئاً [2,82,83] .

فمثلاً ، في دراسة CCG2891 والتي تضمن ٤١ مريضاً كان لديهم Monosomy 7 ، كان لدى هؤلاء المرضى معدلات هجوع بالحد الادنى (٥٣% مقابل ٧٨%) ، وكانت لديهم EFS لمدة ٦ سنوات بالحد الادنى (١٩% مقابل ٣٩%) مقارنة مع المرضى الذين لايحملون هذا الشذوذ الصبغي ، في حين كان معدل البقياOS لدى هؤلاء المرضى لايختلف كثيراً عن الآخرين (٤٧% مقابل ٤٦%) .

بيانات البقيا يمكن ان تعكس فائدة من HSCT [2] .

الانذار السيء لدى المرضى الحاملين ل Monosomy 7 لايتضمن المرضى الذين لديهم حذف 7q- [2] .

وبشكل مشابه لل monosomy 7 ، فان وجود monosomy 5 او الحذف 5q- عادة مايشير الى وجود وراثة خلوية معقدة ويرتبط بنتيجة انذار سيئة[2, 1] .

المجموعة الفرعية من مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML والتي لديها t(10;11) و t(6;11) لديهم نتائج انذار سيئة جداً [80] .

✓ ***التبدلات البنيوية والوظيفية في FLT-3 لدى مرضى AML :***

عملية تكون الدم هي عملية منتظمة جداً من خلال التحفيز المحرض بالسيتوكينات للسبل المحولة للاشارة المتعدد التي تتوسط في الوصول الى تكاثر وتمايز مناسبين لاعداد من السليفات النوعية .

يقود التحفيز المحرض ب FLT-3 Ligand (fms like tyrosine kinase) الى تفعيل السبل المؤثرة على الخطوات السفلية للمسرب المتعدد multiple downstream effector pathways ، مما ينتج عنه تمايز وتكاثر اعداد من الخلايا السليفة (المولدة) النوعية

التغيرات الجينية genomic alterations في جين FLT-3 تقود الى تفعيل المستقبل بشكل مستقل ، وسوء تنظيم السبل المحولة للاشارة FLT-3 ويساهم في التسبب الامراضي النقوي MYELOID PATHOGENESIS . ووقد تم ربطه الى الاستجابة للعلاج والنتائج السريرية. [1.2]

استكشاف الاليات التي تقود بها التغيرات في FLT-3 الى تكاثر غير منتظم ، سوف يزودنا بفهم افضل لمسبب المرضي الجزيئي للابيضاض النقوي الحاد AML ، وقد يزودنا بنظرة ثاقبة لتدخلات دوائية محتملة ، مثل مثبطات ال FLT-3 والتي هي قيد التطوير لفعاليتها لدى مرضى AML الذين يحملون طفرات FLT-3 [2].

الفصل الثالث : بنية ووظيفة FLT-3 (FMS –like tyrosine kinase) :

FLT-3 (FMS-LIKE tyrosine kinase-3) هو مستقبل للتيروزين كيناز (RTK) ، وهو مستقبل مقيد بغشاء مع المنطقة الداخلية للتيروزين كيناز .

يتالف FLT-3 من منطقة خارجية رابطة لل Ligand _ تشبه الايمينوغلوبولين ، ومنطقة عابرة للغشاء ، ومنطقة مجاورة للغشاء juxtamembrane-dimerization ، ومنطقة الكيناز داخل الخلية محفوظة بشكل جيد ، وتم قطعها بادخال (ادراج) الكيناز . [1,2]

ينتمي FLT-3 الى الصف الثالث class 3 من مستقبلات التيروزين كيناز RTK ، والتي تتضمن بنيوياً أعضاء متشابهة مثل C-FMS ومستقبلات PDGF ، C-KIT .

يتم التعبير عن FLT-3 بشكل رئيسي على الخلايا النقوية وسليفات اللمفاويات[2,1] ، مع تعبير متنوع على ذرية الوحيدات الاكثر نضجاً . كماُ تم وصف تعبير FLT-3 في الاعضاء المكونة للدم واللمفاوية مثل : الكبد ، والطحال، والتوتة ، والمشيمة [1,2].

في الحالة غير المحرضة ، يوجد مستقبل FLT-3 بشكل احادي غير مفسفر مع جزء كيناز غير مفعل . وتلو تفاعل المستقبل مع FLT-3 LIGAND ، يخضع المستقبل الى تبدل تنظيمي Conformational ، ينتج عنه تكشّف المستقبل ، وكشف منطقة البلمرة الثنائية dimerization ، مما يسمح ان يحدث receptor- receptor dimerization. عملية receptor- dimerization هي المقدمة لتفعيل انزيم التيروزين كيناز ، مما يقود الى فسفرة مواقع متعددة في المنطقة داخل الخلوية .

يجند المستقبل المفعل عدداً من البروتينات في السيتوبلاسما لتشكيل معقداّ من تفاعلات بروتين – بروتين في المنطقة داخل الخلوية .

وتشكل كل من GRB2-ASSOCIATED BINDER2 (GAB2) , GRB2, SHC PROTIENS , CBL , SHIP, CBLB بعضاً من العديد من البروتينات الناقلة التي تتفاعل مع مستقبل FLT-3 المفعل[1,2,] . وكل بروتين يرتبط الى المعقد يصبح مفعلاً بدوره ، مما ينتج عنه شلال من تفاعلات الفسفرة والتي تبلغ ذروتها (CULMINATES) في تفعيل عدد من الوسائط الثانوية والتي تتضمن السبل الناقلة للاشارة AKT / PI3-KINASE STAT /MAP-KINASE .

وحالما تتفعل هذه الوسائط المفعلة سوف ترافق الطور النووي من خلال HPS90 ، والذي من خلاله يتم نقل الرسالة الى النواة

في النواة ، تطلق هذه الوسائط المنسوخة الزناد لسلسلة من الاحداث والتي تبلغ ذروتها في تنظيم تمايز الخلية ، والموت الخلوي ، والتكاثر ، وبقيا الخلية (FIG1) .

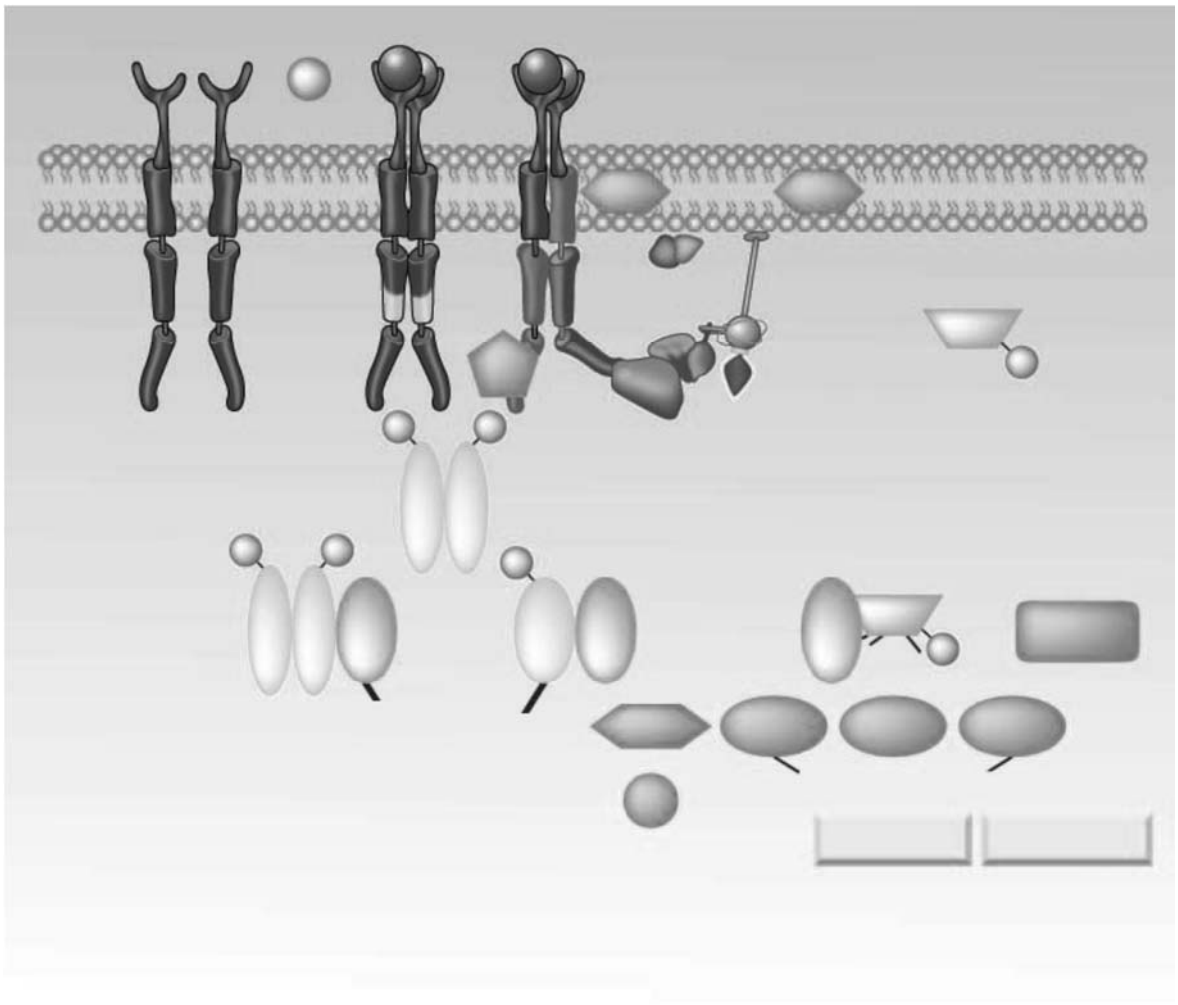


Fig. 1. FLT3 signal transduction pathway. FLT3 receptor monomer is composed of an extracellular domain (ECD), a trans-membrane domain (TMD), a juxtamembrane domain (JMD), and aTKD interrupted by a short kinase insert. Binding to FLT3 ligand (FL) leads to receptor dimerization and activation of the intracellular kinase.Tyrosine kinase

activation leads to phosphorylation of multiple sites in the intracellular kinase moiety.The activated receptor recruits a number of proteins in the cytoplasm including SHCandGRB2 to forma complex of protein–protein interactions, leading to activation of a number of intracellular mediators including AKT,MAPK, and STAT. Activated mediators interact with HSP90, which protects them from inactivation and chaperones the active mediators to the nuclear interphase, in which they are released into the nucleus and act to mediate vital cellular functions including cell growth, differentiation, apoptosis, DNA repair, and proliferation. Figure adapted with the permission of AstraZeneca Pharmaceuticals LP

الشكل (٦): سبيل نقل اشارة جين FLT-3

1-3 وظيفة FLT-3 في تكون الدم الطبيعي والخبيث :

يؤدي تفعيل FLT-3 الى تنظيم عدداً من العمليات الخلوية (مثل استقلاب الفوسفو لبيد ، النسخ، التكاثر ، والموت الخلوي المبرمج) ، ومن خلال هذه العمليات يلعب تفعيل FLT-3 دوراً بالغ الاهمية في التحكم بعملية تكون الدم الطبيعي والنمو الخلوي [2] .

وتحتاج الوظيف الامثل لFLT-3 الى جهد متناسق مع عوامل النمو الاخرى مثل: عامل الخلية الجذعية SCF(STEM-CELL-FACTOR) ، والانتر لوكين -٣ (INTERLEUKIN-3) IL-3 [2] .

ووجد ان تشارك FL مع عوامل النمو الاخرى يشجع على تكاثر الخلايا السليفة البدئية المكونة للدم ، اضافة الى ذلك Clummilted eraly myeloid و سليفة اللمفاوية lymphoid precusors [1.2] .

ويبدو ان تحريض FL يتواسط تمايز السليفات الباكرة ، وان تعرض السليفات المكونة للدم لل FL يقود الى التمايز الى الوحيدات بدون حدوث تكاثر هام [2] . وهذا يؤكد الدور الرئيسي لل FLT-3 في تكون الدم الطبيعي خاصة في اوقات الشدة Hematopoietic – stress .

كما تم تقييم التعبير عن FLT-3 في الخباثات الدموية ، حيث وجد ان اغلبية الخلايا البائية في الابيضاض اللمفاوي الحادALL وفي اورمات الابيضاض النقوي الحاد AML (<٩٠%) تعبر عن FLT-3 بمستويات مختلفة[2].

كما انه يتم التعبير عن FLT-3 بشكل اقل تواتراً وبمستويات تعبير متنوعة في امراض دموية اخرى حيث ا ن مستقبلات FLT-3 يتم ايضاً التعبير عنها في خباثات دموية اخرى ، والتي تتضمن MDS عسرة التنسج النقوي ، وفي الابيضاض النقوي المزمن CML ، وفي T-CELL-ALL ، وفي الابيضاض اللمفاوي المزمن CLL .

تقترح البيانات الحالية ، ان المستويات المرتفعة جدا من مستقبل النمط الشائع ل FLT-3 (WT) يشجع على التفعيل التاسيسي لمستقبل النمط الشائع في الخلايا الخبيثة [2]،ووجدت دراسات اخلرى ان زيادة التعبير عن FLT-3-WT في الاورمات الابيضاضية قد يرتبط مع انذار اسوأ [2] .

2-3 التبدلات الجينية لـ3-FLT في الابيضاض النقوي الحاد AML : Genomic Alteration of FLT-3 IN AML:

حددت الدراسات الباكرة التي قيمت التبدلات الجينية في جين FLT-3 ، طفرتان مميزتان في منطقة المجاورة للغشاء JUXTAMEMBRANE وفي منطقة الكيناز وذلك في جين FLT-3 .

طفرة التضاعف الثنائي الداخلي ITD (Internal tandem duplication) في المنطقة المجاورة للغشاء juxtamembrane والتي تشفر تسلسلاً في FLT-3 ، تم تحديدها بنسبة مرتفعة لدى مرضى AML [1,2] .
كما تم في دراسات اضافية تحديد حدوث طفرات missense (غياب التعبير) في منطقة حلقة التفعيل لجزء من التيروزين كيناز في مستقبل FLT-3 (طفرة حلقة تفعيل FLT-3) FLT-3/ALM [2] .

- ***طفرة التضاعف الثنائي الداخلي :FLT-3/ITD*** :

تحدث هذه الطفرات نتيجة التضاعف القطعي لجزء ضمن منطقة JUXTAMEMBRANE التي منطقة من(FLT-3 (مشفرة بالاكسون ١٤و١٥) . وهي احدى اكثر الطفرات شيوعاً في الخباثات الدموية ، حيث تحدث

في مرض CML بنسبة (٥-١٠%) ، وفي مرض MDS بنسبة (٥-١٠%) ، وفي مرض AML بنسبة (١٥-35%) [1,2,84] .

يعتمد انتشار وشيوع طفرة FLT-3/ITD على العمر بشكل مرتفع ، حيث انها نادرة لدى الرضع المصابين ب AML (INFANT –AML) ، ويزداد شيوعها وفق طريقة خطوة بخطوة حيث تصل الى نسبة ٥% الى ١٠% في عمر (٥-١٠) سنوات ، والى نسبة ٢٠% لدى البالغين ، و>٣٥% من مرضى AML الذين يبلغ عنرهم >٥٥سنة [2].

وهنالك تنوع هام في الحجم ومنطقة ITD المتورطة في الاصابة (تتراوح من ٣ الى >٤٠٠ Base,pairs) [2,85,86].

وقد اظهرت الدراسات عبر الزجاج FLT-3/ITD تشجع على البلمرة الثنائية LIGAND- independent receptor –dimerization

وعلى receptor-dimerization بشكل مستقل عن ligand ، مما يقود الى فسفرة ذاتية والى تفعيل بنيوي للمستقبل والذي يبلغ ذروته وينتهي بالتكاثر الخلوي بشكل مستقل عن السيتوكين-cytokine-independent [2, cellular-proliferation . الالية النوعية التي تقود بها طفرة FLT-3/ITD الى حدوث Dimerization ذاتي غير معروفة .

باي حال يعتقد ان منطقة JM (JUXTAMEMBRANE) تتصرف كمنطقة تنظيمية سلبية عبر منع تفعيل الحلقة من التنظيم الفعال المتكيف Adopting-active-conformation ، وبهذا تحافظ على المستقبل بحالة الكبح (التثبيط) الذاتي .

ويقترح تحليل البنية ثلاثية الابعاد لمستقبل FLT-3 ان التضاعف القطعي لمنطقة JM يعطل الاعاقة الفراغية Steric hindrance والتي تمنع المنطقة بشكل طبيعي من dimerizationالبلمرة الثنائية الذاتية مما يسمح لتفاعل مستقبل –مستقبل ان يحدث .

وقد تم وصف قوى مشابهة منفرة في منطقة JM في مستقبلات اخرى (مثل مستقبل KIT) . حيث ان تعطيل منطقة JM في مستقبلات اخرى يشجع ايضاً على التفعيل التاسيسي [1,2] .

على الارجح فان بلمرة ثنائية dimerization لمستقبلات FLT-3/ITD يسبب تغيرات بنيوية اضافية في المستقبل وبالتالي يؤدي الى تعزيز اكثر استرخاء MORE RELAXED CONFIRMATION ، مما

يكشف (يعرض) مواقع قابلة للفسفرة ضمن مناطق التيروزين كيناز (TKDs) ، ويشجع على الفسفرة الذاتية Autophosphorylation [2] .

ويعتقد ان FLT-3/ITD تعزز التكاثر عن طريق تفعيل السبل متعددة الاشارات MUTIPLE SIGNALING PATHWAYS ، والتي تتضمن سبل الكيناز : MAPK/RAS / AKT/ PI3 .

أظهر MIZUKI وزملائه ان التكاثر الخلوي المستقل عن الستوكينات للخلايا الناقلة لل FLT-3/ITD يتواسط كل من سبل RAS و STAT5 [2] . شرح كيفية تفعيل STAT5 في FLT-3/ITD يسلط الضوء على ان بعض تاثيرات FLT-3/ITD نوعية للمستقبل الطافر .

ان تفعيل FLT-3-WT المحرض ب LIGAND لايقود الى تفعيل STAT5 ولا الى ربط STAT5 DNA [2] .

وقد حددت الدراسات اللاحقة الروامز CODONS (T_{589} , T_{591}) ضمن منطقة JM من مستقبل FLT-3 الطافر والتي قد تفسر بعضاً من تفعيل STAT5 في الخلايا التي تحوي FLT-3/ITD [87] .

واظهرت دراسات اخرى انه بالاضافة الى سبل RAS و STAT5 فان مستقبل FLT-3/ITD يفسفر على التوالي ويفعل AKT ، وان النمو المستقل عن LIGAND يحتاج هذا التفعيل الشاذ لل AKT من قبل FLT-3/ITD ، وان مثل هذا النمو المستقل عن LIGAND يمكن عكسه اذا تم حصار (كبح) تفعيل AKT [88] .

- ***طفرة FLT-3 activation .loop. mutation :***

الطفرات النقطية الخاطئة missense points mutations ضمن FLT-3/ALM ، هي النمط الثاني من طفرات FLT-3 [2]. ويشار الى هذه الطفرات ايضاً بطفرات منطقة التيروزين كيناز من FLT-3 (FLT-3/TKD) .

وجدت FLT-3/ALM في الخلايا الخبيثة لدى مرضى CML (1%) ولدى مرضى ALL (1-3%) ، ولدى مرضى MDS (2-5%) ، ولدى مرضى AML (5-10%) [2,89] .

وبما انه من النادر ان يحمل المرضى كلا النمطين من الطفرات FLT-3/ITD و FLT-3/ALM [90] فان نسبة ملرتفعة من مرضى AML (25-45%) سوف يملكون احد من طفرات FLT-3 مما يجعل طفرات FLT-3 واحدة من اشيع الشذوذات الجينية في الابيضاض النقوي الحاد AML [2] .

وبعكس الزيادة المعتمدة على العمر في انتشار FLT-3/ITD فان شيوع FLT-3/ALM يبدو انه ثابت في كل معدلات العمر [2] .

تحدث اغلبية طفرات FLT-3/ALM في ال CODONS– ٨٣٥ ، حيث يحدث تبديل لحمض ASPARTIC ACID الى حمض /TYROSINE/D835 .

على اية حال فقدتم وصف طفرات نقطية اخرى وطفرات حذف وطفرات اقحام ضمن CODON 835 وفي ال CODONS المحيطة به أيضاً [2,] .

وبالرغم من ان طفرة FLT-3/ALM تعزز من الفسفرة الذاتية في المستقبل وتفعيل المستقبل التأسيسي وحدوث التكاثر المستقل عن LIGAND بما يشابه لطفرة FLT-3/ITD ، الا ان هنالك اختلافات بيولوجية هامة بين النمطين من الطفرات [87,91,92,93] .

يبدو ان طفرات FLT-3/ITD ، FLT-3/ALM تعزز من تفعيل Different downstream-effectors [91] وتعزز من الاستجابات البيولوجية المختلفة . .

وقد اظهرت الدراسات على الحيوانات ان الفئران الحاملة لطفرة FLT-3/ITD تطور اضطراباً تكاثرياً خلوياً وحيد النسيلة بالدرجة الاولى ، في حين ان الفئران الحاملة لطفرة FLT-3/ALM من المحتمل ان تطور اضطرابات لمفاوية وحيدة النسيلة[92] .

3-3 الاهمية السريرية لطفرات FLT-3 :

تحديد طفرات FLT-3 في الابيضاض النقوي الحاد AML قد فسح المجال لمقاربات جديدة في تدبير هذا المرض ، سواء من حيث استخدامها كعوامل انذارية ، او استخدامها كهدف في علاجات مباشرة ، فقد زودت طفرات FLT-3 الاطباء بخيارات علاجية جديدة لمجموعة كبيرة من مرضى AML.

وسوف ندرس الاهمية الانذارية لطفرات FLT–3 ودورها في العلاج المعتمد على الخطورة بما في ذلك زرع الخلايا المكونة للدم (HCT) لمرضى AML الذين لديهم طفرات FLT-3 . وابعد من ذلك فاننا سوف نظهر البيانات المتوفرة حول فعالية مثبطات جزيئية صغيرة ضد طفرات FLT-3 لدى مرضى AML .

3-4 الاهمية الانذارية لطفرة FLT-3/ITD :

وصف KIYOI وزملائه طفرة FLT-3/ITD في مرض AML ، ووجدوا ان تقريباً ٢٥% من مرضى AML يحملون هذه الطفرة [2] ، كما وجدوا في دراستهم ان تعداد الكريات البيض عند التشخيص لدى مرضى AML مع طفرة FLT-3/ITD كان أعلى ، وارتبطت طفرة FLT-3/ITD مع وراثة خلوية طبيعية ، رغم انه لم يوجد اختلاف مهم في معدل الاستجابة الكاملة CR بين المرضى مع طفرة FLT-3/ITD وبين المرضى الذين ليس لديهم هذه الطفرة. [1]

هؤلاء المرضى مع طفرة ITDs كان لديهم معدل نكس اعلى ، ومعدل بقيا كلي أسوأ (OS) ، خاصة لدى المرضى البالغين الصغار بالسن (<٦٠سنة) ، لذا كان ITD المشعر التنبؤي الاقوى للنتيجة [2] .

وقد اكدت دراسات كبيرة لاحقة ان وجود طفرة FLT-3/ITD هو عامل انذار مستقل للنكس والانذار السيء لدى مرضى AML (22,23,25) . فقد قام KOTTARIDIS وزملائه بدراسة شيوع والاهمية الانذارية لطفرة FLT-3/ITD في دراسة COHORT لاكثر من ٨٠ مريض بالغ [84] . هذه الدراسات وجدت ان شيوع وانتشار FLT-3/ITD لدى ٢٧% من المرضى واكدت دراستهم ان FLT-3/ITDs ارتبطت مع فرط كريات بيض مع وراثة خلوية طبيعية ، وكان لدى مرضى AML مع هذه الطفرة معدلات هجوع اخفض RR ومعدلات نكس اعلى مع معدلات بقيا (OS) أسوأ.

بالتحليل متعدد الابعاد لعوامل انذارية اخرى ، وجد ان FLT-3/ITDs كان عامل الانذار الاكثر اهمية مع احترام RR وفترة البقيا بدون مرض DFS [٨٤] .

دراسات اخرى اكدت ايضاً على الاهمية الانذارية لطفرة FLT-3/ITDs لدى مرضى البالغين الأطفال في تجارب AML [٢] ، فقد وجدت هذه الدراسات ان معدل البقيا لدى المرضى الذين يحملون FLT-3/ITD كانت (٢٠-٣٠ %) بالمقارنة مع معدل بقيا (50%) لدى المرضى الذين لايحملون هذه الطفرة ،وايضاً سجلوا ملاحظة بان Allelic variation (معدل الطافر/النمط الشائع wild type) الملاحظ لدى مرضى AML/ITD يبدو انه يؤثر عالى النتيجة [٢] .

تقييم عتبات متنوعة لمعدل الاليل FLT-3/ITD.allelic ratio (ITD-AR) أسس لعتبة للمعدل الاليلي allelic ratio واظهرت ان ليس فقط وجود FLT-3/ITD وانما allelic variation ايضا يحدد النتيجة السريرية [٢] ، وان هنالك اختلافات في النتائج السريرية بالنسبة للمرضى الذين لديهم معدلات اليل مختلفة different allelic ratios [٢،٩٤] .

الاهمية السريرية الانذارية لflt-3/alm :

بعد اكتشاف FLT-3/ITDبفترة قصيرة تم تسجيل وجود طفرة FLT-3/ALM لدى ٧% من مرضى AML ، ووجود هذه الطفرة كان يرتبط مع انذار سيء[٢] . تقييم اكثر دقة لعدد كبير من المرضى حدد شيوع والاهمية الانذارية لطفرة

FLT-3/ALM لدى مرضىAML البالغين والصغار .

ان شيوع وانتشار طفرة FLT-3/ALM يحدث بنسبة %(6-8) بغض النظر عن العمر . ويبدو ان وجود طفرة ALMوطفرة ITD يحدث بشكل حصري بصورة متبادلة [٢] .

واظهرت الدراسات ان وجود طفرة ALM لايرتبط مع فرط الكريات البيض وليس لها نتائج سلبية ،على العكس من طفرة ITD . .

كما اظهرت الدراسات البيولوجية سابقاً الاختلافات الوظيفية مابين ITD و ALM مثل الاختلافات السريرية بين كلا النمطين FLT-3 ليس مفاجئاً [٩١،٩٢] .

Underlying mechanism of allelic variation in FLT-3/ITD 5-3:

بما ان التغير في المعدل الاليلي ارتبط مع النتائج السريرية ، فان تحديد الالية الكامنة في التغير الاليلي قد تسمح لنا ان ندرك الالية الامراضية لل AML وترشدنا الى التداخلات العلاجية .

ان التقييم البدئي ل FLT-3/ITD المتماثل الزيغوت يكشف فقدان (خسارة) متخالف الزيغوت HETEROZYGOSITY (LOH) كمساهم في الالية الامراضية للمرض لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML ايجابي طفرة FLT-3/ITD [٢] .واثبتت الدراسة التي قام بها WHITMAN وزملائه صحة وجود LOH(Loss of Heterozy gosity) لدى مرضى AML ايجابي طفرة FLT-3/ITD ، اظهرت الدراسة ان وجود LOH ارتبط مع مرض عالي الخطورة [٢] .

وسمحت طرق انتاجية عالية وجديدة بتقييم شامل لل (LOH) لدى مرضى FLT-3/ITD. كما ان التقييم الجيني الكامل لعدد النسخ COPY NUMBER وتبدلات LOH بتقنية SNP/CGHarray اظهرت كميات كبيرة من LOH القطعية في الصبغي ١٣ لدى مجموعة المرضى الذين لديهم طفرة FLT-3/ITD (وهم المرضى الذين لديهم High ITD/AR) [٩٥] . وتمتد منطقة LOH من مناطق CENTROMERIC المركزية الى مناطق FLT-3 وتتضمن THE ENTIRE 13 q Telmeric to FLT-3 . هذه المنطقة

الكبيرة من 13q LOH كانت محدودة لدى عينات FLT-3/ITD ، ولم يتم ملاحظتها لدى مرضى FLT-3/ALM او الذين لديهم النمط الشائع FLT-3-WT . وهذه يقترح ارتباط سببي بين FLT-3/ITD وبين 13q LOH . مبيناً ان التغير الاليلي الملاحظ يعود الى خلل احادي قطعي مكتسب من احد الوالدين (a UPD) . واظهرت دراسات حالية ان وجود (a UPD) ليس فريدا لل FLT-3/ITD ، وان a UPD قد يكون حدث شائع في الالية الامراضية النقوية [٩٦،٩٧،٩٨،٩٩،١٠٠] .

a UPD هي آلية والتي من خلالها تتحقق الحالة متماثلة الزيغوت بعد الاستحواذ البدئي للطفرة متخالفة الزيغوت والتي بها الاليل الطافر يستخدم كقالب ، والاليل الشائع WILD –TYPE ALLELE يحول الى ذلك الاليل الطافر مما ينتج عنه الحالة متماثلة الزيغوت .

كما ان السليفات النقوية الباكرة $CD34^{+}/CD33^{-}$ تكبح FLT-3/ITD في الحالة متخالفة الزيغوت (NO a upd) ، وان الحالة متماثلة الزيغوت لوحظت فقط في الارومات النقوية $CD34^{+}/CD33^{+}$ الاكثر نضجاً ، وهذا يؤكد ان a UPD هي حدث متأخر في الالية الامراضية لل AML[٩٥] .

قد يصيبa UPD القطعي منطقة ضمن الاليل الناجم عن انكسارين متماثلين يليهما اصلاح ، وينتج عنه تحويل في المنطقة الخلالية ضمن الصبغي (القطعة الخلالية a UPD) ، او ينتج عن انكسار وحيد يقود الى نقل القطعة telomeric باكملها من الصبغي (القطعة النهائية a UPD) .

3-6 التدخلات العلاجية لدى مرضى يحملون طفرات FLT-3 : Therapeutic Interventions in patients with FLT-3 Mutation:

ان تحديد طفرات FLT-3 في الابيضاض النقوي الحاد AML قد وضع امكانية استخدامها كواسم جزيئي في العلاج المعتمد على الخطورة ، وكهدف للعلاج المباشر باستخدام مثبطات جزيئية جديدة .

قامت عدد من الدراسات بفحص استخدام Allogeneic HCT والمثبطات الجزيئية الجديدة لدى مرضى يحملون طفرات FLT-3 وسوف نراجع البيانات حول دور HCT اضافة الى استخدام مثبطات FLT-3 في تدبير المرضى عالي الخطورة الذين يحملون طفرات FLT-3.

الفصل الرابع : دور HCT لدى مرضى $AML\ FLT\text{-}3/ITD^{+}$:

مرضى AML مع طفرات FLT-3/ITDs ربما يكون لديهم معدلات هجوع تام منخفضة LOWER CR بالمقارنة مع المرضى الذين ليس لديهم هذه الطفرات . والمرضى الذين يحققون هجوعاً تاماً CR يبقون على خطورة اعلى وهامة لحدوث النكس والموت[٢،١٠١] .

وقد تم تقييم دور Postremission – intensification والهجوع مابعد العلاج التكثيفي مع اجراء زرع خلايا جذعية allogeneic HCT في العلاج لدى مرضى AML مع طفرة FLT-3/ITD .

وقامت دراسة حالية بتقييم ماذا كان المرضى الذين تلقوا Allogeneic HCT بعد اول هجوع تام CR ، ووجدت ان كان لديهم تحسن في النتائج السريرية بالمقارنة مع المرضى الذين تم علاجهم بالعلاج الكيميائي التقليدي [١٠٢] .

كما ان المرضى الذين لديهم طفرة FLT-3/ITD والذين تلقوا Allogeneic HCT من متبرع قريب مطابق كانت لديهم خطورة النكس اخفض (22% VS 49%) بالمقارنة مع المرضى الذين تلقوا العلاج الكيميائي التقليدي .

واكدت الدراسات الاكثر حداثة لدى المرضى البالغين والاطفال هذه الموجودات ، حيث اظهرت ان المرضى الذين لديهم طفرة FLT-3/ITD تحسن لديهم معدل البقيا OS حين تلقوا AllogeneicHCT عند اول هجوع تام CR [٢،٨٤] ، لذلك فان النتائج الاجمالية تقترح انه على الرغم من ان طفرة FLT-3/ITD مشعر تنبؤي بالنكس وبالانذار السيء ، الا انه يمكن ابطال اهميتها الانذارية باجراء allogeneic HCT ، وهذا التحسن في النتيجة السريرية عند اجراء زرع الخلايا الجذعية الخيفي لدى مرضى $AML\ FLT\text{-}3/ITD^{+}$ يشابه جداً الحالة التي وجدت لدى مرضى ALL ايجابي صبغي فيلادلفيا والذي ارتبط فيه المرض مع نتيجة سيئة عند تطبيق العلاج الكيميائي لوحده دون اجراء Allogeneic HCT .

الفصل الخامس: المثبطات صغيرة الجزيئة كخيار علاجي : Small molecule inhibitors as therapeutic options:

ان سبيل FLT-3 هو هدف جلي لمثبطات التيروزين كيناز (TKIs) لان طفرات FLT-3 هي واحدة من اكثر الطفرات شيوعاً في الابيضاض النقوي الحاد AML ، وهي تفعل بشكل جوهري مستقبل الكيناز . وبما ان فرط التعبير عن FLT-3-WT والتعبير عن طفرات FLT-3 متورطان في تكون الابيضاض ، فان المثبطات الجزيئية الصغيرة التي تحصر التفعيل البنيوي للمستقبل الطافر وحتى مستقبل النمط الشائع هي من المتضمنات العلاجية [١،٢] .

وقد وجدت الدراسات البدئية في الزجاج والتي استخدمت مثبطات تيروزين كيناز غير نوعية (Herbimycin A , AG1296, AG1295) ان هذه الادوية تمنع التفعيل التاسيسي لطفرة FLT-3/ITD ، وتقتل الخلايا التي تحمل FLT-3/ITD بشكل تفضيلي[١،٢] .

وحددت الدراسات اللاحقة العديد من المركبات الاخرى المحتملة (MLN518-PKC412 , SU5416, CEP-5214, CEP-701, SU11248 , SU5614) والتي ايضاً تمنع تفعيل FLT-3 .

وقد اظهر مركبين (PKC-412, CEP-701) بعض الوعود العلاجية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد AML والذين يحملون طفرات FLT-3 .

CEP-701 (LESTAURTINIB) هو مركب Indolocarbazole ، والذي يكبح الفسفرة الذاتية لمستقبلات FLT-3-WT و FLT-3 الطافر[١،٢] مع انتقائية عالية ضد FLT-3 عن بقية مستقبلات RTK s مثل KIT, FMS, PDGF[١] .

قيمت تجارب المرحلة الاولى والثانية عامل وحيد هو CEP-701 لدى المرضى المعندين (المقاومين) والناكسين او مرضى AML مع خطورة عالية والذين يعبرون عن الطفرات المفعلة ل FLT-3[٢]. ٥ من اصل ١٤ مريض لديهم طفرات FLT-3 قد حققوا استجابة سريرية موضوعية مع اعطاء CEP-701 ، على الرغم مع عدم ملاحظة الهجوع التام [٢] ، واظهروا ايضاً ان CEP-701 يرتبط الى البروتين البلازمي بشكل مرتفع ويكون نقص مثبطات FLT-3 في بعض الحالات قد يعود الى النقص في توفر الدواء [٢،١٠٤].

في تقييم CEP-701 في الزجاج لدى مرضى FLT-3/ITD ، أظهر LEVIS وزملائه ان CEP-701 عند مشاركته مع العلاج الكيميائي فانه يقتل نسائل الخلايا التي تحمل طفرات FLT-3/ITD بشكل تآزري[٢] ، وهذا يقترح فائدة علاجية محتملة في اضافة CEP-701الى العلاج الكيميائي. لاحقاً.قام LEVIS بتقييم فعالية مشاركة CEP-701 مع العلاج الكيميلئي التقليدي[١٠٤] .

٤٥ مريض AML لديهم طفرات FLT-3 تم توزيعهم عشوائياُ ليتلقوا اما علاج كيميائي تقليدي ، او علاج كيميائي مضافاً اليه CEP-701 اثناء النكس الاول . من بين ٢٤ مريضاً تلقوا CEP-701 ، ٥ مرضى حققوا هجوعاً تاماً CR و٥ مرضى آخرين حصلوا على هجوع تام مع شفاء غير تام . وبالنسبة للمرضى الذين تلقوا العلاج الكيميائي التقليدي فقط ، ٣ منهم حققوا هجوعاً تاماً و ٣ اضافيين حصلوا على الهجوع التام مع شفاء غير تام .

ايضاًتم تقييم CEP-701 في تجارب المرحلة الثالثة ، لدراسة فعاليته لدى مرضى AML المشخصين حديثاً ويحملون طفرات FLT-3 في تجارب MRC-15 ، حيث تم توزيع المرضى الذين يحملون طفرات FLT-3 بشكل عشوائي ليتلقوا علاجاً كيميائياً مع او بدون CEP-701 .

PKC412 (MIDOSTAURIN) : هو عبارة عن BENZOYLSTAUROSPORINE والذي طور في البداية كمثبط لمستقبل عامل النمو البطاني الوعائي Vascular –endothelial- growth-factor، بل ويثبط ايضاً مستقبل الكيناز FLT-3 [٢] .

تجارب المرحلة الثانية قامت بمعاينة PKC412 كعامل معزول لدى ٢٠ مريض AML عاليي الخطورة ولديهم FLT-3/ITDs .وبالرغم من ان ٦ مرضى اظهروا استجابة موضوعية لكن لم يلاحظ هجوعا تاماً CRs [١٠٥] ، ولاحظوا ايضاً ان الفسفرة الذاتية للمستقبل الطافر تم منعها لدى اغلب المرضى المستجيبين، مما يشير الى استجابة هدفية في الزجاج باستخدام الجرعة المستخدمة في الدراسة [١٠٥] .

لاحقاً تم مشاركة PKC412 مع DAUNORUBICIN و CYTARABINE لدى ٤٠ مريض مشخص لديهم حديثاً AML [١٠٦] . وكان معدل الهجوع التام CR لدى المرضى الذين لديهم FLT-3-WT كان ٦٩% مقارنة بمعدل هجوع >٩٠% لدى المرضى الذين لديهم طفرات FLT-3 ، مما يقترح فائدة علاجية محتملة لدى مرضى FLT-3/ITD عند مشاركة PKC412 مع العلاج الكيميائي التقليدي .

دراسة حالية في المرحلة الثالثة تم من خلالها توزيع (٥١٤) مريض بشكل عشوائي مشخص لديهم AML ليتم علاجهم ب Daunorubicin

+cytarabine + مع او بدون PKC 412 بهدف تحديد الفعالية السريرية لهذا العلاج المشترك . اقترحت البيانات ان مثبطات FLT-3 كعامل معزول لها دور محدد في علاج AML ، بالرغم من انه عند اضافة هذه المثبطات الى العلاج الكيميائي التقليدي قد يقدم فائدة علاجية لدى المرضى الذين لديهم طفرات FLT-3/ITDs وربما تبدلات جزيئية اخرى .

وسوف نحتاج الى دراسات مستقبلية لتحديد أي من مرضى AML مع طفرات FLT-3 لديهم الاحتمالية الاعلى للاستجابة على هذه الادوية الجديدة لكي نستهدف عوامل لدى هؤلاء المرضى الذين يمكن ان يستفيدوا بشكل اكبر .

1-5 ماهي مثبطات FLT3 المتوفرة .. وكيف تعمل ؟

مثبطات FLT3 هي مثبطات للتيروزين كيناز (TKI) والتي تصنف الى مثبطات الجيل الاول ومثبطات الجيل التالي ، وذلك بناء على فعاليتها ونوعيتها بالنسبة لل FLT3 وحسب ارتباطها بالاهداف الامامية في المراحل النهائية down .stream. targets .

مثبطات الجيل الاول : First generation inhibitors : والتي تتضمن sunitinib، sorafenib، midostaurin. وهي مثبطات غير نوعية نسبياً تجاه FLT-3 وتمتلك فعالية واسعة تشمل اهداف اخرى محتملة مثل : Kit، PDGFR، JAK2-KINASE، RAS/RAF، VEGFR ، THE off –target- activities . وهذا قد يساهم في سمية اعلى بشكل عام . وكذلك في فعالية سريرية في AML الذي يحمل طفرة غير FLT3 ، لكنه ينقص في الفعالية تجاه FLT3 الطافر[١٠٧].

مثبطات الجيل التالي : Next generation inhibitors : والتي تتضمن : crenolanib، quizartinib، gilteritinib . وهي مثبطات اكثر نوعية وفعالية مع سمية اقل ترتبط مع تاثيرات off-target

ابعد من ذلك فان مثبطات FLT3 تصنف ضمن النمط ١ والنمط ٢ ، وذلك بناء على اليتها في التداخل مع المستقبل[١٠٨] ،حيث ان هذه العوامل تتداخل مع الموقع الرابط لل ATP من جين TKD داخل الخلية ، وتثبط بشكل تنافسي هذا الموقع من الانزيم .

مثبطات النمط ١: تتضمن : sunitinib، lestaurtinib ، midostaurin ، giltertinib ، crenolanib . وهي ترتبط الى الموقع الرابط لل ATP عندما يكون المستقبل في وضعية الفعالية .

في حين ان مثبطات النمط ٢: مثل : Sorafenib، quizartinib، ponatinib ، تتداخل بشكل مباشر مع المنطقة الكارهة للماء hydrophobic المجاورة للمنطقة الرابطة لل ATP ، والتي تكون متاحة فقط عندما يكون المستقبل غير مفعل ، وبالتالي فهي تمنع تفعيل المستقبل .

وكما ذكر سابقاً فان الموقع الاكثر شيوعاً لطفرات TKD هو (D835) والذي ينتج عن استبدال حمض اميني واحد في رواسب حلقة التفعيل للاسبارتات (Aspartate 835) .

تفضل طفرات TKD الاساس الفعال من المستقبل والتغيير من ارتباط مثبطات التيروزين كيناز TKI ، وبالتالي في النمط ١ من المثبطان يمنع التفعيل في خلايا AML ضد كل من ITD و TKD ، مع ارتباط اقوى بشكل عام الى الكيناز الطافر في FLT3-ITD . في حين ان النمط ٢ من المثبطات تستهدف ITD لكنها قليلة الفعالية تجاه TKD ، بالرغم من تطور طفرات TKD خاصة D835 في خلايا AML مع طفرات ITD قد أثبت ان تكون الالية مكتسبة اي مقاومة ثانوية لمثبطات FLT3 النمط ٢[١٠٨،١٠٩،١١٠،١١١] .هذه العوامل تم تقييمها في المراحل ١و ٢ من التجارب السريرية ، وبعضها مثل MIDOSTAURIN و GILTERITINIB حصل على موافقة FDA (US FEDERAL DRUG ADMINISTRATION ، وبعضها الاخر لم يعد يستخدم في AML او غير متوفر مثل : SUNITINIB و LESTAURTINIB

2-5 مثبطات FLT3 اللانوعية : ***NON selective FLT3 – inhibitors*** :

١. **Sunitinib:** هو مثبط تيروزين كيناز متعدد الاهداف ، فهو يستطيع ان يثبط c-kit / kinase-insert-domain receptor(KDR) / PDGFR-KINASE/ اضافة الى FLT3 .
حالياً يستخدم في علاج Renal cell Carcinoma ، gastrointestinal stromal tumors ، و neuroendocrine tumors، وفي AML الذي يحمل FLT3-ITD .
قاد استخدام Sunitinib الى هجوع قصير وتسممات مهمة كعامل وحيد في المرحلة ١ من الدراسة [٢٠] في المرحلة ١ و٢ من التجارب المستخدمة لدى مرضى AML المتقدمين بالعمر ولديهم طفرات FLT3 ،، فان استخدام Sunitinib بالمشاركة مع العلاج الكيماوي المكثف اظهر هجوعاً تاماً ، او هجوعا تاما مع سمية غير كاملة تتضمن سمية دموية مديدة ، ومتلازمة يد–قدم[112.113] .

٢. **Lestaurtinib(CEP701)** : يستهدف Lestaurtinib كل من الشكل الطافر MUTANT والشكل الشائع WILD TYPE من JAK2 ، كما انه فعال كمثبط لل FLT3 . وقد اظهر فعالية بيولوجية وسريرية عند استخدامه كعلاج وحيد لدى المرضى الذين لديهم AML ناكس او معند على العلاج(266) .

في المرحلة ٢ من التجربة التي تضمنت مرضى AML كبار السن غير ملائمين وغير معالجين مسبقاً والذين يحملون FLT3 طافر

وفي محاولة لدراسة اعطاء علاج كيماوي انقاذي يليه اعطاء Leataurtinib فان ٢٩ مريضاً قد حققوا هجوعاً تاماً (CR) او هجوعاً جزئياً (PR) ، في حين لم يلاحظ اختلاف في معدل البقيا الاجمالي (OS) بالمقارنة مع ٢٣ مريض شاهد ، مع ملاحظة ان مرضى اكثر في عينات Lestaurtinib مقارنة بعينات الشاهد قد اوقفوا العلاج بسبب الاثار الجانبية)[١١٤]

في دراسة THE UK MRC AML 15 و دراسة NCRI AML 17 ، فشل Lestaurtinib في اظهار اي فائدة سريرية مهمة في فترة الهجوع وفي معدلات البقيا عندما تم اضافته كعلاج تالي للعلاج الكيماوي لعلاج مرضى AML الذين يحملون طفرة FLT3 في كلا التجربتين السريريتين العشوائيتين المستقبلية .

على اي حال فان الدراسات المترابطة تشير الى تحسن في معدل البقيا (OS) وانخفاض في معدل النكس لدى المرضى الذين استخدموا مثبطات FLT3 المستمر بمعدل > ٨٥% [١١٤]

٣. **Tandutinib** : استخدام tandutinib كان قادرا على تثبيط تكاثر الخلايا الجذعية المكونة للدم في الزجاج والتي كانت تحمل طفرات FLT3-ITD ، اضافة الى انها تحمل طفرات في PDGFR او C-KIT [٢,١١٥]

كما ان Tandutinib اظهر في المرحلة ١ السريرية في احدى الدراسات بعض الفعالية لدى المرضى الذين لديهم AML ناكس او معند ويحملون طفرات FLT3-ITD .

على اي حال فقد كانت السمية الغير كاملة (DLT) تتالف بشكل رئيسي من الضعف العضلي والذي كان عكوساً ، اضافة الى غثيان سهل التدبير و الاقياء [١١٦]

٤. **Quizartinib (AC220)** : هو مثبط من الجيل الثاني والذي تم تطويره لعلاج AML الطافر ب FLT3 ، كمان انه ايضاً فعال في علاج AML الذي يحمل طفرة PDGFR او طفرة C-KIT [١١٧] .

تم اختبار الجرعة النظامية من Quizartinib في المرحلة ١ من الدراسة التي تضمنت مرضى AML الناكسين او المعندين مع او بدون طفرات FLT3 . في هذه الدراسة تلقى المرضى Quizartinib بنظام من جرعتين اما باعطاء جرعة يومية لمدة ٢٨ يوماً او باعطاء نظام حلقي او متقطع (يعطي ٢ اسبوع /لايعطى ٢ اسبوع) .

كانت السمية DLT عيبارة عن تطاول في QT من الدرجة الثالثة[١١٨] . وبالرغم من معدلات الاستجابة الواعدة (٦١%-٧٢%) عند العلاج ب Quizartinib كعامل وحيد في المرحلة ٢ من الدراسات والتي تضمنت مرضى AML الناكسين او المعندين وحتى المرضى الذين نكسوا بعد زرع خلايا جذعية (HCT) ، الا ان النكس قد حدث خلال الاشهر (٣) الاولى من العلاج لدى ٥٠% من المرضى[١١٩،١٢٠] .

٥. **Sorafenib** : عامل متعدد الاهداف multitargeted agent . تمت الموافقة عليه لعلاج سرطان الخلية الكبدية hepatocellular carcinoma كمثبط ل RAF-1 ، وفي سرطان الخلية الكلوية renal cell carcinoma كمثبط لمستقبل عامل النمو البطاني الوعائي vascular-endothelial-growth-factor-receptor (VEGFR()) . اضافة الى تثبيط PDGFR و تثبيط (C-KIT . [٢]

ايضا كان Sorafenib فعال كمثبط ل FLT3 ، حيث يقود الى انخفاض ملاحظ في الاورمات في الدم المحيطي وفي نقي العظم لدى المرضى الذين يحملون طفرات FLT3 والذين ادخلوا في المرحلة ١ من الدراسة التي استخدمت Sorafenib كعامل وحيد في علاج AML الناكس او المعند ، في حين انه لم يكن هنالك سمية DLT بعد الاعطاء الفموي بجرعة (٢٠٠-٤٠٠)مغ/مرتين/اليوم [١٢١]

في الحالات الناكسة او المعندة يستخدم Sorafenib بالمشاركة مع idarubicin او مع جرعة عالية من cytarabine بامان ، ويحرض على معدلات هجوع تام اجمالية (CR) تصل الى ٧٥-٩٢% لدى المرضى الذين يحملون طفرة FLT3). [١٢٢]

في دراسة اخرى وفي المرحلة ٢ لحالات ناكسة او معندة، تم استخدام Sorafenib بالمشاركة مع Azacitidine،وقد اظهرت معدل استجابة اجمالي يصل الى ٤٦% مع سمية بالحد الادنى ، وهذا سمح للمرضى باجراء زرع خلايا جذعية (HCT) تالي)[١٢٣] .

ابعد من ذلك ، تم مشاركة العلاج باستخدام idarubicin + Sorafenib أو cytarabine اثناء induction و consolidation ثم تلى ذلك اعطاء Sorafenib كعامل وحيد لمدة تصل حتى (١) سنة كعلاج داعم للمرضى الذين اتموا consolidation .

اظهرت النتائج معدلات هجوع تام (CR) مرتفعة جداً في اجتثاث تام للنسائل الطافرة ب FLT3 لدى <٥٠% من المرضى .

باي حال ، ولدى متابعة العلاج لفترة وسطية حتى ٩ أشهر (مابين ١٠-١٦ شهراً) فان ٥٥ % من المرضى نكسوا ([١٢٤] .اكثر من ذلك ، ففي تجربة عشوائية Randomized –placebo-controlled (SAI-SOR AML) ، تضمنت (٢٦٧) مريضاً فتياً مشخصاً لديهم AML حديثاً ، سجلت معدل بقيا خال من الاحداث (EFS) افضل ، ومعدل بقيا خال من النكس (RFS) افضل ، ولكن ليس في معدل البقيا الاجمالي (OS) لدى المرضى الذين تلقوا Sorafenib مقابل الذين تلقوا placebo [١٢٥].

3-5 مثبطات FLT3 النوعية : Selective FLT3- inhibitors :

١. **Midostaurin (pkc412)** : هو عامل فعال ضد كل من FLT3-ITD ، و FLT3-TKD ، عندما يستخدم كعامل وحيد بجرعة (٧٥)مغ /٣مرات/اليوم، حيث شوهد انخفاض هام في الاورمات المحيطية لدى (٧٠%) من المرضى ال(٢٠) الذين تم دراستهم ، وكان العلاج جيد التحمل من قبل المرضى باستثناء حالتين (حادث رئوي قاتل) بالية مرضية غير معروفة

اضافة Midostaurin الى علاج induction و consolidation لدى مرضى مشخص لديهم حديثاً AML وبجرعة (٥٠) مغ /مرتين/اليوم نتج عنه معدل هجوع تام (CR) (٨٠%) ، في حين كان معدل البقيا الاجمالي (OS) لمدة (١-٢) سنة متشابه بغض النظر عن حالة طفرة FLT3[١٢٦] (.

في المرحلة ٢ من دراسة عشوائية ل (٩٥) مريضاً مشخص لديهم AML او متلازمة عسرة تصنع نقوي عالي الخطورة (MDS) ، تم علاجهم باعطاء Midostaurin بجرعة فموية ٥٠ او ١٠٠ مغ / مرتين /اليوم ، قاد هذا العلاج الى انخفاض >٥٠% في اورمات نقي العظم او في الاورمات المحيطية ، وكانت الاستجابة اكثر وضوحاً لدى المرضى الذين يحملون طفرات FLT3 (٧١% مقابل ٤٢%) [127.128]

لاحقا وفي المرحلة ١ من تجربة درست مشاركة Midostaurin مع all-trans-retinoic مع علاج كيماوي لعلاج AML الناكس او المعند ، واظهرت معدل استجابة اجمالي (ORR) يصل الى ٣٣% (CR+CRI()[١٢٩] .)

وفي دراسة RATIFY ، شملت اكثر من (٧٠٠) مريض شاب بشكل عشوائي عمرهم بين (١٨-٥٩ سنة) مشخص لديهم AML غير معالج مع طفرة FLT3-ITD (٧٧%) او طفرة FLT3-TKD في (١٣%) من الحالات ، وتلقوا Midostaurin او placebo مع العلاج الكيماوي induction ، وكانت هذه التجربة عشوائية متعددة المعاهد متعددة الجنسيات ، وقد ابلغت عن تحسن هام في معدل البقيا الاجمالي (OS) ب ٢٣% مع افضلية لل Midistaurin حتى لدى المرضى الذين خضعوا لزرع خلايا جذعية

(٥٧%) .فائدة Midostaurin كانت متوافقة مع نمط طفرة FLT3 (ITD VS TKD) ، ووظيفة الطفرة الاليلية (منخفض مقابل مرتفع) ، اضافة الى ان معدل البقيا خالي من الاحداث (EFS) بعد الزرع تحسن بشكل هام لدى المرضى الذين عولجوا ب Midostaurin (p=0.025 ، hazard raito=0,084) [١٢٩،١٣٠] .)

Midostaurin هو اول علاج هدفي وافقت عليه FDA (food and drug administation) لعلاج AML الطافر ب FLT3 في امريكا [١٣١]

٢. **Gilteritinib(ASP2215)** : هو مثبط فعال ونوعي من الجيل الثاني لكل من FLT3 و AXL (وهو عضو من عائلة مستقبل TAM تيروزين كيناز (TAM –receptor –tyrosine –kinase family) .

في المرحلة ١ و ٢ من تجربة حول استخدام Giltertinib في علاج AML الناكس او المعند والحامل لطفرة FLT3، اظهرت معدل ORR من (٥٧%) ووصلت الى (٦٣%) مع جرعة اعلى .

كما تم اختبار Giltertinib في تجارب المرحلة ٣ في حالات AML الناكسة والمعندة وكعلاج داعم في اول هجوع تام (CR) تال لعلاج CONSOLIDATION / INDUCTION او بعد زرع خلايا جذعية بالمشاركة مع Azacitidine لدى المرضى الذين يحملون طفرة FLT3-ITD وغير مؤهلين لعلاج كيماوي مكثف .

٣. **Crenolanib**: مثبط FLT3 نوعي وشامل ، ويعتقد بانه يتجاوز ويتجنب المقاومة الناجمة عن تطور طفرات TKD في حلقة التفعيل والتي هي الالية الرئيسية لمقاومة Guizatinib [١٣٢،١٣٣،١٣٤،١٣٥،١٣٦،١٣٧]

باي حال ، في دراسة بالمرحلة ٢ لل Crenolanib ، اظهر فعالية افضل لدى مرضى بالغين معالجين بمثبطات FLT3 مسبقاً.

وحاليا يتم اختباره في موقع الخط الامامي في المرحلة ٣ من التجربة ومقارنة Crenolanib مقابل Midostaurin بعد علاج induction ، و consolidation .

وفي تجربة اخرى قارنت استخدام Crenolanib بالمشاركة مع العلاج الكيماوي مقابل العلاج الكيماوي لوحده في مرحلة النكس او التعنيد لدى مرضى AML الذين يحملون طفرة FLT3-ITD

Futur Directions 5-4 الآفاق المستقبلية:

مصدر القلق الرئيسي لدى استخدام مثبطات FLT3 هو تطور المقاومة .

وعلى الرغم من ان العلاج بمثبطات التيروزين كيناز في علاج FLT3 قد حسن من النتائج السيئة لدى مرضى AML الحاملين لطفرة FLT3 فان الاستجابة السريرية لمثبطات FLT3 كانت قصيرة الامد .

وبشكل عام يمكن تصنيف المقاومة لمثبطات FLT3-TKI اما الى مقاومة اولية (اصلية) للنسيلة الخبيثة او الى مقاومة ثانوية (مكتسبة) والتي بدات بالظهور بعد الاستجابة الاولية [١٣٨]. كما يمكن ايضاً تصنيفها الى مقاومة ذاتية (داخلية) وهي التي تتواجد قبل العلاج ، او الى مقاومة خارجية والتي تنشأ أثناء او بعد العلاج .

وتعود المقاومة البدئية بشكل رئيسي الى وجود طفرات FLT3 غير حساسة الى مثبطات TKI نوعية ، او الى تفعيل سبيل البقيا البديل .

في حين ان المقاومة الثانوية لها اسباب متعددة تتضمن الطفرات المقاومة في الجيب الرابط لل ATP، واشارات FLT3 المستبعدة ، وفرط التعبير عن FLT3 ، وتفعيل السبيل البديل مثل طفرات في جين NRAS .

واحدى الاليات الاساسية والافضل وصفاً في المقاومة هي تطور الطفرات النقطية في مواقع ربط الدواء ل FLT3 ، واكثرها شيوعاً في الثمالة D835 من FLT3-TKD [١٣٩-١٤٠] >

مازال هنالك نقص في البيانات للنصح باجراء مسح للطفرات المعدلة المقاومة في حال النكس التالي لل INDUCTION والعلاج الكيماوي CONSOLIDATION والعلاج الداعم مع مثبطات FLT3

على اي حال للتغلب على المقاومة الناشئة ضد مثبطات FLT3 (FLT3-TKI) فقد وجدت عدة استراتيجيات اندماجية تخص مثبطات FLT3 لتعاكس المقاومة تم تقييمها ، وتهدف الى تحريض هجوع اطول وتقضي على الخلايا الجذعية الابيضاضية المتطابقة .

احدى الاستراتيجيات المشتركة الشائعة هي استخدام مثبطات FLT3-TKI مع العلاج اللاجيني والذي يتضمن مثبطات Histone deacetylase (HMAs) والتي تظهر تاثير مضاد للابيضاض تآزري ومشجع في الفعالية المخبرية في الزجاج خاصة من خلال تحطيم التنظيم في سبيل JAK/STAT [١٤٠])

استراتيجية اخرى فعالة في التغلب على المقاومة هي باستهداف السبيل السفلي Down stream ل -FLT3 ITD بالاستخدام المرافق لمثبطات FLT3 مع مثبطات STAT5 او مثبطات PIM KINASE او مع مثبطات CDK4/6 او مثبطات MTOR او مثبطات (-AKT[١٤١،١٤٢،١٤٣،١٤٤]

كما التآزر الذي تم تحقيقه عند مشاركة Midostaurin مع مثبطات mtor او مثبطات PI3K . وكذلك عند مشاركة Sunitinib مع مثبطات mtor او مثبطات ERK1/2 – MAPK[١٤٥،١٤٦،١٤٧،١٤٨] ()

استراتيجية اخرى هي سمية التثبيط ل FLT3-ITD-GLYCOSYLATION من اجل تعديل اشارات FLT3-ITD-down stream مع) Statin s[١٤٩] هذه يمثل الالية الفعالة من اجل التحايل على المقاومة باستهداف سبيل down-stream بوضوح .) [١٥٠]

احدى الاستراتيجيات التي تم اقتراحها للتغلب على المقاومة هي باعطاء sustained disease contral ، مثل تحقيق الشفاء الفعال بعد allo-HCT عبر التاثير التآزري لمثبطات FLT3 وبخاصة Sorafenib مع alloreactive donor T-cells . هذه التآزر مع تاثير الطعم ضد الابيضاض لوحظ بدزن زيادة في خطورة GVHD [١٥١،١٥٢،١٥٣]

كما تم استخدام مثبطات FLT3 كعلاج داعم مابعد الزرع لتخفيض خطورة النكس ويتم حاليا استقصاء العلاج ب Quizartinib كعلاج داعم لدى مرضى AML الحاملين لطفرة FLT3 والذين هم في مرحلة الهجوع مابعد الزرع في دراسة متعددة المراكز ، حيث وجد انه فقط مريض واحد من اصل ١٣ تعرض للنكس رغم استخدام جرعة < ٦٠ مغ[١٥٤] .

دراسة اخرى في المرحلة ١ ، استخدمت Sorafenib كعلاج داعم مابعد الزرع بدءا من اليوم (٤٥) واليوم (١٢٠) ، اظهرت ان الدواء تحمله جيد ، وكان معدل البقيا الاجمالي (OS) ملفت للنظربمعدل (٩٥%) في السنة الاولى مابعد الزرع HCT [١٥٥]. زهذه النتائج واعدة جداً ، وتستحق تقييما أبعد في تجارب سريرية عشوائية .

5-5 ماهي التأثيرات الجانبية المرتبطة بمثبطات FLT3 وكيف يتم تدبيرها ؟

مثبطات FLT3 –الجيل الاول والتي تتضمن : Midostaurin و Sorafenib هي ادوية غير نوعية نسبياً وغالباً للديها فعاليات خارج الهدف off-target .

على اي حال فقد اظهرت البيانات من تجارب (RATIFY) آثار جانبية غير متوقعة مرتبطة ب Midostaurin مثل فقر الدم درجة ٣ أو ٤ ، طفح ، غثيان ، حيث كانت هذه الاثار اعلى حدوثاً وبشكل

واضح في مجموعة midostaurin من مجموعة placebo فكان معدل فقر الدم (٩٢،٧ % مقابل ٨٧،٨%) ومعدل الطفح (١٤،١% مقابل ٧،٦%) ومعدل الغثيان (٩٦% مقابل ٥٦%) .

من المهم ان نقول انه لايوجد جرعة تعديل من اجل السمية الدموية عند وجود midostaurin اثناء علاج induction ، و consol-idation ، اما اثناء العلاج الداعم فقد تم ايقاف midostaurin في حال كان ANC < ١٠٠٠/ UL . او في حال كانتى مدة QT > ٥٠٠ms ، او في حال وجودة سمية رئوية درجة ٣< .

وفي حال العلاج الداعم مابعد الزرع ، فان البيانات من تجارب (SORMAIN [١٥٦]، كشفت ان هنالك سمية مقبولة بشكل عام فقط مع جرعة RE-induction .

فيما يتعلق ب Sorafenib ، فقد كانت اكثر الاثار الجانبية فقر الدم من الدرجة ٣-٤ مع اعطاء sorafenib مقابل placebo هي: GVHD الحاد (٢٤% مقابل ٨،٢%) . والسمية المعدية المعوية (١٤،٣% مقابل ١٥،٤%) ، والخمج (٢٦,٣% مقابل ٢٣%) .

وفي بيانات من تجارب (SORMAMI) [١٥٧،١٥٨] ، فقد وجدت ان اكثر الاثار الجانبية التي ارتبطت مع مجموعة Sorafenib كانت : الحمى ، الاسهال، النزف ، الحوادث القلبية ، طفح جلدي : متلازمة يد –قدم hand-foot-skin reaction ، وهذا الطفح ادى الى سحب sorafenib من العلاج في ٣٠ % من الحالات في الدراسة .

بالمقابل فان مثبطات الجيل التالي والتي تتضمن : quizartinib ، crenolanib ، و qilteritinib هي ادوية اكثر نوعية وفعالية مع سمية معقولة بشكل عام .

فمثلاً الاثار الجانبية الشائعة والمرتبطة بالعلاج مع جرعات عالية من quizartinib (> ٩٠ مغ / اليوم) كانت تثبيط نقي العظم .

وارتبط اعطاء qilteritinib مع حدوث تطاول في QT درجة ٣< في (١٥%) من الحالات . والتي كانت قابلة للعكس والتراجع ويمكن تدبيرها بنجاح مع خفض الجرعة او ايقاف المعالجة . وارتبطت الجرعات الاخفض من quizartinib مع معدلات اقل بشكل واضح في تطاول QTCF (< ٥%) مع الحفاظ على نفس الفعالية العلاجية لل quizartinib .[١٥٩]

السمية المرتبطة بالعلاج والتي حدثت لدى المرضى المعالجين ب crenolanib كانت : سمية معدية معوية درجة ٣ : غثيان ، اقياء ، tranaminitis ، اضافة الى احتباس السوائل [١٦٠]

وارتبط اعطاء qilteritinib مع اثار جانبية اخرى كالاسهال (٣٧%) ، فقر الدم (٣٤%) ، التعب (٣٣%) ، ، وارتفاع في اسبارتات امينو ترانسفيراز aspartate –amino-transferase (٢٦%) ، وارتفاع في alaline-amino-transferase (١٩%)[١٦١].

الفصل السادس : ماهو التأثير الانذاري لطفرة FLT3 :

ان التأثير الانذاري لطفرة FLT3-TKD(ALM) مازال غير معروف بشكل جيد لدى المرضى المشخص لديهم AML حديثً. بالمقابل فان التأثير السلبي لطفرة FLT3-ITD تم تأكيده وهو يرتبط مع انذار سيء مع خطورة في النكس وفي معدل البقيا overall. Survival (os)[١٦٢] .

اكثر من ذلك ، فان التاثير الانذاري لطفرة FLT3-ITD قد تتأثر بنسبة Mutant / wild-type ومعدل الاليل allelic ratio (AR) ، وموقع الادخال ، وطول ITD ، والنمط النووي Karyotype ، اضافة الى الطفرات المرافقة concomitant –mutations مثل : RUNX1 – WT-1 – NPM1– DNMT3A . [١٦٣]

في بعض الدراسات ، ارتبط وجود طفرة FLT3-ITD مع معدل (AR) أعلى مع نتائج سيئة ، ولكن ليس في دراسات اخرى[١٦٤،١٦٥،١٦٦،١٦٧]. فعلى سبيل المثال ، وضع SCHLEN KETAL . تقريراً يقول بان وجود معدل اليل عالي (AR > ٠,٥١) مع مواقع ادخال ل FLT3-ITD في TKD1 لدى مرضى AML الذين يحملون طفرة FLT3-ITD يشكل مشعر تنبؤ يشير الى نقص في فترة الهجوع التام (CR) ومعدلات بقيا(OS) منخفضة وسيئة . بشكا مشابه وفي دراسةاخرى فان عتبة (AR> ٠,٧٨) ارتبطت بشكل هام مع معدلات (OS) أقصر وكذلك معدلات اقصر في (DFS) Disease free –survival [١٦٥] علما ان كلا الدراستين لم تستخدم مثبطات FLT3

بالمقابل فان تحليل Large cohort لمرضى في تجارب Medical-Research-Council كشفت انه لايوجد ارتباط او علاقة مابين خطورة النكس و AR[١٦٦]. بالاضافة الى ذلك فان المرضى الذين كان لديهم (AR< ٠,٥) –FLT3-ITD-AR (FLT3-ITD LOW) ولديهم طفرات NPM1 كان لديهم الانذار جيداً وذلك وفق دراسة European –leukemia –Net، و the National Comprehenive Cancer [١٦٧-١٦٨].

في حين سجل Schnittgeretal [١٦٩]، ان معدل البقيا (os) لمدة ٣ سنوات وصل الى ٦٠% لدى مرضى AML الذين لديهم AR FLT3-ITD منخفض مع طفرة NPM1 .

وبشكل معاكس . فقد اظهرت دراسات اخرى ان المرضى الذين لديهم AML طافر ب HIGH-AR FLT3-ITD لديهم نتائج سيئة مشابهة بغض النظر عن حالة NPM1 ، وجميع المرضى يجب احالتهم الى زرع الخلايا الجذعية ALLO-HCT [١٧٠-١٧١]

الباب الثاني

الدراسة العملية

الفصل الاول : مبررات واهداف الدراسة

Justifications and Objectives of the study

١-١ مقدمة :INTRODUCTION :

يعتبر الابيضاض الحاد من أكثر الخباثات الدموية حدوثا لدى الأطفال ، % 80 منه يصنف كابيضاض لمفاوي حاد ، و(15-20)% يصنف كابيضاض نقوي حاد .

يصل حدوث الابيضاض النقوي الحاد لدى الرضع الى معدل (1.5) من كل 100 ألف شخص /السنة ، وينقص حدوثه حتى (0.9) /لكل 100 ألف شخص بين عمر (1-4) سنوات ،وحتى (0.4) / 100 ألف شخص بعمر (5-9) سنوات ،بعد ذلك هنالك زيادة تدريجية حتى الوصول لمرحلة البلوغ ، حيث يصل معدل الحدوث حتى (12.5) /لكل 100 ألف شخص بعمر > 65 سنة.

يشكل الابيضاض النقوي الحاد اضطرابات متغايرة المنشأ HETEROGENOEOUS من الاضطرابات ،التي تتميز بتحول نسيلي خبيث للخلايا الجذعية المكونة للدم او الخلايا السليفة.

الأسباب وراء حدوث الابيضاض النقوي الحاد غير معروفة ، وعادة مايكون حدوثه لدى الأطفال بدئياً، أما لدى البالغين والأشخاص الأكبر سناً ،فقد يسبقه حدوث MDS (متلازمة عسر التنسج النقوي) (MYELO DYSPLASTIC SYNDROME) . لكن حدوث الابيضاض النقوي الحاد لدى الأطفال الذي يسبقه تطور نسيلي لامراض تكاثرية نقوية ماقبل ابيضاضية متل MDB او JMML هو امر نادر الحدوث .كما ان الاشخاص الذين لديهم فانكوني ، او متلازمة بلوم ، فلديهم خطورة متزايدة لتطوير ابيضاض نقوي حاد كخباثة ثانوية .

وجدت طفرات الخلايا المنتشة GERM LINE في عدة جينات مثل -FLT/ GATA2/ TP53/RUNX1 /CEBPA/ 3/ / . بعض العائلات لديهم خطورة مرتفعة غيرة مفسرة للإصابة بالابيضاض النقوي الحاد .،وهذا يقترح وجود استعداد عائلي لتطور الابيضاض النقوي الحاد.

هنالك عوامل انذارية متعددة لها علاقة مباشرة بنتائج وانذار الابيضاض النقوي الحاد مثل: العمر ، والشذوذات الصبغية ، الوراثة الخلوية ، وتعدادا الكريات البيض عند التشخيص ، وحالة الأداء PERFORMANCE ، والاستجابة على المعالجة.

تم تحديد مجموعة من الشذوذات الجزيئية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد ،والتي لها انذار مهم لديهم ، ومن ضمنها :

طفرات جين NPM-1 : Nucleo-phosmin-1

طفرات جين FLT-3: Fms-Like Tyrosine -kinase-1

طفرات جين CEBPA : CCAAT/enhancer-binding-protein-a

FLT-3 : جين مستقبل تيروزين كيناز من الصف الثالث class-3 (RTK) ،يتوضع على الصبغي (13q12)، يتواجد على سطح الخلايا الطبيعية المكونة للدم ، وخلايا الدماغ والمشيمة والكبد والتيموس والعقد اللمفاوية

اما طفرات FLT-3 ، فهي تقود الى تكاثر خلوي غير منتظم وحدوث التحول الابيضاضي . . يتم التعبير عن طفرات هذا الجين على سطح ٩٠% من خلايا ال AML الابيضاضية ، كما توجد على سطح الخلايا البائية في الابيضاض المفاوي الحاد

٢-١ مبررات الدراسة : study justification

يعتبر جين FLT-3 أشيع جين طافر لدى مرضى AML ، حيث يتفعل لدى حوالي تلت الحالات ، أي مايقارب (٢٠-٣٠%) من المرضى ، واغلب البيانات المرجعية تشير الى ان طفرات FLT-3 تحمل إنذارا سيئاً لدى مرضى AML .

الدراسات المجراة حول الأهمية الانذارية لطفرات FLT-3 ومدى انتشارها لدى البالغين من مرضى AML عديدة ، لكن ، هنالك نقص نسبي في الدراسات المجراة حولها لدى الأطفال ،وهذا مايجعل من الاهمية اجراء دراسات إضافية حول طفرات FLT-3 لديهم ، وعلاقتها بانذار المرض ، والذي سيدفع لاعادة النظر بإعادة تقييم

المريض ، وتعديل خطط العلاج المعيارية المتبعة. خاصة وان اغلب الدراسات المرجعية العالمية لطفرات FLT-3 تشير الى هذه الطفرات هي متغير مستقل ، ويعكس إنذاراً سيئاً لدى مرضى AML ، خاصة الأطفال منهم .

إضافة لما سبق .هنالك دراسات عالمية أظهرت بشكل واضح ان وجود طفرات FLT-3 في اورمات AML بالمشاركة مع زيغانات جينية أخرى متل طفرة WT-1 الجسدية. او مع t(5;11) ،يرتبط مع معدلات بقيا أقل {٢٨}. وتم تقييم دور هذه الطفرات كعوامل انذارية في برتوكولات العلاج لدى الأطفال عبر تحليل ارتباط المعالجة مع تشارك حدوث هذه الزيغانات الجينية والوراثية الخلوية معاً ،واهميتها السريرية في تحديد مجموعة المرضى عالي الخطورة الذين تفشل لديهم بروتوكولات العلاج الانقاذية ، وخط العلاج الثاني

١-٣ أهمية البحث : study importance

الابيضاض النقوي الحاد مرض نادر عند الأطفال مع تشخيص سنوي لحالات جديدة يصل الى (٥٠٠-٦٠٠) حالة /السنة في الولايات المتحدة الامريكية ، و(٣٠-٤٥)حالة / السنة وفق احصائيات مشفى الاطفال الجامعي في دمشق .اي لدينا ٣-٥ مليون بينما في امريكا ١-٢ مليون.

وتبقى معدلات البقيا لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد متواضعة خلال العقود الثلاث الماضية لاتتجاوز(% ٣٠-٤٠).كما ان الاثر الاجتماعي والاقتصادي للابيضاض النقوي الحاد كبير جداً .

حسنت التعديلات في أنظمة التشخيص والعلاج الكيميائي والرعاية الداعمة ، في السنوات الأخيرة، بشكل كبير من انذار المرضى الذين يعانون من الابيضاض النقوي الحاد (AML) .

ومع ذلك مازالت نسبة مرتفعة من الأطفال لايستجيبون لخط العلاج الأول أو يصابون بالنكس ، ويحتاجون للخضوع لعلاج جديد.

لذا تم تسليط الضوء على الحاجة لاكتشاف عوامل جدديدة غير العلاج الكيميائي في السنوات الماضية للتغلب على اختلاطات الادوية المرتبطة بالمقاومة والسمية.

ومن ضمن هذه العوامل ، التعرف على الطفرات الجزيئية والشذوذات الوراثية الخلوية ،وصلتها التشخيصية والعلاجية بانذار الابيضاض النقوي الحاد.

الطفرات الجزيئية في جينات: /ASXL1/ RUNX1 / TP53 / IDH-2 / IDH-1 /FLT-3/ NPM-1 / تزودنا بمعلومات مهمة انذارياً وعلاجياً في الابيضاض النقوي الحاد ،بما في ذلك أفضل استراتيجيات العلاج والتوصيات حول زرع النقي ، وأهمية تحديد MRD (MINIMAL RESIDUAL DISESAE) .

جين FLT-3: جين ورمي من مستقبلات التيروزين كيناز من الصف الثالث class-3 ، يتدخل في المراحل الأساسية المكونة للدم، مثل التكاثر ، التمايز، والبقيا .

وأصبحت طفرات FLT-3 في السنوات الأخيرة ، واسماً مهماً في الخباثات الدموية ، ولها دور بارز ومميز في الابيضاض النقوي الحاد ، حيث ارتبطت هذه الطفرات مع الإنذار السريري ، والعلاج ، والبقيا لدى الأطفال .

دراسة طفرات FLT-3 قد يكون له جدوى كبيرة لكشف هذه الطفرات لصالح استعمال ادوية نوعية تساهم في علاج الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد والذين يحملون هذه الطفرات ، وبالتالي تحسين البقيا والانذار .

كما يمكن ان ينعكس هذا البحث ونتائجه مستقبلاً على الخطة العلاجية المطبقة لمرضى الابيضاض النقوي الحاد وذلك اعتمادا على وجود طفرات FLT-3 مما ينعكس ايجابا على المرضى ، كما يمكن ان يساهم في تخفيف الاعباء الاقتصادية من خلال الترشيد في استخدام تلك العلاجات، وهذا يساهم بدوره في الحصول على معلومات جديدة تساهم في تطور البحث العلمي التطبيقي في سورية .

١-٤ اهداف البحث sudy objectives:

- تهدف الدراسة الحالية الى تحديد علاقة طفرات FLT-3 بانذار المرض والاستجابة للعلاج وهو الهدف ا لرئيسي للدراسة .
- تحديد انتشار طفرات FLT-3 لدى مرضى الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد والذين لديهم نمط نووي طبيعي
- وتحديد علاقة طفرات FLT-3 مع معدل البقيا OS ومع EFS

١-٥ الفرضية hypothesis :

تم تصميم الدراسة الحالية للاجابة عن الاسئلة البحثية التالية :

_مامدى انتشار طفرات FLT-3 لدى المرضى الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد؟

_هل لطفرة FLT-3 قيمة انذارية وبالتالي علاجية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد من الاطفال؟

_هل لطفرة ال FLT-3 علاقة مع معدل البقيا OS ومع معدل EFS ؟

وبالتالي فان اثبات او ايجاد العلاقة بين طفرات FLT-3 وبين الاستجابة للعلاج سيضيف الى معارفنا الطبية وسيساهم في التعرف على عوامل انذارية تعزز النمو الورمي والغزو والتحول الابيضاضي والمقاومة العلاجية ، وبالتالي يساهم بالتعرف على علاجات هدفية جديدة والتدبير المستقبلي للاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد .

١-٦ السؤال البحثي :

هل وجود طفرات FLT-3 يحمل أهمية انذارية لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد .

الفصل الثاني : الطرائق Methods

2-1 تصميم البحث study design

الدراسة التي نقوم بها هي دراسة حشدية مستقبلية ،طولانية تشخيصية، تداخلية .

2-2 حساب حجم العينة sample size calculation

تم حساب حجم العينة بالطرق الاحصائية باستخدام دالة حساب حجم العينة (معادلة ستيفن ثامبسون)

$n = z^2pq/e^2$

الثقة الاحتمالية : ٩٥,٥% وعندها (z=2)

الخطأ المسموح به: ١٠% وعندها (e=10) و (p=q=50%)

2-3 معايير الاشتمال والاستبعاد : Inclusion and Exclusion Criteria :

تم ادخال ضمن الدراسة الحالية جميع الاطفال الذين شخص لهم حديثاً ابيضاض نقوي حاد من خلال اجراء بزل نقي BM ، وتنميط خلوي مناعي FCM والذين كان لديهم النمط الصبغي طبيعي .

شروط الادخال : الاطفال المصابين بابيضاض نقوي حاد مع نمط صبغي طبيعي

معايير الاستبعاد:شملت كل الاطفال المصابين بابيضاض نقوي حاد ثانوي او من كان لديه ابيضاض نقوي حاد مع نمط نووي غير طبيعي .

2-4 زمن ومكان الدراسة :study date and place :

تم الحصول على عينات الدراسة من المرضى الأطفال المقبولين في شعبة الدم والاورام في مشفى الأطفال الجامعي بدمشق ، وفي وحدة بسمة التخصصية ، والمشخص لهم حديثا ابيضاض نقوي حاد، حيث أجري لهم النمط النووي karyotype.

وفي كل حالة وجدت النتيجة الطبيعية ،قمنا بسحب عينة دم محيطية وارسالها لهيئة الطاقة الذرية لتحري طفرات FLT-3 (ITD, TKD) ، عبر تطبيق تقنية PCR . ثم قمنا بأخذ عينات دم محيطية وارسالها لهيئة الطاقة الذرية ، حيث تم هنالك عزل عينة DNA من الدم المحيطي ، ومن ثم تطبيق تقانة التفاعل

التسلسلي للبوليميراز (PCR) لتحري وجود او غياب طفرات (FLT-3):(ITD, TKD) باستعمال المرئسات الخاصة .

Genomic DNA was extracted and purified from patient blood leukocyte, FLT-3 gene TKD region exon 20 was amplified and the PCR product was sequenced by capillary electrophoresis along with normal controls using Thermo FisherAppllied Biosystems*SEQSTUDID*Gentic Analyzer.Andthe results were analyzed using Sequencing Analysis Sofeware

Test was performed in contrast with positive control.Normal control and No template PCR control

Test sensitivity :down to 1% tumer DNA out of the total DNA extracted.

بعدها تم تطبيق بروتوكول العلاج الكيميائي المتبع لدينا او في وحدة بسمة لعلاج الابيضاض النقوي الحاد . بعد اخذ الموافقة المستنيرة من الاهل قبل أي اجراء او تطبيق العلاج الكيميائي

قام الباحث بملء استمارة خاصة بكل طفل تتضمن : معلومات مفصلة تتعلق بالطفل وعائلته ،الاسم ، العمر ، تاريخ القبول الشكوى الرئيسية ، رقم الاضبارة ، مكان السكن ، السوابق العائلية والشخصية .

إضافة لنتائج التحاليل المخبرية . نتيجة اللطاخة الدموية ، بزل النقي ، FCM .الصيغة الصبغية، وونتيجة PCR لطفرات FLT-3 .ايكو قلب . المعالجة المطبقة. التحاليل الدموية وبزل النقي في نهاية كل مرحلة من العلاج . نتيجة متابعة المريض في نهاية الدراسة .

الخطة العلاجية :العلاج يتالف من ٣ مراحل : INDUCTION, CONSOLIDATION, MAINTENANCE

تتكون القاعدة الاساسية في مرحلة علاج : التمهيدي induction أو المدخل بالهدأة المستخدم لدى مرضى AMLمن مشاركة بين cytarabin ، و ، anthracycline.

يتالف النظام الكلاسيكي من ٤-٥ أشواط من العلاج الكيميائي المكثف : حيث يتم اعطاء ٧ ايام تسريب وريدي من cytarabin بجرعة ١٠٠-٢٠٠ مغ/م٢/اليوم ، ويعطى daunorubcin لمدة ٣ أيام حقناً وريدياً بجرعة ٤٥-٦٠ /مغ /م٢/اليوم

تمت المتابعة والتقييم باجراء بزل نقي في نهاية كل مرحلة علاج (كل ٣ اشهر) وفي نهاية العلاج لتبيان مدى استجابة المريض للعلاج الكيميائي

المتابعة والتقييم كان :باجراء بزل نقي او MRD وتقييم الاستجابة للمعالجة في نهاية مرحلة INDUCTION ،و ,وتقييم مدة البقيا بلا مراضة EFS ومدة البقيا على قيد الحياة OS في نهاية مدة البحث .

الدراسة امتدت مابين عامي ٢٠١٩-٢٠٢٢.

2-5 جمع المعلومات وقياس المتغيرات data collection and Variables: Examination

تم جمع المعلومات السريرية والمخبرية عبر تقارير بزل النقي والتنميط الخلوي المناعي والنمط النووي المجراة لمرضى الابيضاض النقوي الحاد الذين تم ادخالهم في الدراسة .

وتم اجراء تحديد لوجود او عدم وجودة طفرات FLT-3 عبر تطبيق تقنية PCR

تم دراسة متغيرين اساسيين :

١- وجود طفرات FLT-3 وهي تشكل المتغير المستقل . وتم قياسه عبر تطبيق اختبار ستودينت للعينات المرتبطة Student paird –test

٢- الاستجابة للمعالجة : وهي تمثل المتغير التابع . وتم دراسة الارتباط مابين وجود الطفرة ومابين الاستجابة للمعالجة .

٣- كما تم دراسة كل من المتغيرات التالية : النمط النووي . التنميط الخلوي. تعداد الكريات البيض عند التشخيص . EFS . OS . اصابة سريرية (عصبية ، ضخامات حشوية) .

2-6 التحليل الاحصائي Statistical analysis

قمنا باستخدام الاساليب الاحصائية التالية بالاعتماد على الحزمة الاحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical Package for the Social Sciences(SPSS) النسخة ٢٥ لتحليل البيانات

شملت هذه الدراسة العملية إحصاءات وصفيّة (شرح وصفي) لكل المتغيرات التي دخلت في الدراسة وذلك باستخدام برنامج التحليل الإحصائي (SPSS v.25).

تم تحليل بيانات الحالة باستخدام الاختبارات التالية:

١. Normality Tests
٢. Frequencies
٣. Descriptiveب
4. Cross tab

2-7 وصف افراد عينة الدراسة :

في هذا القسم تم اجراء دراسة وصفية لجميع الحالات الواردة الى مشفى الاطفال الجامعي بدمشق ووحدة بسمة التخصصية والذين شخص لديهم ابيضا ض نقوي حاد مع نمط نووي طبيعي .

٣-٣ الدراسة الاحصائية :

قامت الدراسة الاحصائية على قسمين، أولهما الدراسة الاحصائية الوصفية وثانيهما الدراسة الاحصائية الاستدلالية وذلك كما يلي:

- **<u>الدراسة الاحصائية الوصفية</u>**:

١. ايجاد بعض المعاير الاحصائية الخاصة بالمتغيرات الرقمية (المتوسط-الانحراف المعياري-الحد الادنى-الحد الاعلى) وذلك للمتغيرات

a. العمر
b. WBC تعداد الكريات البيض

c. HB الخضاب

d. PLT الصفيحات

٢. تحديد الفئات باستخدام الاعداد والنسب المئوية للمتغيرات الفئوية

a. الجنس

b. AML الابيضاض النقوي الحاد

c. CR الهجوع التام

d. EFS

e. ضخامات حشوية

f. اصابة عصبية

g. OS

- **<u>الدراسة الاحصائية الاستدلالية</u>:**

١. البحث في احتمال وجود علاقة ما بين وجود طفرات FLT-3 وقيمة EFS.

٢. البحث في احتمال وجود علاقة ما بين وجود طفرات FLT-3 وقيمة OS.

٣. البحث في احتمال وجود علاقة ما بين وجود طفرات FLT-3والاستجابة للعلاج CR.(حدوث الهجوع التام)

٤. البحث في احتمال وجود علاقة ما بين تعداد الكريات والاستجابة للعلاج (حدوث الهجوع التام) CR.

الفصل الثالث : نتائج الدراسة Study Results

3-1 عينة الدراسة Study Specimen :

شملت عينة الدراسة (49) طفلاً من اصل (٦٠) حالة قبلوا في مشفى الاطفال الجامعي بدمشق ووحدة بسمة التخصصية في العام ٢٠١٩ والمشخص لديهم ابيضاض نقوي حاد.

المعلومات التي تم جمعها تتعلق بمرضى الاطفال المصابين بالابيضاض النقوي الحاد وتم وفق ورقة الاستمارة التالية :

ورقة استبيان	
اسم المريض:	
العمر :	
السكن :	
رقم الاضبارة :	
نوع المرض :	
نمط المرض :	
وجود ضخامات حشوية : نعم /لا	
طفرة FLT-3/ITD +/- :	
'طفرة FLT3/TKD: +/-	
تعداد الكريات البيض عند القبولWBC:	
الخضاب عند القبول :HB	
عدد الصفيحات عند القبول :PLT	
الاستجابة للعلاج : نعم /لا	
٣</٣>EFS:	

OS:>٣ / <٣	

وتم استخدام هذه المعلومات المجموعة لاجراء الدراسة التوصيفية لها .

توافرت شروط الادخال لدى (٤٩) مريض ممن راجعوا مشفى الاطفال الجامعي او وحد ة بسمة التخصصية وتوافرت لديهم ابيضاض نقوي حاد مع نمط نووي طبيعي.

<u>الاحصاء الوصفي</u>

١. توزع العينة بحسب العمر :

بلغ عدد المرضى الاطفال الذين شخص لهم ابيضاض نقوي حاد مع نمط نووي طبيعي ٤٩ مريضاً . تراوحت اعمارهم بين ٤ أشهر كحد ادنى و١٨ سنة كحد أعلى . وكان متوسط الاعمار ٧،٧٧ سنة .بلغت نسبة الاطفال دون السنة والمصابين ب AML (٤،١%) ونسبة الاطفال الذين تراوحت اعمارهم بين (١−١٠) سنوات (٥٩،٢%) وهي النسبة الاعلى ، اما الاطفال الذين كانت اعمارهم اكبر من ١٠ سنوات فبلغت نسبتهم (٣٦,٧%) ، والجدول (١) و (٢) يبينان توزع العينة بحسب العمر .

الفئات العمرية	العدد	النسبة المئوية
أقل من سنة	٢	%٤،١
١ – ١٠ سنوات	٢٩	%٥٩،٢
أكبر من ١٠ سنوات	١٨	%٣٦،٧

جدول (١) توزع المرضى حسب الفئات العمرية

جدول (٢) يبيّن توزع العينة بحسب العمر

العمر (بالسنوات)	العدد	متوسط	انحراف معياري	حد أدنى	حد أعلى
	٤٩	٧،٧٧	٥،٠٢	٠،٤٠	١٨

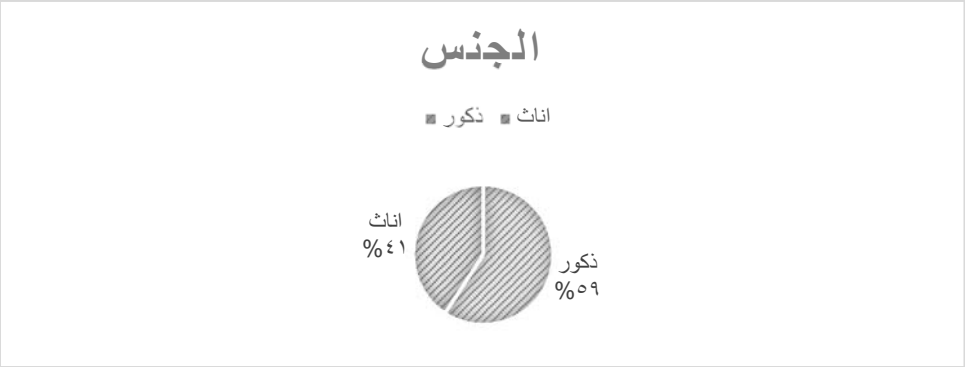
٢. توزع العينة حسب الجنس :

يبين الجدول (٣) توزع المرضى حسب الجنس . وبحسب نتائج هذا الجدول فقد بلغ عدد الذكور الذين شخص لديهم ابيضاض نقوي حاد ٢٩ مريضاً بنسبة ٥٩،٢% وهي اعلى من نسبة الاناث المشخص

لديهم ابيضاض نقوي حاد واللواتي بلغ عددهن ٢٠ مريضة وبلغت نسبتهن ٤٠،٨% .ويبين المخطط(١) توزع المرضى وفقاً للجنس .

جدول (٣) يبيّن توزع العينة بحسب الجنس.

الجنس	العدد	النسبة المئوية
ذكور	٢٩	%٥٩،٢
اناث	٢٠	%٤٠،٨
المجموع	٤٩	%١٠٠



مخطط (١).توزع المرضى حسب الجنس

٣. توزع العينة بحسب نمط AML :

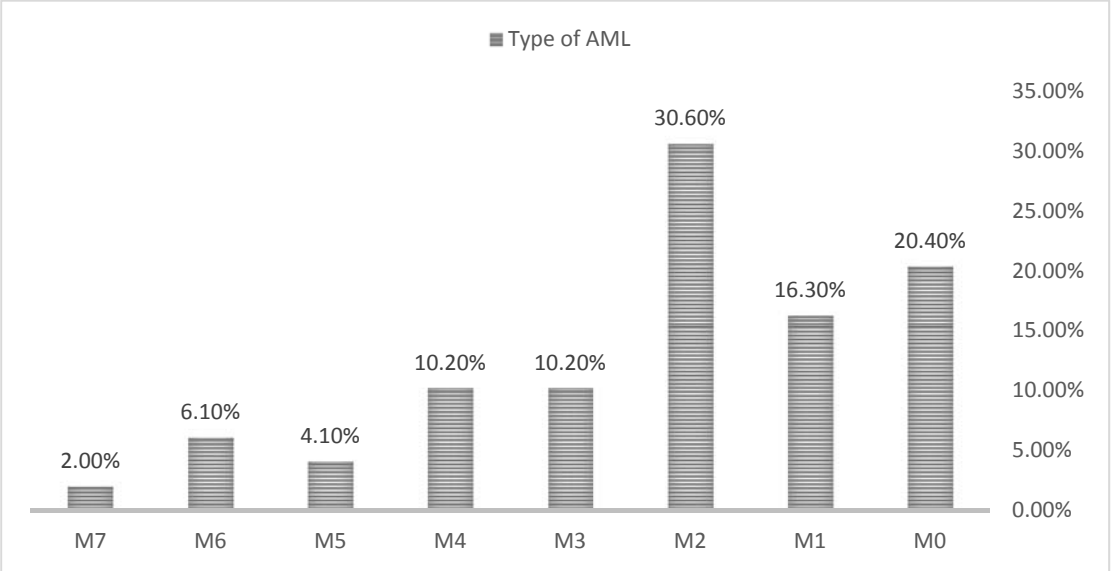
تم توزيع المرضى حسب نمط AML والذين تم تحديده وفق للمعايير الشكلية او التدفق الخلوي FCM حيث بلغت نسبة المرضى من النمط (M0) ٢٠،٤% ، ونسبة المرضى من النمط (M1) ١٦،٣% ، ونسبة المرضى من النمط (M2) ٣٠،٦% وهي النسبة الاعلى من بين الانماط الفرعية . بينما بلغت نسبة المرضى من النمط) (M3) ١٠،٢% . ونسبة المرضى من النمط (M4) ١٠،٢% . كما بلغت

نسبة المرضى من النمط (M5) ٤،١% . اما نسبة المرضى من النمط (M6) ٦،١% . وسجل حالة واحدة من النمط (M7) بنسبة ٢% . ويبين الجدول (٤) توزع المرضى وفق النمط الفرعي من AML

جدول (٤) يبيّن توزع العينة بحسب نوع .AML

Type of AML	العدد	النسبة المئوية
M0	١٠	%٢٠،٤
M1	٨	%١٦،٣
M2	١٥	%٣٠،٦
M3	٥	%١٠،٢
M4	٥	%١٠،٢
M5	٢	%٤،١
M6	٣	%٦،١
M7	١	%٢
المجموع	٤٩	%١٠٠

كما يبين المخطط رقم (2) توزع المرضى وفقا للنمط الفرعي من AML



مخطط (٢).توزع المرضى وفق نمط AML

٤. توزع العينة بحسب وجود طفرات FLT-3 :

بلغ عدد المرضى المصابين بالابيضاض النقوي الحاد مع نمط نووي طبيعي مع غياب طفرات FLT-3 (٤٥) مريضا% بنسبة (٩١،٨%) . وعدد المرضى الذين لديهم ابيضاض نقوي حاد مع نمط نووي طبيعي ووجود طفرات FLT-3 (٤) مرضى بنسبة (٨،٢)% . ويبين الجدول (٥) توزع المرضى وفق وجود او غياب طفرات FLT-3 .

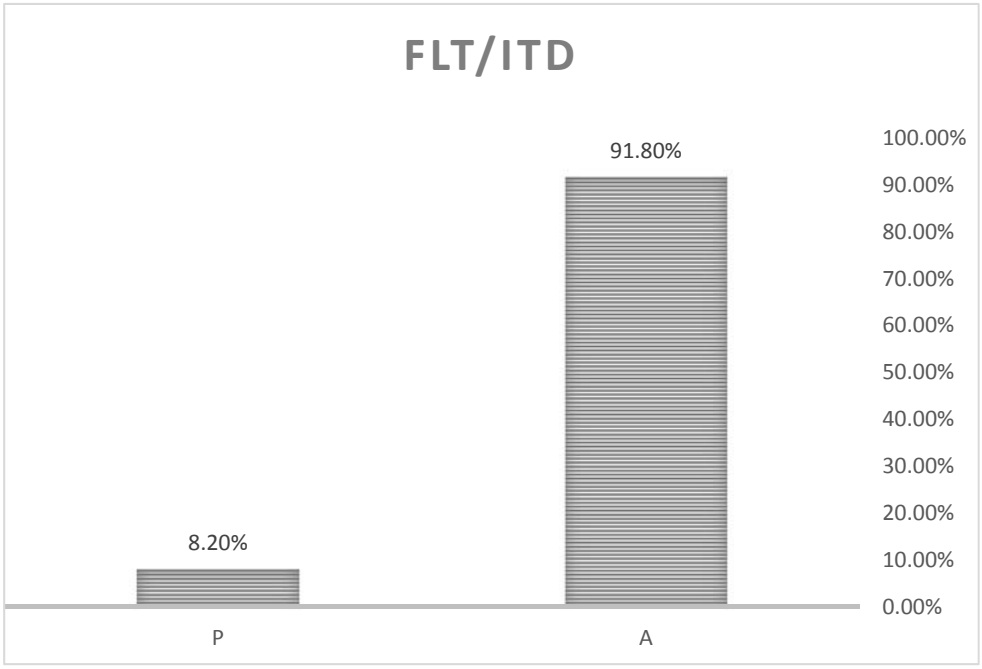
جدول (٥)يبيّن توزع العينة بحسب طفرات FLT-3

طفرات FLT-3				
	ITD		TKD	
A(Absent)	٤٥	%٩١،٨	٤٩	%١٠٠
P (positive)	٤	%٨،٢	٠	%٠
المجموع	٤٩	%١٠٠	٤٩	%١٠٠

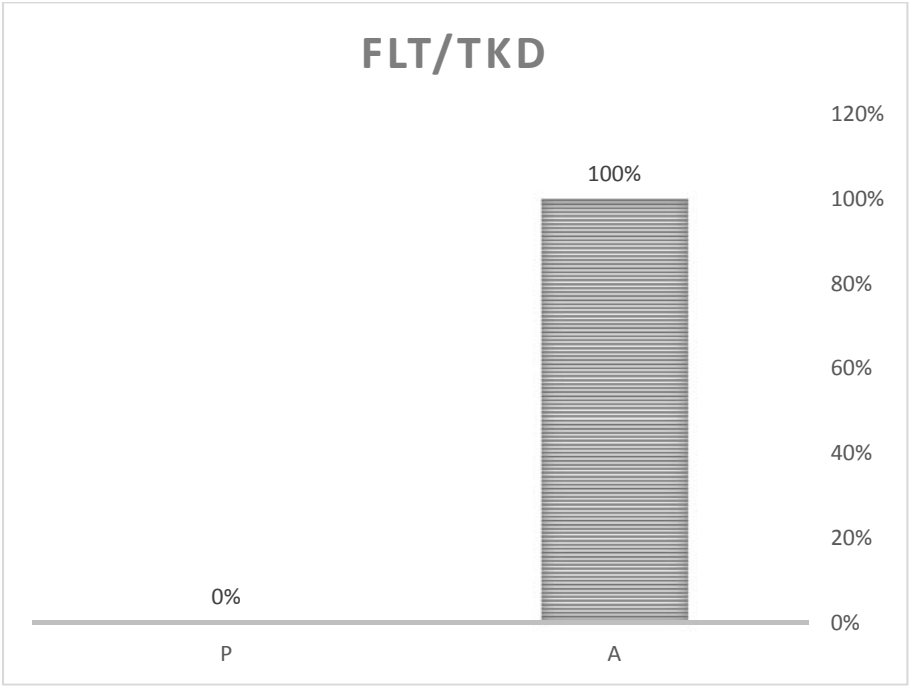
A : المجموعة غير الحاملة لطفرات FLT-3

P : المجموعة التي تبدي ايجابية طفرة FLT-3

كذلك يبين كلا من المخطط (٣) والمخطط(٤) توزع المرضى حسب كل من طفرات FLT-3



مخطط (٣).توزع المرضى حسب غياب او وجود طفرة FLT-3/ITD



مخطط (٤).توزع المرضى حسب غياب او وجودة طفرة FLT-3/TKD

٥. توزع العينة بحسب التحاليل الدموية :

تراوح تعداد الكريات البيض لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد بين (١٠٠٠) كرية كحد ادنى و(٥٧٣) الف كرية كحد اعلى مع متوسط (٥٤،٣) الف كرية وبانحراف معياري بلغ ٩٥،٨٩ .ومن حيث قيمة الخضاب فقد تراوحت مابين ٢،٧ كحد ادنى و١٢ كحد اعلى مع متوسط بلغ (٧،٥) . اما تعداد الصفيحات فقد تراوح مابين ٧ألاف كحد ادنى و ٣٤٢ ألف كحد اعلى مع متوسط (٦١،٠٢). والجدول رقم (٦) يبين هذه النتائج.

جدول ((٦) يبيّن توزع العينة بحسب التحاليل الدموية

	العدد	متوسط	انحراف معياري	حد أدنى	حد أعلى
WBC	٤٩	٥٤،٣٠	٩٥،٨٩	١	٥٧٣
HB	٤٩	٧،٥١	٢،٢٩	٢،٧٠	١٢
PLT	٤٩	٦١،٠٢	٧٠،٢١	٧	٣٤٢

٦. توزع العينة حسب وجود فرط كريات بيض :

تم تشخيص وجود فرط في الكريات البيض حسب وجود تعداد للكريات البيض اكثر من ٥٠ألف كرية تم دراسة توزع المرضى حسب وجود فرط كريات بيض اولا . بلغت نسبة المرضى الذين كان لديهم فرط كريات بيض ٣٠،٦% في حين كانت نسبة المرضى الذين لديهم تعداد كريات طبيعي أعلى حيث بلغت ٦٩،٤% . والجدول (٧) يبين هذه النتائج

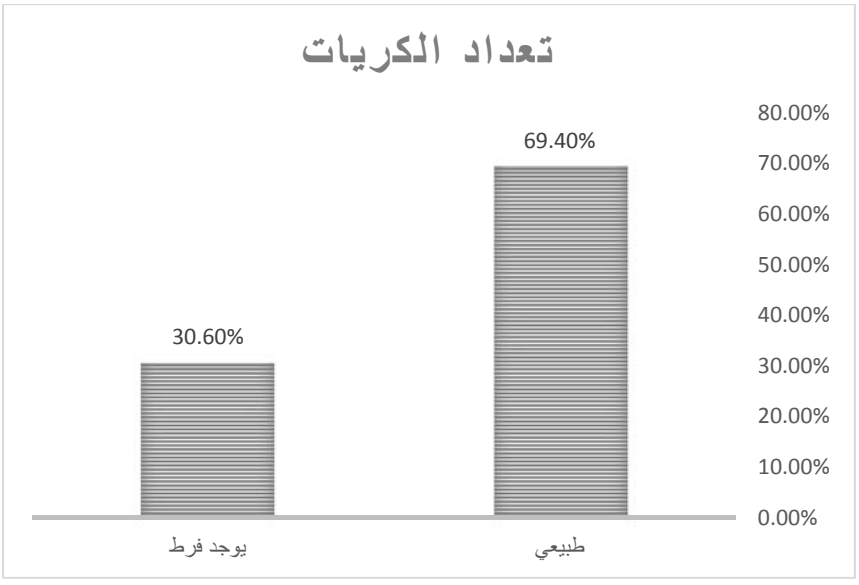
جدول (٧) يبيّن توزع العينة بحسب تعداد الكريات.

تعداد الكريات	العدد	النسبة المئوية
طبيعي	٣٤	%٦٩،٤
يوجد فرط	١٥	%٣٠،٦

سجل فرط الكريات البيض (تعداد كريات بيض أعلى من ٥٠ الف كرية /مم^3 لدى ٣ حالات من اصل ٤ من المرضى الحاملين لطفرة ITD بنسبة ٧٥% في حين تم تسجيل فرط الكريات لدى ١٢ حالة من اصل ٤٥ من المرضى الذين لايحملون طفرات FLT-3 بنسبة ٢٦،٦٦% ، وهذه يظهر ارتباطا قويا بين فرط الكريات وبين حمل طفرات FLT-3

فرط كريات	العدد	النسبة المئوية
مع طفرة ITD	٣	%٧٥
بدون طفرات FLT-3	١٢	%٢٦،٦٦

كما يبين المخطط (٥) نتائج توزع المرضى وفق وجود فرط كريات او لا .



مخطط (٥). توزع المرضى حسب وجود فرط كريات

٧. توزع العينة حسب الاستجابة للعلاج :

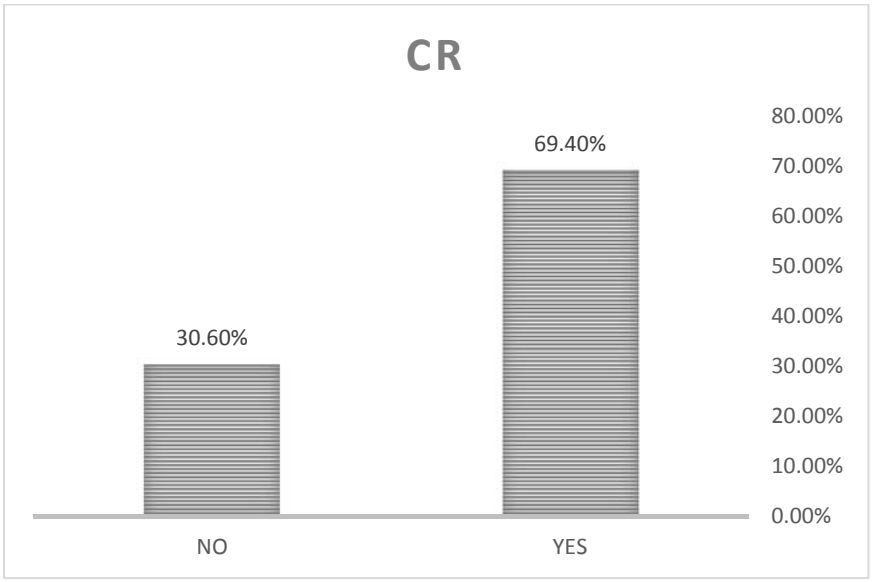
تم اعتبار وجود استجابة للعلاج وحدوث الهجوع التام (CR) موفولوجياً او من خلال قيمة MRD بعد تطبيق مرحلة INDUCTION من العلاج

بلغت نسبة المرضى الذين حدث لديهم هجوع تام في نهاية INDUCTION (٦٩،٤%) وهي اعلى من نسبة المرضى الذين لم يحدث لديهم هجوع تام والذين بلغت نسبتهم (٣٠،٦%) . والجدول (٨) يبين هذه النتائج

جدول (٨) يبيّن توزع العينة بحسب .CR

CR (هدأة كاملة)	العدد	النسبة المئوية
YES	٣٤	%٦٩،٤
NO	١٥	%٣٠،٦
المجموع	٤٩	%١٠٠

كذلك المخطط (٦) يبين توزع المرضى حسب الاستجابة للعلاج



٨. توزع العينة بحسب EFS:

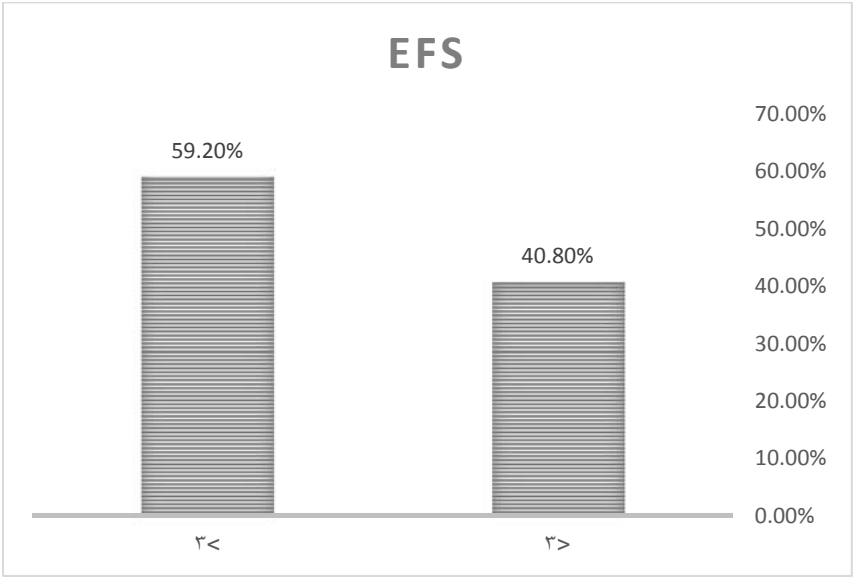
البقيا دون مراضة EFS ويعبر عنها كنسبة مئوية للحالات التي بقيت على قيد الحياة . وتم حسابها من تاريخ التشخيص وحتى حدوث نكس او وفاة لمدة (٣) سنوات .

بلغت نسبة المرضى الذين كانت لديهم قيمة EFS اقل من ٣ سنوات (٥٩،٢%) وهي اعلى من نسبة المرضى الذين كانت لديهم قيمة EFS وأكثر من ٣ سنوات والذين بلغت نسبتهم (٤٠،٨%) . والجدول (٩) يبين هذا التوزع .

جدول(٩) يبيّن توزع العينة بحسب .EFS

EFS	العدد	النسبة المئوية
اكتر من ٣	٢٠	٤٠،٨%
اقل من ٣	٢٩	٥٩،٢%
المجموع	٤٩	١٠٠%

كما يبين المخطط (٧) نتائج توزع المرضى وفق قيمة EFS



مخطط (٧).توزع المرضى وفق قيمة EFS

٩. توزع العينة بحسب :OS :

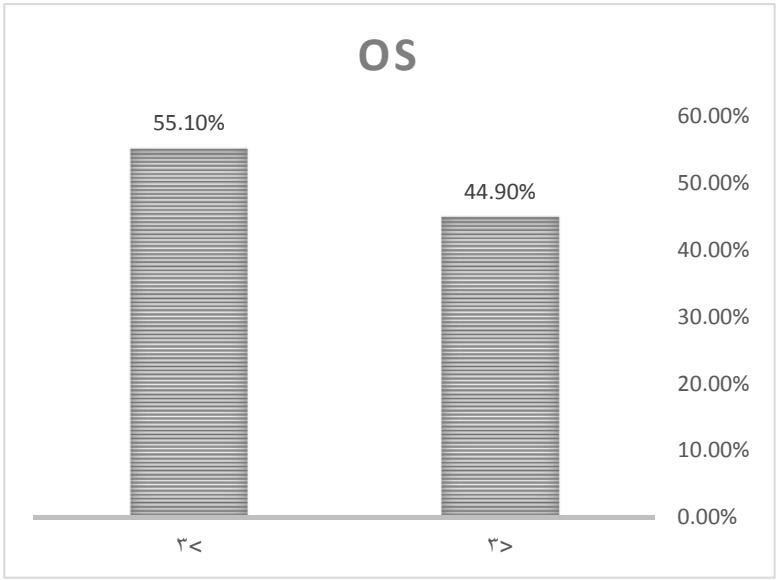
البقيا على قيد الحياة OS : وهي النسبة المئوية للحالات التي بقيت على قيد الحياة من تاريخ التشخيص وحتى الوفاة او حتى اخر تاريخ متابعة المرضى لمدة ٣ سنوات .

يبين الجدول (١٠) نتائج توزع المرضى حسب OS بعد ٣ سنوات من متابعة المرضى ، حيث بلغت نسبة المرضى الذين كانت لديهم مدةOS أعلى من ٣ سنوات (٥٥،١)% وهي اعلى قليلاً من نسبة المرضى الذين كان لديهم مدة OS أقل من ٣ سنوات والذين بلغت نسبتهم (٤٤،٩%)

جدول (١٠) يبيّن توزع العينة بحسب OS

OS	العدد	النسبة المئوية
اقل من ٣	٢٢	%٤٤،٩
اكتر من ٣	٢٧	%٥٥،١
المجموع	٤٩	%١٠٠

وكذلك المخطط (٨) يبين نتائج توزع المرضى حسب OS



مخطط (٨).توزع المرضى حسب OS

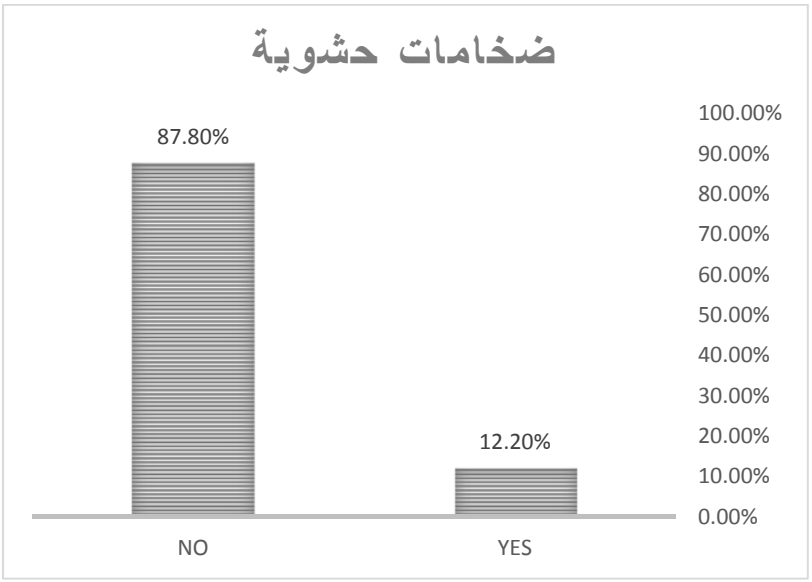
١٠.توزع العينة بحسب وجود ضخامات حشوية عند التشخيص :

بلغت نسبة المرضى الذين وجد لديهم ضخامات حشوية (ضخامة كبدية و/او ضخامة طحال \) ١٢،٢% وهي اقل بكثير من نسبة المرضى الذين لم يوجد لديهم ضخامات حشوية والذين بلغت نسبتهم (٨٧،٨%) . والجدول(١١) يبين هذه النتائج

جدول (١١) يبيّن توزع العينة بحسب وجود ضخامات حشوية.

ضخامات حشوية	العدد	النسبة المئوية
YES/وجود	٦	%١٢،٢
NO/ غياب	٤٣	%٨٧،٨
المجموع	٤٩	%١٠٠

والمخطط (٩) يبين نتائج توزع المرضى حسب وجود ضخامات حشوية



مخطط (٩).توزع المرضى حسب وجود ضخامات حشوية

١١. توزع العينة بحسب وجود اصابة عصبية او لا عند التشخيص:

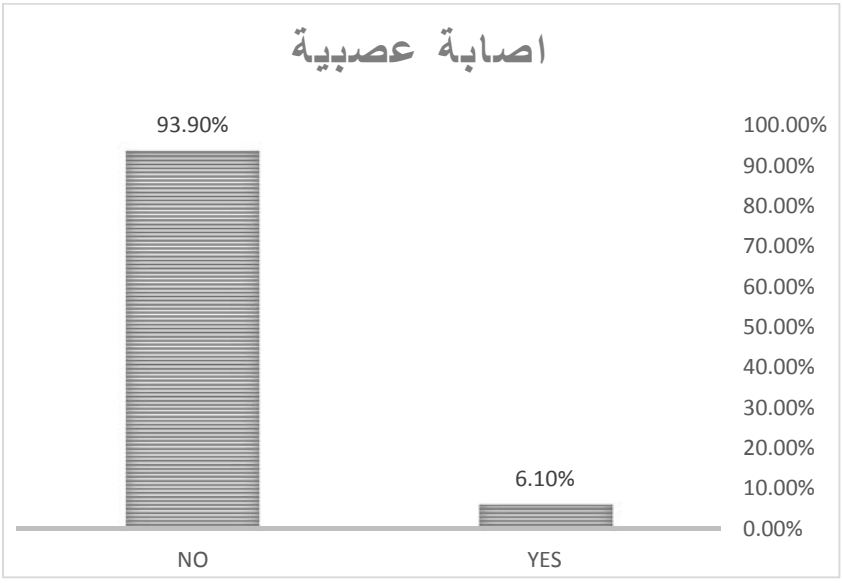
تم اعتبار وجود اصابة عصبية بناء على وجود بزل ايجابي للسائل الدماغي الشوكي (CSF) عند التشخيص

ويبين الجدول(١٢) نتائج توزع المرضى حسب وجود اصابة عصبية او لا . حيث بلغت نسبة المرضى الذين كان لديهم اصابة عصبية عند بداية التشخيص (٦،١%) . بينما بلغت نسبة المرضى بدون اصابة عصبية (٩٣،٩%)

جدول(١٢) يبيّن توزع العينة بحسب وجود اصابة عصبية.

اصابة عصبية	العدد	النسبة المئوية
YES /وجود	**٣**	**%٦،١**
NO / غياب	**٤٦**	**%٩٣،٩**
المجموع	**٤٩**	**%١٠٠**

ويبين المخطط (١٠) توزع المرضى حسب الاصابة العصبية



مخطط (١٠).توزع المرضى حسب الاصابة العصبية

الاحصاء الاستدلالي :

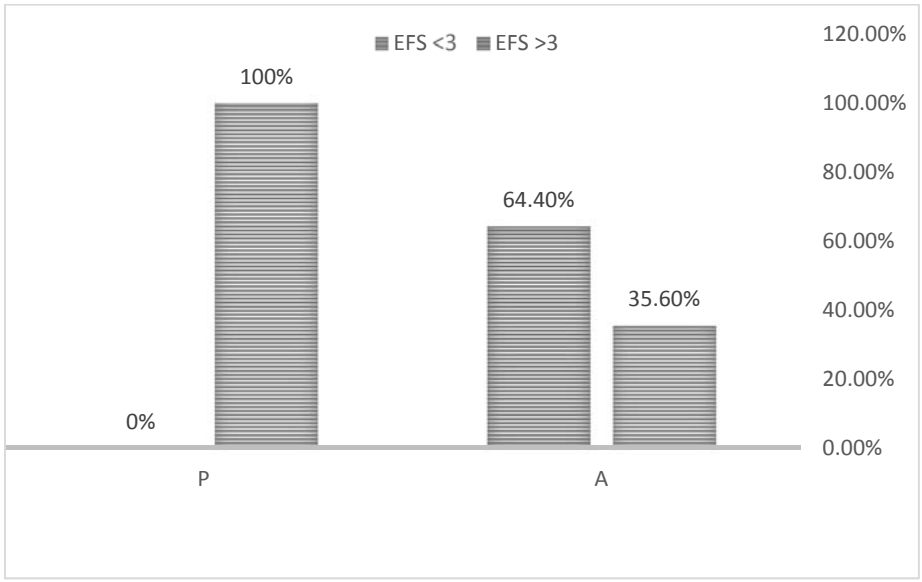
١٢.توزع العينة حسب FLT-3/ITD و EFS :

تم دراسة العلاقة بين وجود طفرة FLT-3/ITD وبين مدة EFS

جدول (١٣) يبيّن توزع العينة بحسب ((FLT/ ITDو(.(EFS

FLT/ ITD					
		A		P	
EFS	<3	١٦	%٣٥،٦	٤	%١٠٠
	>3	٢٩	%٦٤،٤	٠	%٠

باستخدام اختبار كاي مربع لبحث العلاقة في حال وجودها، تبيّن وبقيمة احتمالية معنوية بلغت (P-Value=0.012)- وهي أصغر من مستوى الدلالة (0.05)- وجود علاقة هامة احصائياً تربط المتغيريين ببعضهما، وبالتفسير للتوزع ما بينهما يتبيّن عدم وجود طفرات بنسبة كبيرة تقارب الثلثين للذين كانت قيمة (EFS) لديهم أكبر من ٣ بينما توزعت بقيت العينة (من لديهم طفرات ومن ليس لديهم) للذين كانت قيمة (EFS) لديهم أصغر من ٣.وبالتالي فان عدم وجود طفرة ITD ارتبط مع مدة EFS أكبر من ٣ سنوات . ويبين الجدول (13) آهذه النتائج .كما يبين المخطط (١١) العلاقة مابين وجود طفرة FLT-3/ITD ,وعدم وجودها ومابين EFS .



مخطط (١١).العلاقة مابين طفرة fLT-3/ITD ومابين EFS

١٣. توزع العينة بحسب FLT-3/ITD و oS :

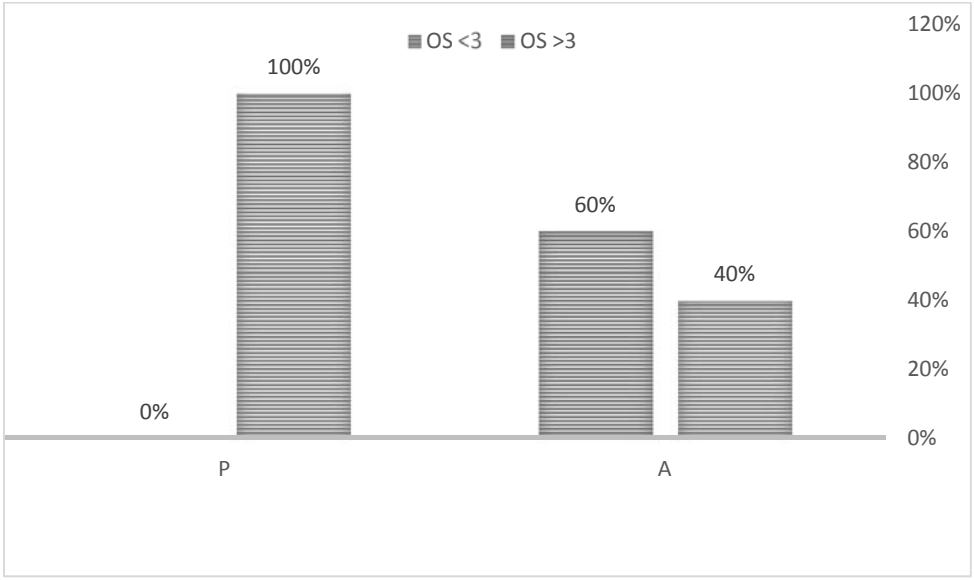
تم ايضا دراسة العلاقة مابين FLT-3/ITD ومابين OS

جدول (14) يبيّن توزع العينة بحسب (FLT/ ITD)و(.OS)

FLT/ ITD					
		A		P	
OS	<3	١٨	%٤٠	٤	%١٠٠
	>3	٢٧	%٦٠	٠	%٠

كما الفقرة السابقة استخدمنا اختبار كاي مربع لبحث العلاقة في حال وجودها ما بين (ITD) و(OS)، تبيّن وبقيمة احتمالية معنوية بلغت (P-Value=0.021)- وهي أصغر من مستوى الدلالة (0.05)- وجود علاقة هامة احصائياً تربط المتغيريين ببعضهما، وبالتفسير للتوزع ما بينهما يتبيّن عدم وجود طفرات بسنبة ٥٠% تقريباً للذين كانت قيمة (OS) لديهم أكبر من ٣ بينما توزعت بقيت العينة (من لديهم طفرات ومن ليس لديهم) للذين كانت قيمة (OS) لديهم أصغر من ٣. وهذا يعني طفرة ITD يرتبط مع مدة بقيا اقل . والجدول (14) يبين هذه النتائج .

كذلك المخطط(١٢) يبين العلاقة مابين وجود طفرة ITD ومابين مدة oS .



مخطط (١٢).العلاقة مابين طفرة ITDومابين OS

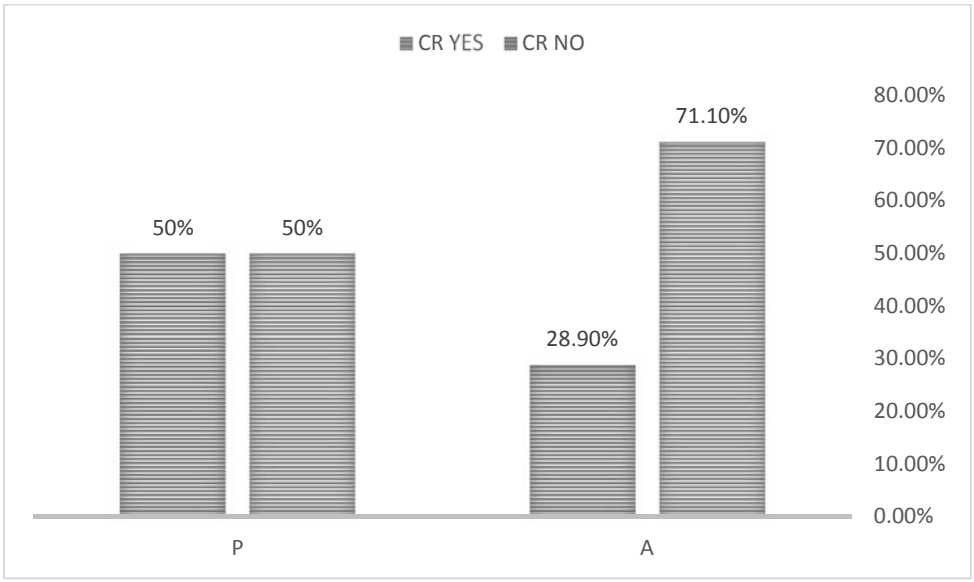
١٤. توزع العينة بحسب FLT-3/ITD ووحدوث الهجوع التام CR :

تم دراسة هل هنالك علاقة مابين وجود طفرةFLT-3/ITD ومابين حدوث الهجوع التام

جدول (15) يبيّن توزع العينة بحسب (FLT/ ITDو(.CR)

FLT/ ITD		A		P	
CR	YES/حدوث هدأة	٣٢	%٧١،١	٢	%٥٠
	NO/ عدوم حدوث الهدأة	١٣	%٢٨،٩	٢	%٥٠

من الجدول السابق (15) وباستخدام اختبار كاي مربع نجد وبحسب القيمة الاحتمالية الناتجة (P-Value=0.380) والتي هي أكبر من مستوى الدلالة عدم وجود علاقة ما بين المتغيريين.اي انه لايوجد ارتباط مابين وجود ITD ومابين حدوث الهجوع التام.والممخطط (١٣) يبين هذه النتائج ايضاً.



مخطط (١٣). العلاقة بين ITD وبين OS

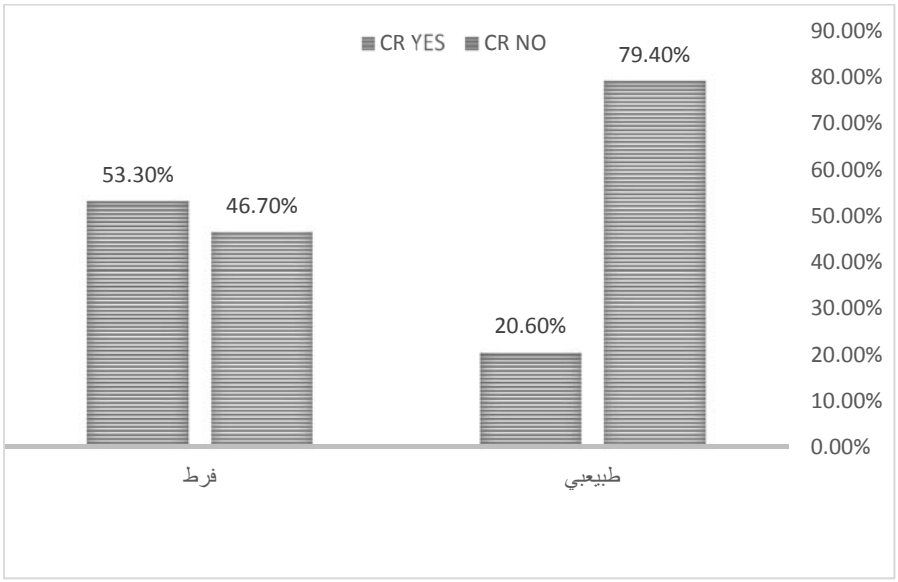
١٥. توزع العينة بحسب فرط الكريات وحدوث الهجوع التام CR :

تم دراسة ان كان هنالك ارتباط مابين وجود فرط كريات ومابين حدوث الهجوع التام في نهاية مرحلة INDUCTION

جدول(16) يبيّن توزع العينة بحسب (فرط الكريات) و(.CR)

الكريات		طبيعي		فرط كريات	
CR	YES	٢٧	%٧٩،٤	٧	%٤٦،٧
	NO	٧	%٢٠،٦	٨	٥ %٣،٣

من الجدول السابق(16) وباستخدام اختبار كاي مربع نجد وبحسب القيمة الاحتمالية الناتجة (P-Value=0.052) والتي هي أكبر من مستوى الدلالة عدم وجود علاقة ما بين المتغيريين.اي انه لايوجد ارتباط مابين وجود فرط كريات بيض ومابين حدوث الهجوع التام . والمخطط (١٤) يظهر هذه العلاقة ايضاً.



مخطط (١٤). العلاقة بين فرط الكريات البيض وبين CR

١٦.توزع العينة حسب طفرة FLT-3/ITD و الفئات العمرية :

لم تسجل طفرة FLT-3/ITD لدى الاطفال المصابين ب AML دون عمر السنة . في حين كانت الطفرة ايجابية لدى (٣) مرضى بعمر (١-١٠)سنوات بنسبة (٧٥%) ، وكانت الطفرة ايجابية لدى مريض واحد بعمر أكبر من ١٠ سنوات بنسبة (٢٥%) من مجموع المرضى .

بلغت القيمة الاحتمالية الناتجة عن اختبار علاقة FLT-3/ITD والفئات العمرية (P-VALUE = 0.679) وهي اكبر من مستوى الدلالة (٠,٠٥) وبالتالي لايوجد اي علاقة بينهما.

FLT/ ITD					
٠,٧٦٩P-value=		A		P	
	أقل من سنة	٢	%٤،٤	٠	%٠
الفئات العمرية	١ – ١٠ سنوات	٢٦	%٥٧،٨	٣	%٧٥
	أكبر من ١٠ سنوات	١٧	%٣٧،٨	١	%٢٥

جدول (17)يبين توزع العينة حسب FLT-3/ITD والفئات العمرية

١٦. توزع العينة حسب طفرة FLT-3/ITD ووجود ضخامات حشوية :

كانت طفرات FLT-3/ITD سلبية لدى جميع المرضى الذين لديهم ضخامات حشوية .

وبلغت القيمة الاحتمالية الناتجة عن اختبار علاقة FLT-3/ITD ووجود ضخامات حشوية (p-value=0.436) ، وهي اكبر من مستوى الدلالة (٠،٠٥) ، وبالتالي لايوجد اي علاقة بينهما .

FLT/ ITD					
P		A		٠,٤٣٦ P-value=	
%٠	٠	%١٣،٣	٦	YES	ضخامات
%١٠٠	٤	%٨٦،٧	٣٩	NO	حشوية

جدول (18) توزع العينة حسب FLT-3/ITD ووجود ضخامات حشوية

١٧. توزع العينة بحسب طفرة FLT-3/ITD ووجود اصابة عصبية :

وجدت طفرة FLT-3/ITD ايجابية لدى مريض واحد فقط كان لديه اصابة عصبية عند التشخيص بنسبة (٢٥%) من مجموع المرضى .

بلغت القيمة الاحتمالية الناتجة عن اختبار علاقة FLT-3/ITD ووجود اصابة عصبية (p-VALUE= 0.230) وهي اكبر من مستوى الدلالة (٠،٠٥) ، وبالتالي لايوجد اي علاقة بينهما

FLT/ ITD					
P		A		٠,٢٣٠ P-value=	
%٢٥	١	%٤،٤	٢	YES	اصابة
%٧٥	٣	%٩٥،٦	٤٣	NO	عصبية

جدول (19)توزع العيينة حسب FLT-3/ITD ووجود الاصابة العصبية

الفصل الرابع : تفسير النتائج ومناقشتها ومقارنتها مع الدراسات العالمية
Discussion

الواسمات الخلوية cytogenetic والجزيئية molecular قد حسنت من انذار المرض ووضع الخطط العلاجية .

من ضمن الافات الجزيئية الملاحظة في AML طفرات FLT-3 والتي تشكل % 30-40 من حالات AML جين FLT-3 يتنتمي الى عائلة RTK من الصف الثالث CLASS 3 ،وهو يصاب بالطفرات في ثلث حالات AML تقريبا . المرضى الذين يحملون طفرات FLT-3 لديهم خطورة عالية للنكس ومعدلات شفاء منخفضة . لذا يشكل وجودها عامل انذار سيء ، مما يجعلها هدفا علاجا جزيئيا واعدا .وقد تم تطوير العديد من مثبطات FLT-3 في السنوات القليلة الماضية اختلفت في خصائصها المثبطة للكيناز وفي حراالدوائية وفي سميتها

في دراستنا الحالية تم دراسةالمعلم الانذاري FLT-3 كمعلم انذاري وعلاجي هام لدى مرضى ال AML ، والذي قد يساهم في اقتراح علاجات جديدة لدى هولاء المرضى .

بلغ عدد الحالات التي تم قبولها في مشفى الاطفال الجامعي بدمشق ووحدة بسمة عام ٢٠١٩ (٦٠) حالة ممن شخص لديهم ابيضاض نقوي حاد . توافرت شروط الادخال لدى (٤٩) طفلا مشخص لديهم ابيضاض حاد مع نمط نووي طبيعي

تم دراسة طفرات FLT-3 ى هؤلاء المرضى الذين حققوا شروط الادخال وهي ان لديهم ابيضاض نقوي حاد ولديهم نمط نووي طبيعي

بعد ذلك قمنا بتطبيق الخطة العلاجية المتبعة في مشفى الاطفال او وحدة بسمة التخصصية ، ثم قمنا بدراسة الاستجابة للعلاج في نهاية مرحلة INDUCTION . بعدها تم متابعة المرضى لمدة ٣ سنوات لتقييم معدل البقيا دون مراضة EFS ومدة البقيا على قيد الحياة OS بعد ٣ سنوات من المتابعة

بينت النتائج ان المرضى الذين تم ادخالهم ضمن الدراسة تراوحت اعمارهم بين ٤ اشهر و ١٨ سنة ، وكان متوسط الاعمار ٧،٧٧ سنة وجميعهم شخص لديهم اصابة بالابيضاض النقوي الحاد عبر اجراء بزل نقي و FCM (IMMUNOPHENOTYPIC ANANLYSIS) . كانت نسبة المرضى الذكور 59.2%

في حين بلغت نسبة اصابة الاناث ب 40.8% . وبالمقارنة مع الدراسة العالمية الصربية [172] فقد تراوحت الاعمار مابين ٦–١٨ سنة مع معدل وسطي ١٥ سنة .

تم تحديد نمط A ML مورفولوجيا او عبر FCM ووفقا لتصنيف FAB (French-American – British) قمنا بتصنيف المرضى ضمن ٨ مجموعات فرعية.

سجل النمط M0 لدى (20.4%) من المرضى ، في حين كانت نسبة النمط M1 (16.3%) من الاطفال المصابين ب AML ، اما M2 فقد بلغت نسبتهم ٣٠,٦% ونسبة M3 ١٠,٢% ، وسجل النمط M4 نسبة وقدرها 10.2% ، وبلغت نسبة M5 ٤,١% في حين كانت نسبة النمط M6 ٦,١% . اما النمط M7 فقد كانت نسبتهم 2% . اما في الدراسة العالمية (الصربية)[172] فقد كانت نسبة الانماط الفرعية لدى المرضى كالتالي : M0 (١١%) ، M1 (١٣%) ، M2 (٢٠%) ، M3 (١٢%) ، M4 (٢٠%) ، M5a(١٥%) ، m5b(٢%) ، M3 var(١%) ، M6 (٢%) ، M7 (٢%) .

تم اجراء تحليل KARYOTYPE لتحديد النمط النووي لدى المريض ، وفي كل حالة كان النمط النووي طبيعي تم اجراء تحليل PCR لتحديد وجود او غياب طفرات FLT-3 . اوضحت الدراسة ان طفرة FLT-3/ITD كانت ايجابية لدى ٤ مرضى بنسبة ٨,٢% في حين لم تسجل طفرة FLT-3/TKD لدي اي مريض . وبالمقارنة مع الدراسات العالمية فقد بينت الدراسة العالمية (الصربية)[١٧٢] والتي شملت ١١٣ مريض ،انه تم تسجيل طفرة FLT-3/ITD بنسبة (١٧،٧%) اما طفرة FLT-3/TKD فقد سجلت لدى (4) مرضى فقط بنسبة (3.5%) وهذه النتائج لاتتوافق مع نتائجنا . اما في الدراسة (الاسبانية)[١٧٣] فقد تم تسجيل طفرة ITD لدى ٣٢ مريض من اصل ٢٠٨ بنسبة (١٥،٣٨%) وسجلت طفرة TKD لدى ١٦ حالة من اصل ٢٠٨ (٧،٦٩%) و ايضا لاتتوافق نتائجنا مع نتائج هذه الدراسة .ربما يعود الاختلاف في نسبة انتشار طفرات FLT–3 بين دراستنا والدراسات العالمية الى الاختلاف في حجم العينة وعمر الاطفال المقبولين في الدراسة .

ومن حيث ارتباط طفرات FLT-3 مع النمط الفرعي لل AML فقد اوضحت دراستنا ان طفرة FLT-3/ITD كانت ايجابية لدى مريضيين يحملان النمط الفرعي M2 ولدي حالة واحدة من النمط M3 ولدى حالة واحدة من النمط M1 . وبالمقارنة مع الدراسة العالمية (الصربية) فقد وجد مريض واحد من النمط M5 يحمل كلا الطفرتين ITD و TKD . وكانت اغلب حالات AML التي تحمل طفرات FLT-3 من النمط M2 بنسبة وصلت الى 76%. قد يكون هذا الارتباط الى كون ان النمط M2 هو النمط الاكثر شيوعاً بين أنماط الابيضاض النقوي الحاد .

تم اجراء تحاليل دموية لكل مريض عند بدء التشخيص . وبحسب انتائج الدراسة فقد تراوح تعداد الكريات البيض بين ١٠٠٠كرية/مم ٣ كحد ادنى وبين ٥٧٣الف كرية /مم٣ كحد اعلى م، وكان متوسط تعداد الكريات البيض ٥٤،٣ ألف كرية /مم٣ .و سجل فرط الكريات لدى ١٥ مريض بنسبة وصلت الى ٣٠,٦%

بالنسبة لخضاب الدم فقد تراوحت قيمته بين ٢،٧ غ/دل كحد ادنى وبين ١٢غ/دل ، مع متوسط بلغ ٧،٥١ غ /دل

اما تعداد الصفيحات تراوح مابين ٧ ألاف كحد ادنى و٣٤٢ الف كحد ادنى ، في حين بلغ متوسط تعدادهم ٦١،٠٢ الف .

تم تطبيق العلاج الكيماوي وفق البرتوكول المتبع في مشفى الاطفال وجمعية بسمة التخصصية . وتم دراسة الاستجابة للعلاج في نهاية مرحلة INDUCTION من خلال دراسة بزل النقي BM او من خلال اجراء MRD . اوضحت الدراسة انه تم تسجيل حدوث هدأة كا ملة ٣٤ مريضا من اصل ٤٩ بنسبة وصلت الى ٦٩،٤% . وقد تم اعتبار حدوث الهدأة الكاملة عندما تكون نسبة الاورومات في بزل النقي أقل من ٥% او عندما تكون قيمة MRD أقل من ٥ % .

تم متابعة المرضى لمدة ٣ سنوات من بدء الدراسة و حساب مدة EFS ومدة OS . وبحسب نتائج الدراسة فقد وجدنا ان مدة EFS كانت اقل من ٣ سنوات لدى 20 مريضا بنسبة ٤٠،٨% في حين كانت مدة EFS اكثر من ٣ سنوات لدى ٢٩ مريضاً بنسبة ٥٩،٢% .

اما من حيث مدة OS فقد اوضحت نتائج الدراسة ان مدة oS كانت اقل من ٣ سنوات لدى ٢٢ مريضاً بنسبة ٤٤،٩% ، في حين كانت مدة OS اكثر من ٣ سنوات لدى ٢٧ مريضاً بنسبة ٥٥،١% .

وبما ان مرض الابيضاض النقوي الحاد قد يترافق مع وجود ضخامات حشوية عند بدء التشخيص فقد تم دراسة وجود ضخامات حشوية لدى مرضى الدراسة وبحسب النتائج فقد وجدناا ضخامات حشوية لدى ٦ مرضى فقط وبلغت نسبتهم ١٢،٢% وهي نسبة قليلة .

اما من حيث وجود اصابة عصبية عند بدء التشخيص ، فقد بينت نتائج الدراسة تسجيل اصابة عصبية لدى ٣ حالات فقط من مرضى الابيضاض النقوي الحاد بنسبة تصل الى ٦،١ % .

سجل فرط الكريات (تعداد كريات بيض أعلى من ٥٠ الف كرية /مم٣) لدى ٣ حالات من اصل ٤ من المرضى الحاملين لطفرة ITD بنسبة (٧٥%) في حين انه تم تسجيل فرط الكريات لدى ١٢ حالة من اصل

٤٥ من المرضى الذين لايحملون طفرات FLT-3 اي بنسبة ٢٦،٦٦% . وبهذا تظهر الدراسة ارتباطاً قوياً بين فرط الكريات وبين حمل طفرات FLT-3 . وهذا مايتوافق مع نتائج الدراسة الاسبانية [١٧٣].

ايضا قمنا بدراسة العلاقة بين وجود فرط كريات وبين حدوث الهجوع التام وتبين وبحسب القيمة الاحتمالية الناتجة ((P=0.052والتي هي اكبر من مستوى الدلالة (٠،٠٥) عدم وجود علاقة مابين المتغيرين .

وكون طفرات FLT-3 هي هدف دراستنا فقد تم دراسة العلاقة مابين طفرات FLT-3 مابين الاستجابة للعلاج CR ووجدنا حسب نتائج دراستنا ان الهجوع التام حدث لدي ٢ من ٤ مرضى الذين يحملون طفرة FLT-3/ITD (٥٠%) بينما حدث الهجوع التا م لدى ٣٤ من اصل 45 مريض لايحملون طفرة FLT-3 (٧٥،٥٥%) وبالتالي فان معدل الهجوع كان اقل لدى المرضى الحاملين للطفرة FLT-3 بالمقارنة مع المرضى الغير حاملين للطفرة ، ومن خلال استخدام اختبار كاي مربع تبين انه لايوجد علاقة مابين المتغيرين : طفرة FLT-3/ITD و CR حيث بلغت قيمة P=0.380 والتي هي اكبر من مستوى الدلالة . وهذا يعني ان وجود طفرة ITD لايؤثر على الاستجابة للعلاج . وبالمقارنة مع الدراسة العالمية (الصربية)[١٧٢] فقد حدث الهجوع التام لدى ٨ مرضى من اصل ٢٤ (٣٣،٣) % والذين يحملون طفرات FLT-3 ، وكان ايضا معدل حدوث CR اقل بشكل واضح بالمقارنة مع المرضى الذين لم يكن لديهم طفرات FLT-3 (CR 54 OF 89 , 60.7%) . في حين انالدراسة الاسبانية) [١٧٣] اوضحت انه لايوجد تاثير لطفرات FLT-3 /على الاستجابة لعلاج INDUCTION وهو مايتوافق مع نتائج دراستنا

كما تم دراسة العلاقة مابين طفر ة FLT−3/ITD ومابين مدة EFS وباستخدام اختبار كاي مربع لبحث العلاقة في حال وجودها مابين FLT3/ITD ومابين EFS ، تبين ان القيمة الاحتمالية بلغت P=0.012 وهي اصغر من مستوى الدلالة (٠،٠٥) وهذا يدل على وجود علاقة هامة احصائيا مابين المتغيرين ITD وEFS . وبالتفسير يتبين ان المرضى الذين لم يكن لديهم طفرة FLT-3/ITD (والذين بلغت نسبتهم حوالي ثلثي المرضى ٦٤،٤|%) كانت مدة EFS أكبر من ٣ سنوات في حين ان جميع المرضى الذين لديهم طفرة ITD كانت مدة EFS لديهم اقل من ٣سنوات .وبالمقارنة مع نتائج الدراسة العالمية الصربية[١٧٢] فقد كانت EFS اقصر لدى المرضى الحاملين لطفرات FLT-3 حيث بلغت القيمة الاحتمالية p= 0.045. وهذا مايتوافق مع نتائج درراستنا ، وكذلك كانت نتائج الدراسة الاسبانية[١٧٣] متفقة مع نتائج دراستنا حيث اظهرت ان معدل EFS كان اقصر لدى المرضى الحاملين لطفرة ITD او TKD .

اما من حيث العلاقة مابين طفرة FLT-3/ITD ومابين مدة OS فقدد بينت نتائج دراستنا وباستخدام اختبار كاي مربع انه وبقيمة احتمالية معنوية بلغت (P=0.021) وهي اصغر من مستوى الدلالة (٠،٠٥) وجود

علاقة هامة احصائياً مابين المتغيرين ITD و OS . وبالتفسير للتوزع مابينهما يتبين ان المرضى الذين لم يكن لديهم طفرة ITD والذين بلغت نسبتهم ٥٠% كانت مدة OS لديهم اكبر من ٣ سنوات بينما جميع المرضى الذين لديهم طفرة ITD كانت مدة البقيا لديهم OS اقل من ٣ سنوات. اي ان مدة OS كانت اقل لدى المرضى الحاملين لطفرة ITD . وبالمقارنة مع الدراسة العالمية (الصربية)[١٧٢] فقد كانت مدة OS اقصر لدى المرضي الحاملين لطفرات FLT-3/ITD بالمقارنة مع المرضى الغير حاملين للطفرة حيث بلغت قيمة P=0.0031

وهكذا نجد وبحسب التحليل الاحصائي فان وجود طفرة ITD كان عاملاً انذارياً هاماً بالنسبة لكل من OS و ، EFS

محددات الدراسة : الكلفة العالية لتحليل الPCR المستخدم لتحديد طفرات FLT-3 المتابعة في دراستنا الحالية وهذه حال دون امكانية متابعة اجراء تحليل للطفرات بعد تطبيق العلاج الكيماوي وكذلك تحليل الطفرات في الحالات الناكسة . وكذلك الكلفة العالية لمثبطات fLT-3 التي يمكن ان تستخدم في علاج المرضى الذين يحملون طفر ات FLT-3 وذلك حال دون امكانية تطبيق هذه المثبطات لدى مرضى AML وتقييم دورها في العلاج .

نقاط القوة : هو البحث الاول في سورية . تحديد دور الطفرات في الانذارلدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد وهذا يضيف معايير انذارية وعلاجية جديدة لمرضى AML وامل جديد في علاج متمم.

الباب الثالث

الاستنتاج والمقترحات والتوصيات

بتحليل طفرة FLT-3 لدى ٤٩ حالة ابيضاض نقوي حاد عند الاطفال ومقارنتها مع نتائج الدراسات العالمية وجدنا ان تعبيرية هذا المعلم (نسبة حدوثه) في الخلايا الورمية تشكل نسبة غير كبيرة لدى المرضى(بلغت نسبة حدوث طفرة FLT-3/ITD 8.2% بينما لم تسجل طفرة FLT-3/TKD لدى اي مريض) . لكنها ارتبطت بشكل هام مع معدل بقيا OS ومعدل EFS اقل ،دالة على انذار اسوأ للورم وهذه الموجودات تدعم دور طفرة كمشعر في تحديد الانذار لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد ..وبالرغم من ان FLT-3/ITD هي مشعر انذاري سيء لدى مرضى AML الذين يتلقون علاج كيماوي تقليدي لكن لايبدو انها تؤثر على نتائج الاستجابة الاولية للعلاج وحدوث الهجوع التام وان دراسات اكثر وعلى عدد اكبر ممن المرضى موصى بها من اجل تقييم مدى الفائدة من اقتراح علاجات هدفية جديدة ومستقبلية متممة معتمدة على تثبيط فعالية طفرات FLT-3 للاستفادة من القيمة الانذارية لهذا المشعر

الادلة الحالية تقترح ان الموجودات التي حصلنا عليها تشكل فكرة اولية حول فهم افضل لطفرات FLT-3 الا اننا بحاجة لاجراء دراسات مماثلة على حجوم عينات اكبر مع دراسات متابعة للاستفادة من القيمة الانذارية لطفر ات FLT-3 ، لانه وعلى الرغم من تزايد البيانات حول الاهمية السريرية لطفرات FLT-3 ، لكن الاختلاف حول اهميتها الانذارية قد حال دون استخدامها في العلاج المعتمد على الخطورة .

ايضا نوصي بتقييم ظهور طفرات FLT-3 مرة اخرى عندما يحدث النكس وذلك من اجل تقييم امكانية تطبيق مثبطات FLT-3 كجزء من العلاج الانقاذي وتحديد اي نوع من المثبطات التي يمكن استخدامها في علاج الحالات الناكسة والمعندة

ونوصي باجراء طفرات FLT-3 كمشعر روتيني لدى مرضى الابيضاض النقوي الحاد لتقييم الانذار وتحديد الحالات التي ستخضع للعلاج بمثبطات FLT-3 حيث ان هذه الطفرات تشكل هدفاً جزيئياً هاماً من اجل تطوير العلاج الدوائي الذي يمكن ان يستخدم لعلاج AML وانماط اخرى من الابيضاضات .

نوصي ايضا باجراء تجارب سريرية حول امكانية استخدام مثبطات FLT-3 كعلاج وحيد او كعلاج مشارك للعلاج الكيماوي التقليدي و/او زرع الخلايا الجذعية ، لان ذلك سوف ينعكس حول ترشيد استخدام المعالجة الكيماوية وهذا بدوره سينعكس بشكل فعال على المرضى وقسم معالجة الاورام

الباب الرابع

Bibliography

1.David G Nathan , Stuart A. Orkin , David Ginsburg , A. Thomas Look , Carolyn Bennett, Korl Hsu , Myeloid Leukemia , Myelodysplasia , and Myeloproliferative DISEASE IN Children . Nathan and OSKI'S –Hematology of infancy and children . 2011; 1167-1184.

2. Toddm .cooper, Henrik Haslf , Franklin O Smith , philip A. Pizzo , David Gpoplack , Acute Myeloid Leukemia , Myeloproliferative and Myelodysplastic Disorder. Principles and Practice of Pediatric Oncology , sixth Edition . 2011 . 566-586.

3.Arber DA , Orazi A , Hasserjian R , et al . The 2016 revision to the World Health Oraganization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia . Blood. 2016 ; 127 (20): 2391-2405 .

4.Abla O , Ribeiro R . How I treat children and adolescents with acute promyelocytic leukaemia . Br J Hematol. 2014; 164(1) : 24-38. doi :http:/dx.doi.org /10. 1111/bjh.12584

5. Allen CE , Kamdar KY , Bollard CM , Gross TG . Malignant non-Hodgkin lymphomas in children. In : Pizzo PA, Poplack DG , EDS. Principles and practice of Pediatric Oncology . 7th ed . Philadelphia, PA :Wolters Kluwer; 2016: 587-603.

6. Spector LG, Xie Y, Robison LL, et al .Maternal diet and infant leukemia : the DNA topoisomerase 2 inhibitor hypothesis : a report from the children's oncology group . Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14(3):651-655.

7. Von Neuhoff C, Reinhardt D , Sander A , et al .Prognostic impact of specific chromosomal aberrations in a large group of pediatric patients with acute myeloid leukemia treated uniformly according to trial AML-BFM 98. J Clin Oncol . 2010 ; 28(16): 2682-2689.

8. Marcucci G, Mrozek K, Bloomfield CD . Molecular heterogeneity and prognostic biomarkers in adult with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics . Curr Opin Hematol 2005 ; 12(1): 68-75.

9.Mrozek K, Marcucci G, Paschka P, at al . Clinical relevance of mutations and gene-expression changes in adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics : are we ready for a prognostically prioritized molecular classification? Blood 2007; 109(2):431-448.

10.Paschka P, Marcucci G, Ruppert AS, et al. Adverse prognostic significance of KIT mutations in adult acute myeloid leukemia with inv (16) and t (8;21) : a Cancer and Leukemia Group B Study . J Clin Oncol 2006; 24(24) : 3904-3911.

11.Schlenk RF, Dohner K, Krauter J, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia . N Engl J Med 2008 ; 358(18): 1909-1918.
12 . Majeti R, Becker MW , Tian Q, et al . Dysregulated gene expression networks in human acute myelogenous leukemia stem cells . Proc Natl Sci U S A 2009; 106(9): 3396-3401.
13.Pollard JA, Alonzo TA, Gerbing RB, et al . FLT3 internal tandem duplication in CD34+ /CD33- precursors predicts poor outcome in acute myeloid leukemia . Blood 2006; 108(8): 2764-2769.
14.Langebrake C, Brinkmann I, Teigler-Schlegel A, et al. Immunophenotypic differences between diagnosis and relapse in childhood AML : implications for MRD monitoring . Cytometry B Clin Cytom 2005; 63(1): 1-9.
.
15. Marcucci G, Mrozek K, Ruppert AS, et al . Abnormal cytogenetics at date of morphologic complete remission predicts short overall and disease-free survival , and higher relapse rate in adult acute myeloid leukemia : results from cancer and leukemia group B study 8461. J Clin Oncol 2004; 22(12): 2410-2418.
16. Pabst T, Eyholzer M, Haefliger S, et al. Somatic CEBPA mutations are a frequent second event in families with germline CEBPA mutations and familial acute myeloid leukemia . J Clin Oncol 2008; 26(31) : 5088-5093.
17. Stary J, Baumann I, Creutzig U, et al. Getting the number straight in pediatric MDS : distribut-ion of subtypes after exclusion of Down syndrome . Pediatre Blood Cancer 2008; 50(2): 435-436.
18. Barbaric D, Alonzo TA, Gerbing RB, et al. Minimally differentiated acute myeloid leukemia (FAB AML-M0) is associated with an adverse outcome in children : a study from the Children's Oncology Group , studies CCG-2891 and CCG-2961. Blood 2007; 109(6) : 2314-2321.
19. Germechausen M, Ballmaier M, Welte K . Incidence of CSF3R mutations in severe congenital neutropenia and relevance for leukemogenesis : Results of long-term survey. Blood 2007; 109(1): 93-99.

20. Swerdlow SII CF, Iiarris NL, Jaffe ES, et al ., eds . Tumors of hematopoitic and lymphoid tissues (WHO classification of tumors) . Lyon : IARC , 2008.

21. Choi SW, Boxer LA, Pulsipher MA, et al . Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia with evidence of leukemic transformation . Bone Marrow Transplant 2005; 35(5): 473-477.
22. Maserati E, Pressato B, Valli R, et al . The route to development of myelodysplastic syndrome /acute myeloid leukemia in shawachman – diamond syndrome : the role of ageing karyotype instability , and acquired chromosome anomalies . Br J Haematol 2009; 145(2): 190-197.
23. Rujkijyanont P, Beyene J, Wei K, et al . Leukemia-related gene expression in bone marrow cells from patients with the preleukaemic disorder shwachman-diamond syndrome . Br J Haematol 2007; 137(6): 537-544.
24. Vlachos A, Ball S, Dahl N , et al . Diagnosing and treating diamond blackfan anaemia :results of an international clinical consensus conference . Br J Haematol 2008; 142(6): 859-876.
25. Maserati E, Panarello C, Morerio C, et al . Clonal chromosome anomalies and propensity to myeloid malignancies in congenital amegakaryocytic thrombo cytopenia (OMIM604498). Haematologica 2008; 93(8): 1271-1273..
26.Sung L , Lange B J, Gerbing RB, e10-15.t al. Microbiologically documented infections and infection-related mortality in children with acute myeloid leukemia . Blood 2007; 110(10): 3532-3539.
27. Dixit A, Chatterjec T, Mishra P, et al. Disseminated intravascular coagulation in acute leukemia at presentation and during induction therapy . Clin Appl Thromb Iiemost 2007; 13(3): 292-298.
28. Inaba H , Fan Y, Pounds S, et al . Clinical and biologic features and treatment outcome of children with newly diagnosed acute myelod leukemia and hyperleukocytosis . Cancer 2008; 113(3): 522-529.
29. Lowe EJ, Pui CH, Hancock ML, et al . Early complications in children with acute lymphoblastic leukemia presenting with hyperleukocytosis . Pediatr Blood Cancer 2005; 45(1): 10-15.
30. Rheingold S . Acute myeloid leukemia in a child with hereditary thrombocytopenia . Pediatr Blood Cancer 2007; 48(1): 105-107.
31.Gohring G, Karow A, Steinemann D, et al . Chromosomal aberrations in congenital bone marrow failure disorders- an early indicator for leukemogenesis? Ann Hematol 2007; 86(10): 733-739.
32. Fuhrer M, Rampf U, Baumann I, et al . Immunosuppressive therapy for aplastic anemia in children : a more severe disease predicts better survival . Blood 2005; 106(6): 2102-2104.
33.Kadan-Lottick NS, Kawashima T, Tomlinson G, et al . The risk of cancer in twins : a report from the childhood cancer survivor study . Pediatr Blood Cancer 2006; 46(4): 476-481.

34. Owen C, Barnett M, Fitzgibbon J . Familial myelodysplasia and acute myeloid leukaemia – a review . Br J Haematol 2008; 140(2): 123-132.
35. Creutzig U, Zimmermann M, Ritter J, et al . Treatment strategies and long-term results in paediatric patients treated in four consecutive AML-BFM trails . Leukemia 2005; 19(12): 2030-2042.
36.Smith FO, Alonzo TA, Gerbing RB, et al . Long-term results of children with acute myeloid leukemia : a report of three consecutive Phase 3 trails by the Children's Canser Group : CCG 251 ,CCG 213 and CCG 2891. Leukemia 2005 ; 19(12): 2054-2062.
37. Kardos G, Zwaan CM, Kaspers GJ , et al .Treatment strategy and results in children treated on three Dutch Childhood Oncology Group acute myeloid leukemia trails . Leukemia 2005; 19(12): 2063-2071.
38. Perel Y, Auvrignon A, Leblane T, et al . Treatment of childhood acute myeloblastic leukemia : dose intensification improves outcome and maintenance therapy is of no benefit-multicenter studies of the French LAME (Leukemia Aigue Myeloblastique Enfant) Cooperative Group . Leukemia 2005 ; 19(12): 2082-2089.
39.Gibson BE, Wheatley K, Hann IM, et al . Treatment strategy and long-term results in paediatric patients treated in consecutive UK AML trails . Leukemia 2005; 19(12): 2130-2138.
40. Ravindranath Y, Chang M, Steuber CP, et al . Pediatric Oncology Group (POG) studies of acute myeloid leukemia (AML) : a review of four consecutive childhood AML trails conducted between 1981 and 2000 . Leukemia 2005; 19(12): 2101-2116.
41. Lio SO, Abrahamsson J, Clausen N, et al . Long –term results in children with AML : NOPHO-AML Study Group – report of three consecutive trails . Leukemia 2005; 19(12): 2090-2100.
42. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the WHO classification of myeloid neoplasms and acute leukemia : rationale and important changes . Blood 2009; 114: 937-951.
43. Singh ZN, Huo D, Anastasi J, et al . Therapy-related myelodysplastic syndrome : morphologic subclassification may not be clinically relevant . Am J Clin Pathol 2007; 127(2): 197-205.
44.Schmiegelow K, Al-Modhwahi I, Andersen MK, et al . Methotrexate/6-mercaptopurine maintenance therapy influences the risk of a second malignant neoplasm after childhood acute lymphoblastic leukemia : results from the NOPHO ALL-92 study . Blood 2009; 113(24): 6077-6084.

45. Seedhouse C, Russell N . Advances in the understanding of susceptibility to treatment-related acute myeloid leukaemia . Br J Haematol 2007; 137(6): 513-529.
46. Spector LG, Xie Y, Robison LL, et al . Maternal diet and infant leukemia : the DNA topoisomerase 2 inhibitor hypothesis : a report from the children's oncology group . Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005 ; 14(3): 651-655.

47. Ho PA , Alonzo TA, Gerbing RB, et al, Prevalence and prognostic implications of CEBPA mutations in pediatric AML : a report from the Children's Oncology Group . Blood 2009; 113: 6558-6566.
48. Kim DH, Lee NY , Sung WJ, et al . Multidrug resistance as a potential prognostic indicator in acute myeloid leukemia with normal karyotypes . Acta Haematol 2005; 114(2): 78-83.
49. Molina-Arcas M, Marce S, Villamor N, et al . Equilibrative nucleoside transporter-2 (h ENT2) protein expression correlates with ex vivo sensitivity to fludarabine in chronic lymphocytic leukemia cells . Leukemia 2005; 19(1) : 64-68.
50. Lange BJ, Smith FO, Feusner J, et al . Outcomes in CCG-2961 , a children's oncology group phase 3 trail for untreated pediatric acute myeloid leukemia : a report from the children's oncology group . Blood 2008; 111(3): 1044-1053.
51. Aplene R, Alonzo TA, Gerbing RB, et al . Safety and efficacy of gemtuzumab ozogamicin in combination with chemotherapy for pediatric acute myeloid leukemia : a report from the Children's Oncology Group . J Clin Oncol 2008; 26(14) : 2390-3295.
52. Abrahamsson J, Clausen N, Gustafsson G, et al. Improved outcome after relapse in children with acute myeloid leukemia . Br J Haematol 2007; 136(2): 229-236.
53.Faderl S, Gandhi V, O'Brien S, et al . Results of a phase 1-2 study of clofarabine in combination with cytarabine (ara-C) in relapsed and refractory acute leukemias . Blood 2005; 105(3) : 940-947.
54.MacMillan ML, Davies SM, Nelson GO, et al. Twenty years of unrelated donor bone marrow transplantation for pediatric acute leukemia facilitated by the National Marrow Donor Program . Biol Blood Marrow Transplant 2008; 14(9): 16-22.
55. Cooper T, Ayres M, Nowak B, et al . Biochemical modulation of cytarabine triphosphate by clofarabine . Cancer Chemother Pharmacol 2005; 55(4): 361-368.

56. Bunin NJ, Davies SM, Aplene R, et al . Unrelated donor bone marrow transplantation for children with acute myeloid leukemia beyond first remission or refractory to chemotherapy . J Clin Oncol 2008; 26(26): 4326-4332.
57.Aplenc R, Alonzo TA, Gerbing RB, et al . Ethnicity and survival in childhood acute myeloid leukemia : a report from the Children's Oncology Group . Blood 2006; 108(1) : 74-80.
58. Yakoub-Agha I, Mesnil F, Kuentz M, et al . Allogeneic marrow stem-cell transplantation from human leukocute antigen-identical siblings versus human leukocyte antigen-allelic-matched unrelated donors (10/10) in patients with standard-risk hematologic malignancy : a prospective study from the French Society of Bone Mrrow Transplantation and Cell Therapy . J Clin Oncol 2006; 24(36): 5695-5702.
59.Larson RA, Sievers EL, Stadtmauer EA, et al . Final report of the efficacy and safety of gem-tuzumab ozogamicin (Mylotarg) in patients with CD33-Positive acute myeloid leukemia in first recurrence . Cancer 2005; 104(7): 1442-1452.
60. Taub JW, Ge Y. Down syndrome , drug metabolism and chromosome 21 . Pediatr Blood Cancer 2005; 44(1): 33-39.
61. Tomizawa D, Tabuchi K, Kinoshita A, et al . Repetitive cycles of high-dose cytarabine are effective for childhood acute myeloid leukemia : long-term outcome of the children with AML treated on two consecutive trials of Tokyo Children's Cancer Study Group . Pediatr Blood Cancer 2007; 49(2): 127-132.
62. Lange BJ, Gerbing RB, Feusner J, et al. Mortality in overweight and underweight chidren with acute myeloid leukemia . JAMA 2005; 293(2): 203-211.
63.Chevallier P, Delaunay J, Turlure P, et al. Long-term disease-free survival after gemtuzumab , intermediate-dose cytarabine , and mitoxantrone in patients with CD33(+) primary resistant or relapsed acute myeloid leukemia . J Clin Oncol 2008; 26(32): 5192-5197.
64.Maniecki MB , Hasle H, Friis-Hansen L, et al . Impaired CD163-mediated hemoglobin-scavenging and sever toxic symptoms in patients treated with gemtuzumab ozogamicin .Blood 2008; 112(4): 1510-1514.
65. Campana D. Status of minimal residual disease testing in childhood haematological malignancies . Br J Haematol 2008; 143(4): 481-489.
66. Goulden N, Virgo P, Grimwade D. Minimal residual disease directed therapy for childhood acute myeloid leukemia : the time is now . Br J Haematol 2006; 134(3): 273-282.
67.DeAngelo DJ, Stone RM, Heaney ML, et al . Phase 1 clinical results with tandutinib (MLN518) , a novel FLT3 antagonist , in patients with acute

myelogenous leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome : safety pharmacokineties , and pharmacodynamics . Blood 2006; 108(12): 3674-3681.

68. Safaian NN, Czibere A, Bruns I , et al . Sorafenib (NEXAVAR) induces molecular remission and regression of extramedullary disease in a patient with FLT3-ITD+ acute myeloid leukemia . Leuk Res 2009; 33(2): 348-350.
69. Brown P, Levis M, Shurtleff S, et al . FLT3 inhibition selectively kills childhood acute lymphoblastic leukemia cells with high levels of FLT3 expression . Blood 2005; 105(2): 812-820.
70. Ommen HB, Nyvold CG, Braendstrup K, et al . Relapse prediction in acute myeloid leukemia patients in complete remission using WT1 as a molecular marker : development of a mathematical model to predict time from molecular to clinical relapse and define optimal sampling intervals . Br J Haematol 2008; 141(6): 782-791.
71. Knapper S, Mills KI, Gilkes AF, et al . The effects of lestaurtinib (CEP-701) and PKC412 on primary AML blasts : the induction of cytotoxicity varies with dependence on FLT3 signaling in both FLT3-mutated and wild –type cases . Blood 2006; 108(10): 3494-3503.
72. Levis M, Brown P, Smith BD, et al . Plasma inhibitory activity (PIA) : a pharmacodymamic assay reveals insights into the basis for cytotoxic response to FLT3 inhibitors . Blood 2006; 108(10): 3477-3483.
73.Jeha S, Razzouk B, Rytting M, et al . Phase2 study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute myeloid leukemia . J Clin Oncol 2009; 27(26): 4392-4397.
74.Jeha S, Gaynon PS, Razzouk BI, et al . Phase 2 study of clofarabine in pediatric patients with refractory or relapsed acute lymphoblastic leukemia . J Clin Oncol 2006; 20 (12): 1917-1923.

75. Gil L, Styczynski J, Dytfeld D, et al . Activity of bortezomib in adult de novo and relapsed acute myeloid leukemia . Anticancer Res 2007; 27(6B) : 4021-4025.
76. Vlachos A, Ball S, Dahl N , et al . Diagnosing and treating Diamond Blackfan anacmia : results Of an international clinical consensus conference J Haematol 2008; 142(6):859-876.

77. Mrozek K, Marcucci G, Paschka P, et al . Advances in molecular genetic and treatment of core-binding factor acute myeloid leukemia . Curr Opin Oncol 2008; 20(6): 711-718.
78. Brown P, McIntyre E, Rau R, et al . The incidence and clinical significance of nucleophosmin mutations in childhood AML . Blood 2007; 110(3): 979-985.
79. Thiede C, Koch S, Creutzig E, et al . Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (ANL) . Blood 2006; 107(10) : 4011-4020.
80. Balgobind BV, Raimondi SC, Harbott J, et al . Novel prognostic subgroups in childhood 11q23/MLL-rearranged acute myeloid leukemia : results of an international retrospective study. Blood 2009; 114:2489-2496.
81. Meshinchi S, Appelbaum FR . Structural and functional alterations of FLT3 in acute myeloid leukemia . Clin Cancer Res 2009; 15(13): 4263-4269.
82. Meshinchi S, Alonzo TA, Stirewalt DL, et al . Clinical implications of FLT3 mutations in pediatric AML .Blood 2006; 108(12): 3654-3661.
83. Hollink IH, Zwaan CM, Zimmermann M, et al . Favorable prognostic impact of NPM1 gene mutations in childhood acute myeloid leukemia , with emphasis on cytogenetically normal AML . Leukemia 2009; 23(2): 262-270.
84. Gale RE, Green C, Allen C, et al . The impact of FLT3 internal tandem duplication mutation level , number , size and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia . Blood 2007; 111: 2776-2784.
85. Stirewalt DL, Kopecky KJ , Meshinchi S, et al. Size of FLT-3 internal tandem duplication has prognostic significance in patients with acute myeloid leukemia . Blood 2006; 107: 3724-3726. PubMed.
86. Meshinchi S, Stirewalt DL, Alonzo TA, et al. Structural and numerical variation of FLT3/ITD in pediatric AML . Blood 2008 – 01- 117770.
.
87. Rocnik JL, Okabe R, Yu JC, et al . Roles of tyrosine 589 and 591 in STAT5 activation and trans formation mediated by FLT3-ITD . Blood 2006 ; 108:1339-1345. PubMed.
88. Brandts CH, Sargin B, Rode M, et al . Constitutive activation of Akt by FLT3 internal tandem duplications in necessary for increased survival, proliferation , and myeloid transformation . Cancer Res 2005; 65: 9643-9650. PubMed.
89. Lin P, Jones D , Medeiros L J , Chen W, Vega-Vazquez F, Luthra R. Activating FLT3 mutations are detectable in chronic and blast phase of chronic myeloproliferative disorders other than chronic myeloid leukemia . Am J Clin Pathol 2006; 126: 530-533. PubMed .

90.Chen W, Jones D, Medeiros L J, Luthra R, Lin P. Acute myeloid leukemia with FLT3 gene mutations of both internal tandem duplication and point mutation type. Br J Haematol 2005; 130: 726-728. PubMed.

.

91. Choudhary C, Schwable J, Brandts C, et al . AML-associated FLT3 kinase domain mutations show signal transduction differences compared with FLT3 ITD mutations . Blood 2005; 106: 265-273. PubMed.

92.Grundler R, Miething C, Thiede C, Peschel C, Duyster J. FLT3-ITD and tyrosine kinase domain mutants induce 2 distinct phenotypes in a murine bone marrow transplantation model . Blood 2005; 105: 4792-4799. PubMed.

93. Vempati S, Reindl C, Kaza SK, et al .Arginine 595 is duplicated in patients with acute leukemias carrying internal tandem duplications of FLT3 and modulates its transforming potential . Blood 2007; 110: 686-694. PubMed.

94.Gale RE, Green C, Allen C, et al. The impact of FLT3 internal tandem duplication mutant level, number, size, and interaction with NPM1 mutations in a large cohort of young adult patients with acute myeloid leukemia . Blood 2008; 111: 2776-2784. PubMed.

95. Meshinchi S, Polllard JA, Tsuchiya KD, Stirewalt DA, Bernstein ID, Radich J. Gene conversion is a late event in evolution of high risk AML. Am Soc Hematol Annu Meet Abstracts 2007; 110: 207.

96. Raghavan M, Smith LL, Lillington DM , et al. Segmental uniparental disomy is a commonly acquired genetic event in relapsed acute myeloid leukemia. Blood 2008; 112: 814-821. PubMed.

97. Raghavan M, Lillington DM, Skoulakis S, et al.Genome-wide single nucleotide polymorphism analysis reveals frequent partial uniparental disomy due to somatic recombination in acute myeloid leukemias. Cancer Res 2005; 65:375-378. PubMed.

98.Gupta M, Raghavan M, Gale RE, et al. Novel regions of acquired uniparental disomy discovered in acute myeloid leukemia . Genes Chromosomes Cancer 2008; 47: 729-739. PubMed.

99. Gondek LP, Tiu R , O'Keefe CL, Sekeres MA, Theil KS, Maciejewski JP. Chromosomal lesions and uniparental disomy detected by SNP arrays in MDS , MDS/MDP, MDS-derived AML. Blood 2008; 111: 1534-1542. PubMed.

100. Fitzgibbon J, Smith LL, Raghavan M, et al. Association between acquired uniparental disomy and homozygous gene mutation in acute myeloid leukemias . Cancer Res 2005; 65: 9152-9154. PubMed.

101.Thiede C, Koch S , Creutzig E, et al. Prevalence and prognostic impact of NPM1 mutations in 1485 adult patients with acute myeloid leukemia (AML) . Blood 2006;107; 4011-4020. PubMED.

102. Gale RE, Hills R, Kottaridis PD, et al. No evidence that FLT3 status should be considered as an indicator for transplantation in acute myeloid leukemia (AML) : an analysis of 1135 patients , excluding acute promuelocytic leukemia , from the UK MRC AML10 AND 12 trials. Blood 2005 ; 106: 3658-3665. PubMed.
103. Schlenk RF, Dohner K, Krauter J, et al. Mutations and treatment outcome in cytogenetically normal acute myeloid leukemia . N Engl J Med 2008; 358: 1909-1918. PubMed .
104. Levis M, Smith BD, Beran M, et al .A randomized , open-label study of lestaurtinib (CEP-107), an oral FLT3 inhibitor , administered in sequence with chemotheraby in patients with relapsed AML harboring FLT3 activating mutations: clinical response correlates with successful FLT3 inhibition . Am Soc Hematol Annu Meet Abstracts 2005; 106: 403.
105. Stone RM, DeAngelo DJ , Klimek V, et al. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in FLT3 respond to a small-molecule FLT3 tyrosine kinase inhibitor, PKC412. Blood 2005 ; 105: 54-60. PubMed.
106. Stone RM, Fischer T, Paquette R, et al. Phase 1B study of PKC412, an oral FLT3 kinase inhibitor , in sequential and simultaneous combinations with daunorubicin and cytarabine (DA) induction and high-dose consolidation in newly diagnosed patients with AML . Blood 2005; 106:404a.
107. Weisberg E, Roesel J, Furet P, Bold G, Imbach P, Florsheimer A, et al . Antileukemic effects of novel first- and second-generation FLT3 inhibitors : structure-affinity comparison . Genes Cancer. 2010; 1:1021-32.
108. Ke YY, Singh VK, Coumar MS, Hsu YC, Wang WC, Song JS, et al . Homology modeling of DFG-IN FMS-like tyrosine kinase 3 (FLT3) and structure-based virtual screeing for inhibitor identification . Sci Rep . 2015; 5: 11702.
109.Smith CC, Wang Q, Chin CS, Salerno S, Damon LE, Levis MJ, et al . Validation of ITD mutations in FLT3 as a therapeutic target in human acute myeloid leukaemia . Nature. 2012; 485: 260-3.
110. Wodicka LM, Ciceri P, Davis MI, Hunt JP, Floyd M, Salerno S, et al . Activation state-dependent binding of small molecule kinase inhibitors : structural insights from biochemistry; . Chem Biol. 2010; 17 : 1241-9.
111. Levis MJ, Perl AE, Altman JK, Cortes JE, Ritchie EK, Larson RA, et al . Results of a first-in-human , phase1/2 trail of ASP2215, a selective , potent inhibitor of FLT3/AXL in patients with relapsed or refractory (R/R) acute myeloid leukemia (AML) . J Clin Oncol. 2015; 33: 7003.
112.Fiedler W , Kayser S, Kebenko M, Janning M, Krauter J, Schittenhelm M, Gotze K, Weber D, Gohring G, Teleanu V, et al . A phase ½ study of sunitinib

and intensive chemotherapy in patients over 60 years of age with acute myeloid leukemia and activating FLT3 mutations . Br J Haematol 2015; 169:694-700.
113. Knapper S, Burnett AK, Littlewood T, Kell WJ, Agrawal S, CHOPRA R, Clark R, Levis MJ,Small D . Aphase 2 trail of the FLT3 inhibitor lestaurtinib (CEP-701) as first-line treatment for older patients with acute myeloid leukemia not considered fit for intensive chemotherapy . Blood 2006; 108: 3262-3270.
114. Levis M, Ravandi F, Wang ES, Baer MR, Perl A, Coutre S, Erba H, Stuart RK, Baccarani M, Cripe LD, et al . Results from a randomized trail of salvage chemotherapy followed by lestaurtinib for FLT3 mutant AML patients in first relapse .Blood 2009; 114: 788.
115. Knapper S, Russell N, Gilkes A, Hills RK, Gale RE, Cavenagh JD, Jones G, Kjeldsen L, Grunwald MR, Thomas I . A randomised assessment of adding the kinase inhibitor lestaurtinib to 1st-line chemotherapy for FLT3-mutated AML. Blood 2016.
116. DeAngelo DJ, Stone RM, Heaney ML, et al . Phase 1 clinical results with tandutinib (MLN518) , a novel FLT3 antagonist , in patients with acute myelogenous leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome : Safety , pharmacokinetics , and pharmacodynamics . Blood 2006; 108: 3674-3681.
117. Zarrinkar PP, Gunawardane RN, Cramer MD, Gardner MF, Brigham D, Belli B, Karaman MW, Pratz KW, Pallarres G, Chao Q, et al . AC220 is a uniquely potent and selective inhibitor of FLT3 for the treatment of acute myeloid leukemia (AML) .Blood 2009; 114: 2984-2992.
118. Cortes JE, Kantarjian H, Foran JM, Ghirdaladze D, Zodelava M, Borthakur G, Gammon G, Trone D, Armstrong RC, James J, et al . Phase 1 study og quizartinib administered daily to patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia irrespective of FMS-Like tyrosine kinase3-internal tandem duplication status . J Clin Oncol 2013; 31: 3681-3687.
119. Levis MJ, Perl AE, Dombret H, Dohner H, Steffen B, Rousselot P, Martinelli G, Estey EH, Burnett AK, Gammon G , et al . Final results of a phase 2 open-label , monotherapy efficacy and safety study of Quizartinib (AC220) in patients with FLTE-ITD positive or negative relapsed /refractory acute mueloid leukemia after second-like Chemotherapy or Hematopoietic stem cell transplantation. Blood 2012; 120:673.
120. Cortes JE, Perl AE, Dombret H, Kayser S, Steffen B, Rousselot P, Martinelli G, Estey EH, Burnett AK, Gammon G, et al . Final results of a phase 2 openl-label , Monotherapy efficacy and safety study of quizartinib (AC220) in patiens older than 60 years of age with FLT3ITD positive or negative relapsed/refractory acute myeloid leukemia . Blood 2012; 120: 48.

121. Zhang W, Konopleva M, Shi YX, McQueen T, Harris D, Ling X, Estrov Z, Quintas-Cardama A, Small D, Cortes J, et al . Mutant FLT3 : A direct target of sorafenib in acute myelogenous leukemia . J Natl Cancer Inst 2008; 100: 184-198.
122. Ravandi F, Cortes JE, Jones D, Faderl S, Garcia-Manero G, Konopleva MY, O'Brien S, Estrov Z, Borthakur G, Thomas D . Phase 1/2 study of combination therapy with sorafenib , idarubicin , and cytarabine in younger patients with acute myeloid leukemia . J Clin Oncol 2010 ; 28: 1856-1862.
123. Rollig C, Serve H, Huttmann A, Noppeney R, Muller-Tidow C, Krug U, Baldus CD, Brandts CH, Kunzmann V, Einsele H, et al . Addition of sorafenib versus placebo to standard therapy in patients aged 60 years or younger with newly diagnosed acute myeloid leukaemia (SORAML) : Amulticentre , phase 2 , randomised controlled trail . Lancet Oncol 2015; 16: 1691-1699.
124 . Al-Kali A, Cortes J, Faderl S, Jones D, Abril C, Pierce S, Brandt M, Kantarjian H, Ravandi F. Patterns of molecular response to and relapse after combination of sorafenib , idarubicin , and cytarabine in patients with FLT3 mutant acute myeloid leukemia . Clin Lymphoma Myeloma Leuk 2011; 11:361-366.
125. Rollig C, Muller-Tidow C, Huttmann A, Noppeney R, Kunzmann V, Baldus CD, Brandts CH, Kramer A, Schafer-Eckart K, Neubauer A, et al . Sorafenib versus placebo in addition to standard therapy in younger patients with newly diagnosed acute myeloid leukemia : results from 267 patients treated in the randomized placebo-controlled SAL-Soraml trail . Blood 2014; 124:6.
126. Stone RM, Fischer T, Paquette R, Schiller G, Schiffer CA, Ehninger G, Cortes J, Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Huntsman –Labed A . Phase 1B study of the FLT3 kinase inhibitor midostaurin with chemotherapy in younger newly diagnosed adult patients with acute myeloid leukemia . Leukemia 2012; 26: 2061-2068.
127. Fischer T, Stone RM, Deangelo DJ, Calinsky I, Estey E, Lanza C, Fox E, Ehninger G, Feldman EJ, Schiller GJ, et al . PHASE 2B trail of oral midostaurin (PKC412) , the FMS-like tyrosine kinase 3 receptor (FLT3) and multi-targeted kinase inhibitor , in patients with acute myeloid leukemia and high –risk myelodusplastic syndrome with either wild-type or mutated FLT3. J Clin Oncol 2010; 28: 4339-4345.
128. Ramsingh G, Weastervelt P, McBride A, Stockerl-Goldstein K, Vij R, Fiala M, Uy G, Cashen A, Dipersio JF, Abboud CN . Phase 1 study of cladribine , cytarabine , granulocyte colony stimulating factor (CLAG regimen

) and midostaurin and all-trans retinoic acid in relapsed /refractory AML. Int J Hematol 2014; 99: 272-278.
129. Stone RM, Mandrekar S, Sanford BL, Geyer S, Bloomfield CD, Dohner K, Thiede C, Marcucci G, Lo -Coco F, Klisovic RB, et al . The multi-kinase inhibitor Midostaurin (M) prolongs survival compared with placebo (p) in combination with daunorubicin (D)/cytarabine (C)induction (ind) , High-dose C consolidation (consol), and as maintenance (maint) therapy in newly diagnosed acute myeloid leukemia (AML) patients (pts) age 18-60 with FLT3 mutations (muts) : An international prospective randmized (rand) p-controlled double-blind trail . Blood 2015; 126:6.
130. Stone RM , Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, Thiede C , Prior TW, Dohner K, Marcucci G . Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with FLT3 mutation . N Engl J Med 2017 ; 377: 454-464.
131. Levis M . Midostaurin approved for FLT3-mutated AML. Blood 2017.
132. Levis MJ, Perl AE, Altman JK, Cortes JE, Ritchie EK, Larson RA, Smith CC, Wang ES, Strickland SA, Baer MR . Results of a first-in-human , phase 1 / 2 trail of AS2215, a selective , potent inhibitor of FLT3/AXL in patients with relapsed or refractory (R/R) Acute myeloid leukemia (AML) . J Clin . Oncol 2015; 7003.
133. Li C, Liu L, Liang L, Xia Z, Li Z, Wang X, McGee LR, Newhall K, Sinclair A, Kamb A . AMG925 ia a dual FLT3/CDK4 inhibitor with the potential to overcome FLT3 inhibitor resistance in acute myeloid leukemia . Mol Cancer Ther 2015; 14: 375-383.
134. Kesarwani M, Huber E, Azam M. Overcoming AC220 resistance of FLT3-ITD by SAR302503 . Blood Cancer J . 2013; 3: e 138.
135. Zirm E, Spies-Weisshart B, Heidel F, Schnetzke U, Bohmer FD, Hochhaus A, Fischer T, Scholl S . Ponatinib may overcome resistance of FLT3-ITD harbouring additional point mutations , notably the previously refractory F691I mutation . Br J Haematol . 2012; 157:483-492.
136. Lee HK, Kim HW, Lee IY, Lee J, Lee J, Jung DS, Lee SY, Park SH, Hwang H, Choi JS . G-749, a novel FLT3 kinase inhibitor , can overcome drug resistance for the treatment of agute myeloid leukemia . Blood 2014; 123: 2209-2219.
137. Smith CC, Lasater EA, Lin KC, Wang Q, McCreery MQ, Stewart WK, Damon LE, Perl AE, Jeschke GR, Sugita M . Crenolanib is a selective type 1 pan-FLT3 inhibitor . Proc . Natl . Acad . Sci . USA 2014; 111: 5319-5324.
138. Kindler T, Lipka DB, Fischer T. FLT3 as a therapeutic target in AML : still challenging after all these years . Blood . 2010; 116: 5089-102.

139. Smith CC, Lin K, Stecula A, Sali A, Shah NP . FLT3 D835 mutations confer differential resistance to type 2 FLT3 inhibitors . Leukemia . 2015; 29: 2390-2.
140. Al-Jamal HAN , Jusoh SAM, Hassan R, Johan MF . Enhancing SHP-1 expression with 5-azacytidine may inhibit STAT3 activation and confer sensitivity in lestaurtinib (CEP-701)-resistant FLT3-ITD positive acute myeloid leukemia . BMC Cancer . 2015; 15: 869.
141. Nelson EA, Walker SR, Xiang M, Weisberg E, Bar-Natan M, Barrett R, et al . The STAT5 inhibitor pimozide displays efficacy in models of acute myelogenous leukemia driven by FLT3 mutations . Genes Cancer . 2012; 3: 503-11.
142. Malumbres M, Harlow E, Hunt T, Hunter T, Lahti JM, Manning G, et al . Cyclin-dependent kinases : a family portrait . Nat Cell Biol . 2009; 11:1275-6.
143. Green AS, Maciel TT, Hospital MA, Yin C, Mazed F, Townsend EC, et al . Pim kinases modulate resistance to FLT3 tyrosine kinase inhibitors in FLT3-ITD acute myeloid leukemia . Sci Adv. 2015; 1:e1500221.
144. Stone RM, Mandrekar SJ, Sanford BL, Laumann K, Geyer S, Bloomfield CD, et al . Midostaurin plus chemotherapy for acute myeloid leukemia with a FLT3 mutation . N Engl J Med . 2017; 377: 454-64.
145. Randhawa JK, Kantarjian HM, Borthakur G, Thompson PA, Konopleva M, Daver N, Pemmaraju N, Jabbour E, Kadia TM, Estrov Z . Results of a phase 2 study of crenolanib in relapsed/refractory acute myeloid leukemia patients (Pts) with activating FLT3 mutations . Blood 2014; 124:389.
146. Weisberg E, Banerji L, Wright RD, Barrett R, Ray A, Moreno D, Catley L, Jiang J, Hall-Meyers E, Sauveur-Michel M . Potentiation of antileukemic therapies by the PI3K/PDK-1 inhibitor , BAG956:Effects on BCR-ABL and mutant FLT3-expressing cells .Blood 2008; 111:3723-3734.
147. Ikezoe T, Nishioka C, Tasaka T, Yang Y, Komatsu N, Togitani K, Koeffler HP, Taguchi H . The antitumor effects of sunitinib (formerly SU11248) against a variety of human hematologic malignancies :Enhancememt of growth inhibition via inhibition of mammalian target of rapamycin signaling . Mol . Cancer Ther. 2006; 5: 2522-2530.
148. Nishioka C, Ikezoe T, Yang J, Takeshita A, Taniguchi A, Komatsu N, Togitani K, Koeffler HP, Yokoyama A . Blockade of MEK/ERK signaling enhances sunitinib-induced growth inhibition and apoptosis of leukemia cell possessing activating mutations of the FLT3 gene. Leuk . Res 2008; 32: 865-872.

149. Williams AB, Li L, Nguyen B, Brown P, Levis M, Small D . Fluvastatin inhibits FLT3 glycosylation in human and murine cells and prolongs survival of mice with FLT3/ITD leukemia . Blood 2012; 120: 3069-79.
150. Choudhary C, Olsen JV, Brandts C, Cox J, Reddy PNG, Bohmer FD, et al . Mislocalized activation of oncogenic RTKS switches downstream signaling outcomes. Moil Cell . 2009; 36: 326-39.
151. Metzelder SK, Schroeder T, Finck A, Scholl S, Fey M, Gotze K, et al . High activity of sorafenib in FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia synergizes with allo-immune effects to induce sustained responses . Leukemia . 2012; 26: 2353-9.
152. Bazarbachi A, Labopin M, Battipaglia G, Djabali A, Passweg J , Socie G, et al . Sorafenib improves survival of FLT3-mutated acute myeloid leukemia in relapse after allogeneic stem cell transplantation : a report of EBMT acute leukemia Working Party . Haematologica. 2019; 104: e398-401.
153. Mathew NR, Baumgartner F, Braun L, O'Sullivan D, Thomas S, Waterhouse M, et al . Sorafenib promotes graft-versus-leukemia activity in mice and humans through IL-15 production in FLT3-ITD-mutant leukemia cells . Nat Med . 2018; 24: 282-91.
154. Battipaglia G, Massoud R, Ahmed SO, Legrand O, El Cheikh J, Youniss R, et al . Efficacy and feasibility of sorafenib as a maintenance agent after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for FMS-like tyrosine kinase 3 mutated acute myeloid leukemia : an update. Clin Lymphoma Myeloma Leuk . 2019; 19: 506-8.
155. Chen Y-B, Shuli L, Andrew L.A, Connolly C, Del Rio C, Valles B, Curtis M, Ballen K K , Cutler C.S, Dey BR , et al . Phase 1 Trail of Maintenance Sorafenib after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell transplantation for patients with FLT3-ITD AML. Blood 2014; 124:671.

156. Burchert A, Bug G, Finke J, Stelljes M, Rollig C, Wasch R, et al . Sorafenib as maintenance therapy post allogeneic stem cell transplantation for FLT3-ITD positive AML : RESULTS from the randomized , double-blind , placebo-controlled multicentre sormain trail . Blood . 2018; 132(su-ppl 1): 661.
157. Rollig C, Serve H, Huttmann A, Noppeney R, Muller-Tidow C, Krug U, et al . Addition of sorafenib versus placebo to standard therapy in pateints aged 60 years or younger with newly diagnosed acute myeloid leukaemia (SORAML) : a multicentre , phase 2, randomised controlled trail . Lancet Oncol . 2015; 16: 1691-9.

158. Rollig C, Serve H, Huttmann A, Noppeney R, Muller-Tidow C, Krug U, et al . The of sorafenib to standard AML treatment results in a substantial reduction in relapse risk and improved survival . Updated results from long-term follow –up of the randomized-controlled Soraml trail . Blood . 2017; 130: 721-721.
159. Cortes J, Perl AE, Dohner H, Kantarjian H, Martinelli G, Kovacsovics T, et al . Quizartinib , an FLT3 inhibitor , as mono-therapy in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukaemia : an open-label , multicentre, single-arm, phase 2 trail. Lancet Oncol . 2018; 19: 889—903.
160. Wang ES, Tallman MS, Stone RM, Walter RB, Karanes C, Jain V, et al . Low relapse rate in younger patients with newly diagnosed FLT3-mutated acute myeloid leukemia (AML) treated with crenolanib and cytarabine/anthracycline chemotherapy . Blood . 2017; 130: 566-566.
161. Perl AE, Martinelli G, Cortes JE, Neubauer A, Berman E, Paolini S, et al . Gilteritinib or Chemotherapy for Relapsed or Refractory-Mutated AML. N . Eng .J. Med . 2019; 381:1728-40.
162. Port M, Bottcher M, Thol F, Ganser A, Schlenk R, Wasem J, et al . Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication , nucleophosmin 1 , and CEBPA gene mutations for acute myeloid leukemia patients with normal karyotype and youngerthan 60 years : a systematic review and meta-analysis. Ann Hematol . 2014; 93: 1279-86.
163. Pratz KW, Sato T, Murphy KM, Stine A, Rajkhowa T, Levis M . FLT3-mutant allelic burden and clinical status are predictive of response to FLT3 inhibitors in AML . Blood . 2010; 115: 1425-32.
164. Schlenk RF, Kayser S, Bullinger L, Kobbe G, Casper J, Ringhoffer M, et al . Differential impact of allelic ratio and insertion site in FLT3-ITD –positive AML with respect to allogeneic transplantation . Blood . 2014; 124: 3441-9.
165. Garg M, Nagata Y, Kanojia D, Mayakonda A, Yoshida K, Haridas Keloth S, et al . Profiling of somatic mutations in acute myeloid leukemia with FLT3-ITD at diagnosis and relapse . Blood . 2015; 126: 2491-501.
166. Linch DC, Hills RK, Burnett AK, Khwaja A, Gale RE . Impact of FLT3(ITD) mutant allele level on relapse risk in intermediate –risk acute myeloid leukemia . Blood . 2014; 124:273-6.
167. Dohner H, Estey E, Grimwade D, Amadori S, Appelbaum FR, Buchner T , et al . Diagnosis and management of AML in adults :2017 ELN recommendations from an international expert panel. Blood . 2017; 129:424-47.
168. www.nccn.org. NCCN Clinical Oncology guidelines. Acute Myeloid Leukemia (version 2.2018). 2018.

169. Schnittger S, Bacher U, Kern W, Alpermann T, Haferlach C, Haferlach T . Prognostic impact of FLT3-ITD load in NPM1 mutated acute myeloid leukemia . Leukemia . 2011; 25:1297-304.
170. Boddu PC, Kadia TM, Garcia-Manero G, Cortes J, Alfayez M, Borthakur G, et al . Validation of the 2017 European LeukemiaNet classification for acute myeloid leukemia with NPM1 and FLT3-internal tandem duplication genotypes . Cancer . 2019; 125: 1091-100.
171. Sakaguchi M, Yamaguchi H, Najima Y, Usuki K, Ueki T, Oh I, et al . Prognostic impact of low allelic ratio FLT3-ITD and NPM1 mutation in acute myeloid leukemia . Blood Adv . 2018; 2: 2744-54.
172. Natasa Colovic , Natasa Tosic , Sanja Aveic , Marija Djuric , Natasa Milic , Valdimir Bumbasirevic , Milica Colovic , Sonja Pavlovic . Importance of early detection and follow-up of FLT-3 mutations in patients with acute myeloid leukemia .Ann Hematol . 2007.; 86: 741-747.
173. Isabel Moreno , Guillermo Martin , Pascual Bolufer , Eva Barragam , Eva Rueda , Jose Roman , Pascual Fernandez, Pilar Leon , Armando Mena, Jose Cervera, Antonio Torres , Miguel A . Sanz. Incidence and prognostic value of FLT-3 internal tandem duplication and d835 mutations in acute myeloid leukemia . Haematologica 2003 ; 88 :19-24.

الباب السادس

Appendices الملاحق

الملحق الاول

قائمة بالاختصارات الواردة ضمن الاطروحة :

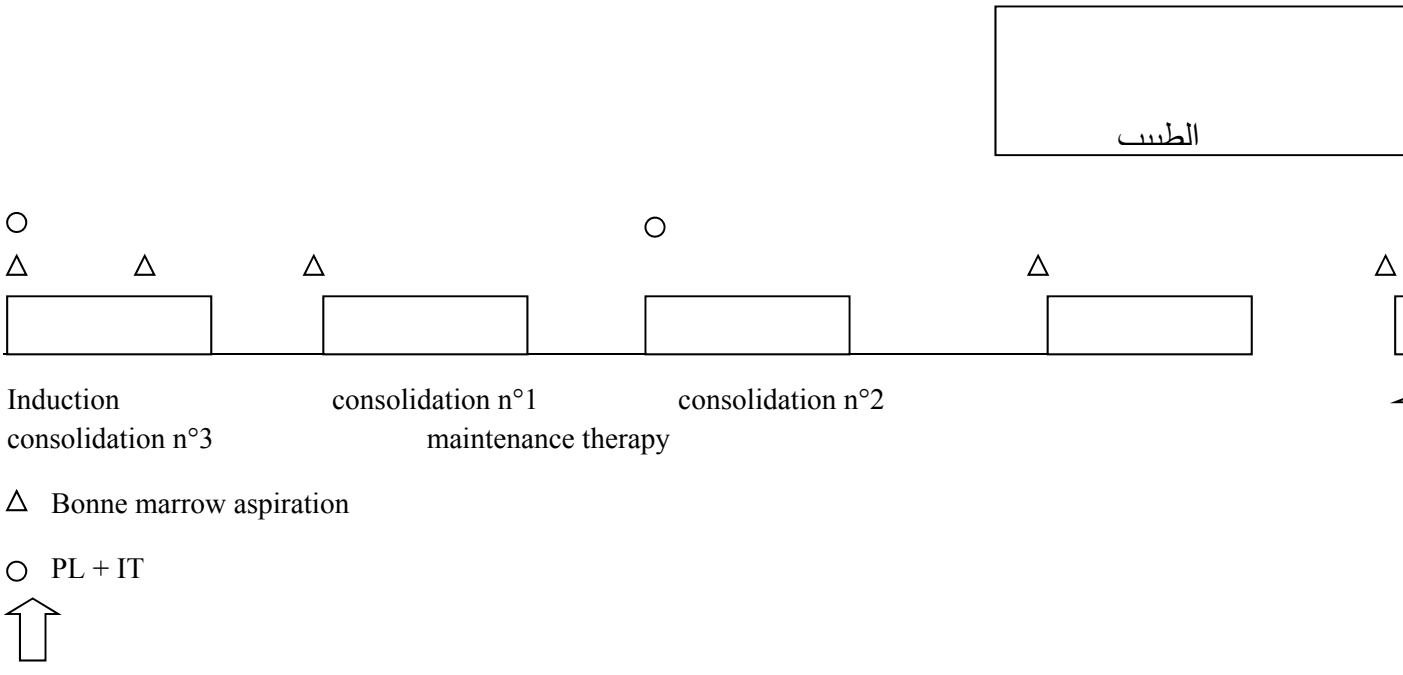
ALL	Acute lymphocytic lukemia
AML	Acute myeloid leukemia
IHC	Immunohischemistry
FCM	Flow cytometery
MRD	Minimal Residual disease
FLT-3	Fms like-tyrosine –kinase-3
PCR	Polymerase chain reaction
OS	Overall survival
EFS	Event-free survival
BM	Bone marrow
CSF	Cerebro-spinal fluid
TLP	Traumatic lumber puncture
PET-SCAN	POITION emission tomographic
FISH	Florescent in situ hypridization
LSC	Leukemic stem cells
FAB	French-American- British
WHO	WORLD – HEALTH- Organization
MPO	Myeloperoxidase
M0	AML with minimal evidence of myeloid differentiation
M1	AML without maturation
M2	AML WITH maturation
M3-APL	
M5	Acute mono blastic/monocytic leukemia
M6	AML with predominant erythroid differentiation
M7	Acute-mega karyoblastic. Leukemia (AMKL)
T	Translocation
WBC	White-blood cell- count
TLS	Tumor lysis Syndrome
DIC	Disseminated intravascular coagulation
CNS	Central nervous system
CR	Complete Remission
MRC	Medical- Research Council
POG	Pediatric –oncology –Group
RT	RADIO-THERAPY
HSCT	Heterologous Stem Cell Transplantation
MFC	Multiparameter-flow
EMD	Extramedullary –myeloid –disease
RTK	Receptor –tyrosine-kinase

SCF	Stem-cell-factor
IL-3	Interleukin-3
CML	Chronic myeloid leukemia
MDS	Myelo Dysplasic- Syndrome
ITD	Internal-tandem –duplication
TKD	Activation –loop- mutation
TKI	Tyrosine –kinase- inhibitor
DFS	Disease –free-survival

الملحق الثاني

خطة علاج الابيضاض النقوي الحاد

المخطط العام لبروتوكول الابيضاض النقوي الحاد



Radiotherapy if Age > 3years

الطبيب

Induction ELAM02

○ ◌

⇩ ⇩ ⇩

△ △

D1 D2 D3 D4 D5 D6 D7
D21

Aracytine 200 mg/m^2 IVC D1 ⟶ D٥

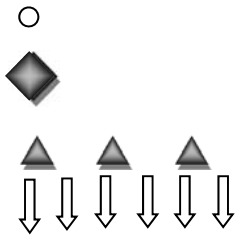
⇩ Mitoxantrone 12 mg/m^2 IVL /1h D1 ⟶ D٣

○ PL + IT , ◌ see protocole , △ Bonne marrow aspiration , Star Consolidation n° 1

IT	0-1 y	1-2 y	2-3 y	3-10 y	< 10 y
Ara-c	12 mg	15 mg	20mg	25 mg	30 mg
MTX	6 mg	8 mg	10 mg	12 mg	15 mg
HSHC	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg

Consolidation n° 1 ELAM 02:

الطبيب



D1 D2 D3 D4 D5 D6 D7

Aracytine 1000 mg/m^2 IVL /3h x 2 D1,D2,D3

Adriamycine 20 mg/m^2 IVL /2h D1 ,D2, D3

PL + IT see protocol Bonne marrow aspiration

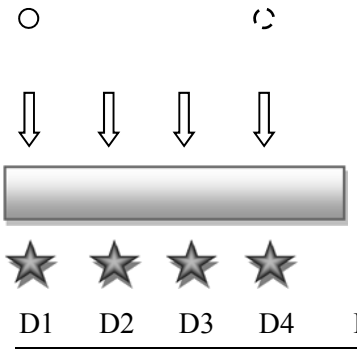
Star Consolidation n° 2

IT	0-1 y	1-2 y	2-3 y	3-10 y	< 10 y
Ara-c	12 mg	15 mg	20mg	25 mg	30 mg
MTX	6 mg	8 mg	10 mg	12 mg	15 mg
HSHC	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg

الطبب

Consolidation n° 2 ELAM 02 :

Echo Cardiac



Aracytine 200 mg/m^2 IVC D1 ⟶ D٤

Daunorubicine ٢0 mg/m^2 IVL /2h D1 ⟶ D٤

VP16 100 mg/m^2 IVL /1h D1 ⟶ D٤

PL + IT

Star Consolidation n° 3

IT	0-1 y	1-2 y	2-3 y	3-10 y	< 10 y
Ara-c	12 mg	15 mg	20mg	25 mg	30 mg
MTX	6 mg	8 mg	10 mg	12 mg	15 mg
HSHC	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg	20 mg

Consolidation n° 3 ELAM02

الطبيب

⇩ Aracytine 1000 mg/m^2 IVL / 3 h x 2 D1,D2,D8, D9

▲ Asparginase 6000 UI/m^2 IVL 1h 6h post Aracytine D2 , D9

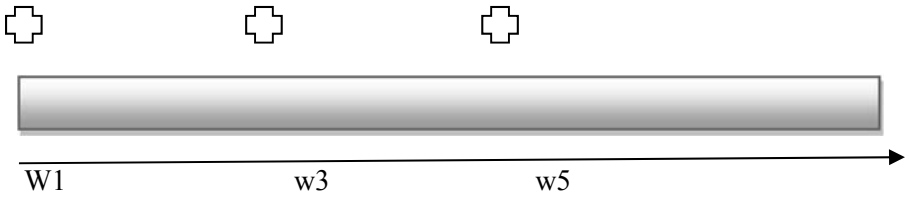
Star maintenance therapy

◆ Bonne marrow aspiration

الطبيب

المعالجة الداعمة (Maintenance therapy):

لمدة عامين كاملين



Aracytine 40 mg/m^2 SC or IV / 2 weeks

Thioguanine 40 mg/m^2 PO

Abstract

.

Introduction : Acute myelocytic leukemia is a rare disease in children ,and the patient's survival rate is still modest.in recent years , The modification in diagnostic, chemotherapy, and supportive care regimens have greatly improved the prognosis for patients with acute myelocytic leukemia (AML). However , a high percentage of children still do'nt respond to the first line of treatment or relapse and need to undergo a new treatment . Therefore , in the last years , the need to discover new agents in chemotherapy has been highlighted to overcome drug complications associated with resistance and toxicity. Among these factors is the identification of molecular mutations and cytogenetic abonrmalities and their diagnostic and therapeutic link to acute myelocytic leukemia (AML) warning . among these mutations are FLT-3 mutations .

FLT- 3 is a tumor gene ,which belong to receptors of tyrosine kinase , involved in basic hematopoitic stages as reproduction , differentiation and survival .

In recent years, FLT-3 mutations have become an important marker in hematological malignancies and have a prominent and distinctive role in AML .These mutations have been associted with clinical prognosis , treatment and survival in children .

Aim and objectives : We will analyze the occurrence of FLT-3 mutations in acute myelocytic leukemia with its different subtypes, determine their prevalencein AML patients , and study their prognostic value and its relationship to response to treatment .

Materials and methods: the study included 49 patients with acute myelocytic leukemia with normal karyotype . the patients were followed up by studing FLT-3 mutations by conducting an PCR interaction, and then the results we obtained were analyzed to determine the relationship between FLT-3 mutation and diseease prognosis , that is , is there a relationship between the presence of chanes in FLT-3 gene and response to treatment and rate survival.

Results: the study proved that the prevalence of FLT-3 mutations among AML patients was low, the prevalence of FLT-3/ITD reached (8.2%), while the FLT-3/TKD was not recorded in any patient (0%). The study showed that there is no real correlation between the presence of FLT-3 mutations and response to treatment , where the the value of (p= 0.38), which is greater than the level of indication .However , it was found through the follow-up of patients for 3 years that there is an important relationship between the presence of FLT-3 mutations and the survival rate EFS and OS , as the (p=0.012) and (p=0.021)

respectively , and this proved that the EFS and OS rates were lower in patients who had the FLT3 mutations.

Conclusion: we can useFLT-3 mutations as a prognostic indicator in pediatric AML PATIENTS \because they clearly affect the survival rate and highlight their importance not only for their prognostic value , but for their value in selecting patients who will undergo treatment with FLT-3 –inhibitors , which constitute a new treatment line as an adjuvant therapy in AML.

KEY wards : AML , MUTATION, SURVIVAL, GENE , KARYOTYPE , CYTOGENETIC

Syrian Arab Republic

Ministry of High Education

and Scientific Research

Damascus University

Faculty of Medicine

University Children's Hospital in Damascus

The relationship between (FLT-3) Mutations and the prognosis of pediatric Acute Myeloid Leukemia

Dissertation to get PHD degree in Hematology and Tumors disease in children

Preparation

Lina Mohammad Mansour

Professor Supervisor

Professor

DR, Othman Hamdan

Supervising Assistant

Rami Jarjor

2023