



**УНИВЕРЗИТЕТ
У НИШУ**

**Универзитетска
Библиотека
"Никола Тесла"**

**UNIVERSITY
OF NIŠ**

**University
Library
"Nikola Tesla"**



**ДИГИТАЛНИ
РЕПОЗИТОРИЈУМ
УНИВЕРЗИТЕТА
У НИШУ**

**Библиотека
Дисертације**

**DIGITAL
REPOSITORY
OF THE UNIVERSITY
OF NIŠ**

Ph.D. Theses



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET



NENAD GOVEDAROVIĆ

**KOMPARATIVNA KLINIČKA, IMUNOLOŠKA, CITOGENETSKA
I KARIOMETRIJSKA ANALIZA AKUTNIH LEUKEMIJA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:
Prof. dr Dragan Mihailović

Niš, 2011.

*Veliko mi je zadovoljstvo i prijatna obaveza
da se neizmerno i iskreno zahvalim:*

*- Prof. dr Draganu Mihailoviću, mom mentoru,
koji me je uveo u tajne kariometrije i
bez čije pomoći ovaj rad ne bi bio realizovan;*

*- Prof. dr Lani Mačukanović Golubović,
za sugestije i podstrek u radu;*

*- Prof. dr Stevanu Popoviću, što se odazvao
mojoj molbi da svojim iskustvom doprinese
privođenje ovog rada kraju;*

*- Prim. dr Tomislavu Vukićeviću i kolektivu
Klinike za hematologiju za stručnu pomoć;*

*- Ing. elektronike, Miletu Randeloviću,
za pomoć oko statističke obrade podataka;*

- Mojoj porodici na podršci i razumevanju;

I Autor	
Ime i prezime:	Nenad Govedarović
Datum i mesto rođenja:	17.07.1965., Niš
Sadašnje zaposlenje:	Asistent UNO Interna medicina - hematologija Klinika za hematologiju, KC Niš
II Doktorska disertacija Naslov	Komparativna klinička, imunološka, citogenetska, i kariometrijska analiza akutnih leukemija
Broj stranica:	117
Broj šema / slika:	1/1
Broj tabela:	92
Broj grafikona:	15
Broj bibliografskih podataka:	99
Ustanova i mesto gde je rad izrađen	1. Klinika za hematologiju, Institut za patologiju i citogenetska laboratorija Dečje interne klinike, Kliničkog centra u Nišu 2. Institut za molekularnu biologiju i genetski inženjering, Beograd.
Naučna oblast:	Medicina UNO Interna medicina - hematologija
Mentor:	Prof. dr Dragan Mihailović
III Ocena i odbrana	
Datum prijave teme:	13.02.2009.
Broj odluke i datum prihvatanja doktorske disertacije:	04-623/03 04.05.2010.
Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata:	1. Prof. dr Lana Mačukanović, predsednik 2. Prof. dr Dragan Mihailović, mentor i član 3. Prof. dr Stevan Popović, član sa MF u N. Sadu
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:	1. Prof. dr Lana Mačukanović, predsednik 2. Prof. dr Dragan Mihailović, mentor i član 3. Prof. dr Stevan Popović, član sa MF u N. Sadu
Datum odbrane doktorske disertacije:	

SPISAK SKRAĆENICA KORIŠĆENIH U TEKSTU

α NAE	Alfa-naftil-acetat-esteraza
ATRA	All-trans retinoična kiselina
AML.	Akutna mijeloidna leukemija
CD.	Cluster of differentiation
DP.	Dužina preživljavanja
FAB.	Fancusko - američko - britanska klasifikacija leukemija
FLT3.	Fetal Liver Tyrosine Kinase 3
HCT	Hematokrit
Hgb	Hemoglobin
IOD.	Integrirani optički denzitet (gustina)
ITD.	Interna Tandem duplikacija
Le	Leukociti
LDH.	Laktat dehidrogenaza
KR.	Kompletna remisija
MDS.	Mijelodisplazni sindrom
MPO	Mijeloperoksidaza
MOD OD.	Modna vrednost optičkog denziteta (gustine)
OD.	Optički denzitet
PAS.	Periodic Acid Schiff
PCR.	Polimerase Chain Reaction
PR	Parcijalna remisija
SE.	Sedimentacija
SD	Standardna devijacija
SZO.	Svetska zdravstvena organizacija
SWOG.	South West Oncology Group
TMČH.	Transplantacija matične ćelije hematopoeze
TPR.	Totalni proteini
Tr.	Trombociti
VDP.	Vreme do progresije bolesti

Sadržaj

1. UVOD.....	8
2. PREGLED LITERATURE.....	9
2.1. AKUTNE LEUKEMIJE	9
2.1.1. Definicija	9
2.1.2. Epidemiologija akutne mijeloidne leukemije	9
2.1.3. Etiologija	9
2.1.4. Biološke odlike leukemijske ćelije	10
2.1.5. Klinička slika	12
2.1.6. Laboratorijski nalazi	13
2.1.7. Dijagnoza.....	13
2.1.8. Klasifikacija.....	14
2.1.9. Terapija AML	17
2.1.10. Prognoza AML	18
2.2. KVANTITATIVNA ANALIZA SLIKE U CITOLOGIJI.....	23
2.2.1. Fotometrija	23
2.2.2. Morfometrija.....	23
2.2.3. Kompjuterska analiza digitalizovane mikroskopske slike.....	24
2.2.4. Instrumenti za digitalnu obradu i analizu mikroskopske slike	25
2.3. MORFOMETRIJA JEDARA - KARIOMETRIJA	26
3. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA	27
3.1. RADNA HIPOTEZA.....	27
3.2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA	28
4. BOLESNICI I METODE RADA	29
4.1. MESTO ISTRAŽIVANJA	29
4.2. BOLESNICI.....	29
4.2.1. Distribucija bolesnika u odnosu na FAB podtip AML.....	29
4.3. METODE RADA.....	31
4.3.1. Dijagnostika.....	31
4.3.2. Ispitivanja vezana za prognozu bolesti.....	31
5. STATISTIČKA OBRADA.....	34

6. REZULTATI.....	35
6.1. KLINIČKE ODLIKE BOLESNIKA SA AML	35
6.1.1. Distribucija po starosti i polu	35
6.1.2. Simptomi i znaci bolesti	36
6.1.3. Terapija.....	36
6.1.4. Rezultati lečenja	37
6.1.5. Vreme do progresije bolesti.....	38
6.1.6. Dužina preživljavanja.....	39
6.2. LABORATORIJSKE ODLIKE.....	40
6.2.1. Hematokrit	40
6.2.2. Hemoglobin	41
6.2.3. Broj leukocita	42
6.2.4. Broj trombocita.....	49
6.2.5. Procenat blasta u kostnoj srži	50
6.2.6. Sedimentacija	51
6.2.7. Fibrinogen.....	52
6.2.8. Ukupni proteini.....	53
6.2.9. Serumski albumini.....	55
6.2.10. Serumski laktat dehidrogenaza	56
6.2.11. Serumski urati.....	57
6.3. ANALIZE IMUNOFENOTIPA	58
6.3.1. Ekspresija CD34/CD33 u zavisnosti od podtipa AML po FAB-u	58
6.3.2. Korelacija starosti bolesnika i procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija.....	59
6.3.3. Korelacija procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija.....	60
6.4. CITOGENETSKE ANALIZE	60
6.4.1. Nalaz kariotipa u odnosu na FAB podtip	61
6.4.2. Testovi korelacije kariotipa i vremena do progresije bolesti.....	62
6.5. ANALIZE FLT3 ITD	63
6.5.1. FLT3 ITD u pojedinim podtipovima AML po FAB klasifikaciji	63
6.5.2. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na vrednosti serumске laktat dehidrogenaze	64
6.5.3. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na nalaz kariotipa.....	64
6.5.4. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na vrednosti sedimentacije.....	65
6.5.5. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na prisustvo/odsustvo blasta u perifernoј krvi	65
6.5.6. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na postotak blasta u kostnoj srži	66
6.5.7. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na celularnost kostne srži.....	66
6.5.8. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na broj leukocita u perifernoј krvi ..	67
6.5.9. Ishod lečenja u zavisnosti od prisustva FLT3 ITD i hiperleukocitoze	68
6.5.10. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na broj trombocita.....	68
6.5.11. Incidencija nalaza za FLT3 ITD u odnosu na pojavu ranog relapsa	69
6.5.12. Ishod lečenja u zavisnosti od prisustva FLT3 ITD i starosti bolesnika.....	69
6.6. ANALIZE KARIOMETRIJSKIH PARAMETARA.....	70
6.6.1. Prosečni areal jedra ćelije	70
6.6.2. Obim (perimetar) jedra	71
6.6.3. Feretov dijametar	71

6.6.4. Srednja vrednost optičke gustine (OD) jedra ćelije.....	72
6.6.5. Standardna devijacija optičke gustine (SD OD).....	73
6.6.6. Modna vrednost optičke gustine jedra.....	74
6.6.7. Integrisana optička gustina (IOD) jedra	74
6.6.8. Cirkularnost jedra	75
6.6.9. Testovi korelacija kariometrijskih varijabli i starosti bolesnika.....	76
6.6.10. Korelacije kariometrijskih varijabli i procenta CD34 ⁺ ćelija	76
6.6.11. Korelacije kariometrijskih varijabli i procenta CD33 ⁺ ćelija	77
6.6.12. Korelacije kariometrijskih varijabli i nalaza u kariotipu.....	77
6.6.13. Razlike u kariometrijskim parametrima u odnosu na nalaz FLT3 ITD.....	78
6.6.14. Korelacija između kariometrijskih varijabli i vremena do progresije bolesti ..	79
6.6.15. Klaster analize kariometrijskih varijabli.....	79
6.7. KORELACIJE ISPITIVANIH PARAMETARA	
SA DUŽINOM PREŽIVLJAVANJA.....	81
6.7.1. Starost bolesnika i dužina preživljavanja (DP)	81
6.7.2. Dužina preživljavanja i vrednosti serumske laktat dehidrogenaze.....	81
6.7.3. Testovi korelacije dužine preživljavanja u odnosu na celularnost	82
6.7.4. Dužina preživljavanja i procenat CD34 i CD33 pozitivnih ćelija.....	82
6.7.5. Odnos preživljavanja i prisustva/odsustva kariotipskih anomalija.....	82
6.7.6. Testovi korelacije vremena preživljavanja i VDP	83
6.7.7. Testovi korelacije između nalaza FLT3 ITD i dužine preživljavanja	83
6.7.8. Korelacija između dužine preživljavanja i kariometrijskih varijabli.....	84
6.7.9. Analize dužine preživljavanja kod različitih klastera.....	84
6.8. KAPLAN MEIEROVE ANALIZE PREŽIVLJAVANJA	85
6.8.1. Kaplan Meierove analize dužine preživljavanja za celu grupu ispitanika.....	85
6.8.2. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika	
u odnosu na prisustvo FLT3 ITD.....	86
6.8.3. Kaplan Meierove analize preživljavanja u odnosu na citogenetski nalaz	87
6.8.4. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika	
u odnosu na FAB podtip AML	88
6.8.5. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika	
u odnosu na klaster	89
6.8.6. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika	
u odnosu na vrednost LDH	90
6.8.7. Kaplan Meierove analize preživljavanja između ispitanika	
u odnosu na broj leukocita u perifernoj krvi.....	91
6.8.8. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika	
u odnosu na postotak blasta u kostnoj srži.....	92
7. DISKUSIJA	93
8. ZAKLJUČCI.....	101
9. LITERATURA.....	102

1. UVOD

Akutna leukemija je maligna bolest akutnog toka, u čijoj osnovi leži transformacija i klonska proliferacija nezrelih ćelija hematopoeze. Iako ovaj termin obuhvata heterogenu grupu klonskih poremećaja, oni se uprkos ovoj heterogenosti, tretiraju sličnim terapijskim režimima zasnovanim na antraciklinu i citarabinu (Fernandez et Rowe, 2010).

Uvodjenjem diferencirajućih agenasa i novijih, "target" lekova usmerenih na definisani molekularni supstrat, umnogome se promenilo shvatanje u razvoju budućih strategija u terapiji akutnih leukemija.

Ipak, i pored izvesnog napretka u lečenju akutnih leukemija, krajni ishod je, kod visokog procenta bolesnika, još uvek nepovoljan. Zato su sadašnji naponi usmereni na potpunu eradikaciju malignog klona i postizanje što duže i stabilnije remisije.

Izgleda da u osnovi daljeg progressa leži bolje i potpunije poznavanje leukemijske ćelije.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. AKUTNE LEUKEMIJE

2.1.1. Definicija

Akutne leukemije (AL) su maligna oboljenja krvi koja nastaju klonalnom proliferacijom i akumulacijom matičnih ćelija mijelopoeze odnosno, limfopoeze. Leukemijski klon nastaje u kostnoj srži, a ćelije mogu imati fenotipske odlike B ili T limfocita u slučaju akutne limfoblastne leukemije, odnosno prekursora mijeloidne loze u slučaju akutne mijeloblastne leukemije (Čolović, 1999).

2.1.2. Epidemiologija akutne mijeloidne leukemije

Akutne mijeloidne leukemije (AML) su retke neoplazme (3% svih maligniteta), izrazito malignog toka i ujedno najčešći uzrok smrtnosti zbog maligniteta u životnom dobu između treće i četvrte decenije života.

Godišnje se dijagnostikuje 3,7 novih bolesnika/100 000 stanovnika, s tim što postoji porast incidencije u starijem životnom dobu na 15 novodijagnostikovanih bolesnika na 100000 u populaciji starijih od 60 godina (Deschler et Lubbert, 2006). Prosečna starost bolesnika u momentu postavljanja dijagnoze je oko 60 godina, sa lakom prevalencom muškog pola (Deschler et Lubbert, 2008)..

2.1.3. Etiologija

Od brojnih predisponirajućih činilaca publikovanih u literaturi, za tri faktora dokumentovana je jasna povezanost u etiologiji AML, a to su: visoke doze zračenja, hronična ekspozicija benzenu i hemoterapijski agensi (Levine et Bloomfield, 1992).

AML može nastati i progresijom iz drugih klonalnih poremećaja hematopoetske ćelije – hronične granulocitne leukemije, policitemije vere, idiopatske mijelofibroze ili prethodne mijelodisplazije (Snyder, 2002).

2.1.4. Biološke odlike leukemijske ćelije

a) Morfologija

Osnovni morfološki supstrat za postavljanje dijagnoze AML predstavlja nalaz mladih ćelija u kostnoj srži - blasta. Razlikuju se blasti tipa I, sa rastresitim hromatinom, izraženim jedarcima i nezrelom citoplazmom bez granulacija. Ovakav tip blasta karakterističan je za rane forme mijeloidne leukemije (AML M0 - M1). Blasti tipa II imaju do dvadesetak azurofilnih granula u citoplazmi i/ ili Auerove štapiće u citoplazmi i karakteristični su za M2 podtip. (Loffler et al., 2004). Maligni promijelociti, promonociti i monoblasti u M5 i megakarioblasti u M7 uključuju se u računanje ukupnog procenta blasta. Procenat eritroblasta preko 50% govori u prilog dijagnoze M6 (Theml et al., 2004).

b) Citohemija

Histohemijskim bojenjima (Benzidin ili Sudan B) se dokazuje mijeloperoksidaza (MPO) u primarnim granulama mijeloidnih ćelija. Bojenjem na nespecifičnu esterazu (α NAE), dokazuje se ovaj enzim u monocitnim ćelijama. U nastavku, Schiff-ovim reagensom sa perjodnom kise-linom (PAS), dokazujemo granule glikogena u mijeloidnim blastima svih tipova, ali je reakcija najintenzivnija u M5, odnosno M6 (Berger et al., 2008).

c) Imunofenotip

Korišćenjem monoklonskih antitela specifičnih za pojedine antigene determinante na površini blasta, moguća je identifikacija ćelijskog tipa koji preovladava u malignoj populaciji. Ipak, ne postoje markeri specifični za malignu mijeloidnu ćeliju. Stoga se, imunološka klasifikacija leukemija, shodno morfološkoj, zasniva na upoređivanju "obrasca" diferencijacije maligne ćelije sa diferencijacijom normalne hematopoetske ćelije (Hillman et al., 2005).

Imunološka determinacija akutnih leukemija ne korelira uvek nužno sa morfološkom prezentacijom malignih blasta, ali je, uz ostale parametre, npr. citogenetiku i molekularne

markere, od velike pomoći za diferencijalnu dijagnostiku. Najčešće upotrebljavani imunološki markeri za mijeloidne ćelije su prikazani u tabeli (Hillman et al., 2005).

Tabela 1. Markeri na mijelodinim ćelijama

CD	Svojstvo/ prisutan na:	Korisni za:
13	Mijeloidni marker	Razlikovanje AML od ALL
14	Zreli monocitni marker	Monoblastnu leukemiju
33	Rani mono i mijeloidni marker	Razlikovanje AML od ALL
34	Progenitorske ćelije	Najraniji marker, loša prognoza
41	Megakariociti	Megakarioblastnu leukemiju
45	Svi leukociti	Obično povišen u leukemijama
HLA DR	Monocitni i mijeloidni marker	Skor uvek prisutan u AML i ALL
Glikoforin	Eritroidne ćelije	Dijagnoza Eritroleukemije

d) Kariotipske odlike

Akutna leukemija je kompleksna bolest, sa znatnom fenotipskom i genotipskom heterogenošću. Opisano je preko 100 rekurentnih citogenetskih abnormalnosti kao i brojne tačkaste mutacije (Huntly et Gilliland, 2005).

Konvencionalnim citogenetskim analizama, kod oko 55% bolesnika sa AML, otkrivaju se kariotipske abnormalnosti, dok preostalih 40-45% bolesnika čine grupu sa "citogenetski normalnom AML" (Gregory et al., 2009; Scholl et al., 2009). Jedna studija na 652 bolesnika sa AML izvestila je o tesnoj korelaciji citogenetskog nalaza sa morfologijom ćelija. Tako su citogenetske abnormalnosti bile najfrekventnije u AML M0 (71%), u poređenju sa M1(49%), odnosno M2 (53%) (Klaus et al., 2004).

Trizomija 8 (+8) je najčešće opisivana numerička aberacija u svim FAB podtipovima, dok su aberacije +13, +14 i +11 bile češće vidane u AML M0–M2. Kao jedine "rekurentne" abnormalnosti opisane su balansirane translokacije, t(8;21) udružene sa AML M2, kao i t(15;17), koja se konvencionalnim analizama nalazi kod oko 92% bolesnika sa AML M3 (Liang et al., 2008).

Citogenetske analize nisu uslov za postavljanje dijagnoze bolesti, ali dokazivanjem patološkog kariotipa potvrđujemo dijagnozu za pojedine citološke podtipove (Theml et al., 2004).

e) Molekularna biologija

Fetal liver Tyrosine Kinaze 3 (FLT3), predstavlja transmembranski protein, kodiran od gena na 13q hromozomu, ispoljen na ranim hematopoetskim progenitorima hematopoeze i ima ulogu receptora za tirozin kinazu klase III. Od značaja je za normalnu hematopoezu i razvoj imunog sistema (Gari et al., 2008).

Vezivanjem tirozin kinaze 3 za ovaj receptor, dolazi do njegove autofosforilacije i aktivacije citoplazmatskih efektornih molekula uključenih u procese apoptoze, proliferacije i diferencijacije hematopoetskih ćelija u kostnoj srži (Reilly, 2003).

Mutacije FLT3 receptora se otkrivaju kod 35 - 40% bolesnika, čineći je tako najčešćom genetskom aberacijom u AML (Nakao et al., 1996; Kayser et al., 2009). Opisano je tri tipa aktivirajućih mutacija: 1) FLT3 interna tandem duplikacija (FLT3-ITD) kod 30% bolesnika (Fröhling et al., 2002), 2) tačkasta mutacija unutar domena za tirozin kinazu (FLT3-TKD) kod oko 7% bolesnika (Yamamoto et al., 2001) i 3) tačkaste mutacije unutar jukstamembranskog domena (JMD), koje se viđaju kod svega 2% bolesnika (Fröhling et al., 2007).

Iako se mutacije FLT3 mogu naći u svim podtipovima AML po FAB-u, rezultati jednog istraživanja su pokazali statistički značajno veću frekvenciju ovih mutacija u podtipu AML M5 u odnosu na podtip M2, odnosno M6 (Thiede et al., 2002).

2.1.5. Klinička slika

U vreme dijagnoze bolesti, normalna kostna srž je skoro u potpunosti zamenjena leukemijskim klonom. Anemijski sindrom je skoro uvek prisutan u vreme postavljanja dijagnoze bolesti i glavni razlog odlaska lekaru. Infektivni sindrom se kod 25% bolesnika ispoljava kao ozbiljnija infekcija respiratornog trakta ili kože, dok septikemija retko postoji pri inicijalnoj prezentaciji. Većina bolesnika ima petehijalna krvarenja, premda su ozbiljnija krvarenja retka pri postavljanju dijagnoze (Stone, 2007).

Limfadenopatija nije česta pojava u AML, ali se viđa kod petine bolesnika sa AML M5 (Miller et Daoust, 2005), dok se hepatosplenomegalija detektuje kod manje od 25% svih bolesnika sa AML. (Čolović, 1999).

2.1.6. Laboratorijski nalazi

Kod približno polovine bolesnika, u vreme postavljanja dijagnoze, ukupan broj leukocita je manji od $5 \times 10^9/L$. Povećan broj leukocita ima oko trećina bolesnika, dok je hiperleukocitoza iznad $100 \times 10^9/L$ retka i sreće se kod 5% bolesnika (Lichtmann, 2007). Kod 85% bolesnika, u perifernoj krvi su prisutni blasti. Anemija je skoro uvek prisutna, a u osnovi anemije leži neadekvatna produkcija eritrocita, krvarenje, ređe hemoliza, a u kasnijem toku, i dejstvo same citostatske terapije (Burns, 1981).

Trombocitopenija je prisutna skoro kod svih bolesnika, a kod 30% bolesnika broj trombocita je manji od $20 \times 10^9/L$.

Vrednosti laktat dehidrogenaze (LDH) su povišene kod većine bolesnika, naročito kod bolesnika sa hiperleukocitozom, dok su kod 20% bolesnika povišene i vrednosti serumskih urata (Jeha 2001; Hillman et al., 2005).

Poremećaji koagulacionih parametara se najčešće viđaju kod bolesnika sa akutnom promijelocitnom leukemijom (Lichtman, 2007).

2.1.7. Dijagnoza

Klinički znaci i simptomi AML su nespecifični, pa se dijagnoza bolesti postavlja laboratorijski. Kod 85% bolesnika blasti su prisutni u perifernoj krvi. To znači da se u preostalih 15% bolesnika dijagnoza AML ne može postaviti samo pregledom razmaza periferne krvi, te je neophodna aspiraciona punkcija kostne srži. Kostna srž je hipercelularna kod najvećeg broja bolesnika, sa više od 50% blasta kod 75% bolesnika pri dijagnozi (Čolović, 1999). Kod starijih bolesnika češći je nalaz normocelularne ili čak hipocelularne kostne srži, pri čemu je postotak blasta u srži često manji (Tuzuner et al., 1995).

2.1.8. Klasifikacija

a) Francusko-američko-britanska klasifikacija AML

Grupa francuskih, američkih i britanskih eksperata, 1976. godine predložila je klasifikaciju akutnih mijeloblastnih leukemija zasnovanu na morfoloiji ćelije i citohemijskom profilu blasta (Bennett et al., 1976).

Tabela 2. Francusko-američko-britanska (FAB) klasifikacija AML.

FAB podtip		% bolesnika
M0	Minimalno diferentovana akutna mijeloblastna leukemija	5%
M1	Akutna mijeloblastna leukemija bez sazrevanja	15%
M2	Akutna mijeloblastna leukemija sa sazrevanjem	25%
M3	Akutna promijelocitna leukemija	10%
M4	Akutna mijelomonocitna leukemija	20%
M4 eo	Akutna mijelomonocitna leukemija sa eozinofilijom	5%
M5	Akutna monoblastna leukemija	10%
M6	Akutna eritroblastna leukemija	5%
M7	Akutna megakarioblastna leukemija	5%

Ova klasifikacija je revidirana i dopunjena citogenetskim nalazom 1985. godine (Bennet et al., 1985). Kriterijum za postavljanje dijagnoze AML podrazumeva postojanje više od 30% blasta u kostnoj srži. Dalje subklasifikovanje u jedan od FAB podtipova se vrši na osnovu morfoloških i citohemijskih odlika malignih blasta (Heining-Mikesch et Lubbert, 2008), što je prikazano u tabeli.

Tabela 3. Morfološke i citohemijske odlike pojedinih podtipova AML po FAB-u.

FAB podtip	Kriterijum za dijagnozu
M0	>30 % blasta Mijeloperoksidaza (MPO) negativna ili <3% blasta MPO pozitivno Mijeloidno poreklo se dokazuje imunofenotipski
M1	>30 % blasta >3% blasta MPO pozitivno ≤10% ćelija mijeloidne loze je zrelije od promijelocita Auerovi štapići mogu biti prisutni
M2	>30 % blasta >10% ćelija mijeloidne loze je zrelije od promijelocita MPO jako pozitivni blasti <20% monocitoidnih ćelija Auerovi štapići prisutni
M3	>30 % blasta >30% blasta i promijelocita, MPO jaka pozitivnost promijelociti često abnormalne morfologije Auerovi štapići prominenti
M4	>30 % blasta monocitoidne ćelije čine ne prelaze 80% (α NAE +) M4 eos - varijanta sa \geq 5% eozinofila
M5	>80% monoblasta (α NAE +) < 20% mijeloidnih ćelija (MPO +)
M6	>30 % mijeloblasta >50 % eritroidne ćelije (PAS+)
M7	>30% megakarioblasta ili imunofenotipska indentifikacija

b) Klasifikacija AML po Svetskoj zdravstvenoj organizaciji

Konsenzusom eksperata Svetske zdravstvene organizacije (SZO), 2002. godine, predložena je nova klasifikacije akutne AML. U osnovu ove klasifikacije utkane su, ne samo morfologija već i genetika, imunofenotipske, biološke i kliničke odlike malignih blasta, čime su definisani novi entiteti (Vardiman et al., 2002).

Tabela 4. Klasifikacija akutnih mijeloidnih leukemija po SZO

<p>AML SA REKURENTNIM GENETSKIM ABNORMALNOSTIMA</p> <ul style="list-style-type: none"> • AML sa balansiranim translokacijama/iverzijama <ul style="list-style-type: none"> • AML sa t(8;21)(q22;q22) • AML sa abnormalnim eozinofilima kostne srži i • inv(16)(p13;q22) ili t(16;16)(p13;q22) • Akutna promijelocitna leukemija sa t(15;17)(q22;q12) • AML sa t(9;11)(p22;q23) • AML sa 11q23 abnormalnostima
<p>AML SA MULTILINIJSKOM DISPLAZIJOM</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nakon mijelodisplaznog (MDS) ili mijeloproliferativnog (MPB) oboljenja • Bez prethodnog MDS ili MPB
<p>AML I MDS UZROKOVAN TERAPIJOM</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alkilanti i / ili • Radioterapija
<p>AML, NEKATEGORISANA</p> <ul style="list-style-type: none"> • Minimalno diferentovana AML • AML bez sazrevanja • AML sa sazrevanjem • Akutna mijelomonocitna leukemija • Akutna monoblastna leukemija • Akutna eritroidna leukemija • Akutna megakarioblastna leukemija • Akutna bazofilna leukemija • Akutna panmijeloza sa mijelofibrozmom • Mijeloidni sarkom

U klasifikaciji SZO, minimalni postotak blasta u kostnoj srži potreban za dijagnozu AML redukovan je sa 30% na 20%, čime su obuhvaćeni i bolesnici sa prethodnom istorijom mijelodisplaznog sindroma (MDS RAEB), kao i bolesnici sa AML i multilinijskom displazijom.

U nastavku, nalaz "rekurentnih" citogenetskih abnormalnosti, govori u prilog dijagnozi AML, bez obzira na postotak blasta u kostnoj srži (Wandt et al., 2010).

2.1.9. Terapija AML

Hemioterapija se primenjuje u dve faze. Indukciona terapija čija je svrha postizanje hematološke remisije i postremisiona, čija je svrha redukovanje rezidualne tumorske mase, teorijski, na nultu vrednost.

Indukciona terapija se zasniva na protokolima sa antraciklinom i citozin arabinozidom. Standardna indukciona terapija dovodi do kompletne remisije (KR) kod 65% bolesnika (Lowenberg et al., 1999), pa do 71%, po rezultatima nemačke multicentrične grupe za AML (Krauter et al., 2009). Bolesnike kod kojih izostane terapijski odgovor na jedan do dva ciklusa ove terapije treba smatrati refraktornim. U slučaju akutne promijelocitne leukemije, indukciona terapija treba biti dopunjena all-trans retinoičnom kiselinom.

Kandidate za alogenu transplantaciju matične ćelije hematopoeze (TMČH), treba indentifikovati rano, još tokom faze indukcije. (Jabbour et al., 2006).

Terapija konsolidacije

Bolesnici koji su postigli hematološku i kliničku remisiju treba da prime jedan ili više ciklusa post-remisione terapije. Ne postoji konsenzus za "najbolji" postremisionu strategiju lečenja (Fey et Dreyling: ESMO, 2008).

Svi bolesnici koji iz grupe niskog rizika (FLT3 negativni i sa mutiranim nukleofozminom NPM1) treba da budu lečeni samo hemioterapijom koja sadrži visoke doze citarabina. Svi ostali bolesnici, sa HLA identičnim srodnikom, predstavljaju kandidate za TMČH u prvoj remisiji. Bolesnici iz grupe visokog rizika (FLT3 pozitivni i sa "wild" tipom NPM1), koji nemaju srodnog davaoca, predstavljaju kandidate za lečenje alogenom TMČH od nesrodnog, podudarnog davaoca. Takođe, bolesnici kod kojih nije postignuta kompletna remisija nakon indukcije su na visokom riziku za neuspeh terapije, te i njih treba smatrati kandidatima za alogenu TMČH (Estey et Dohner, 2006).

Uloga visokodozne konsolidacione terapije sa autolognom transplantacijom periferne stem ćelije u AML je kontraverzna, dok je terapija održavanja i all trans retinoičnom kiselinom (ATRA), od značaja jedino u AML M3 (Tallman,2007).

Terapija relapsirajućih i refraktornih bolesnika

Bolesnici u drugoj i sledećoj remisiji se mogu kvalifikovati za alogenu TMČH od nesrodnog davaoca. U relapsirajućoj AML M3, arsen trioksid može indukovati remisiju, čak i kod bolesnika koji su postali refraktorni na ATRA-u.

Odgovor na terapiju

Odgovor na indukcionu terapiju se prati klinički, ponavljanim krvnim slikama i aspiratima kostne srži. Kriterijumi za remisiju u AML podrazumevaju normalnu celularnost kostne srži, ispod 5% blasta u kostnoj srži i morfološki, normalnu hematopoezu (Cheson et al., 1990).

2.1.10. Prognoza AML

Iako je u poslednjih nekoliko decenija napravljen pomak u terapiji AML, krajnji ishod bolesti je i dalje nepovoljan, a polihemioterapijom se može postići izlečenje kod približno 20-25% bolesnika (Radich, 2008).

U nastavku, je dat pregled najčešćih faktora prognoze publikovan u literaturi.

a) Starost

Ishod lečenja starijih bolesnika sa AML se nije bitno promenio u poslednje tri decenije. Standardnim terapijskim protokolima, kod bolesnika starijih od 60 godina, remisija se postiže kod oko 50-55% bolesnika (Stone, 2007), za razliku od mlađih pacijenata kod kojih se remisija postiže kod 75-80% slučajeva (Lowenberg et Burnett, 2005).

Stariji bolesnici češće imaju kormobiditete i loš performans status. Sve ovo doprinosi smanjenoj toleranciji na citotoksičnu terapiju i rezultuje većom stopom smrtnosti (Stone 2007; Erba, 2007). Većina studija se slaže da bolesnici sa AML, stariji od 60 godina, imaju nepovoljnu prognozu bolesti (Rathnasabapathy et Lancet, 2003; Robak et Wierzbowska, 2009).

b) FAB podtip

FAB klasifikacija AML, kao najkorišćeniji sistem od strane hematopatologa, nije mogla u potpunosti da izdvoji pojedine podtipove isključivo na osnovu ukupnog preživljavanja. Jedini podtipovi koji se ističu svojom povoljnom prognozom su M3 i M4Eo, što nije iznenađujuće budući da se u navedenim podtipovima najčešće viđa t(15;17), inv(16), odnosno t(16;16). Ovakvi nalazi upućuju na zaključak da su navedene citogenetske abnormalnosti ono što ove podtipove AML povezuje sa dužim preživljavanjem (Arber et al., 2003).

c) Sekundarna akutna mijeloidna leukemija

Sekundarna akutna mijeloidna leukemija (sAML), može nastati iz prethodnih klonskih poremećaja hematopoeze, obično iz mijelodisplaznog sindroma (MDS), evolucijom hroničnih mijeloproliferativnih bolesti, ili nakon ekspozicije leukemogenim agensima. Sekundarno poreklo AML udruženo je sa nepovoljnom prognozom (Sztokowski et al., 2010).

d) Hiperleukocitoza

Hiperleukocitarna forme AML se viđa kod oko 8.5% bolesnika sa AML. Najčešća je u AML M5 podtipu, a klinički se prezentuje hepatomegalijom, splenomegalijom, limfadenopatijom i DIK-om (Wang et al., 1997), premda je jedna retrospektivna studija na 266 bolesnika sa AML, najviše vrednosti leukocita (prosečno $53.8 \times 10^9/L$), utvrdila je u M1 podtipu po FAB klasifikaciji (Ghosh et al., 2003).

Hiperleukocitoza odražava veću tumorsku masu, te je stoga faktor loše prognoze (Greenwood et al., 2006). Rizik za iznenadnu smrt raste naročito kad je broj leukocita veći od $100 \times 10^9/L$, a uzrok smrti je leukostaza koja se klinički manifestuje kao moždani ili plućni infarkt. (Marbelo et al., 2008; Miller et Pihan, 2008).

Studije francuske kooperativne grupe za AML, indentifikuju visok broj leukocita kao faktore loše prognoze, kako u smislu postizanja kompletne remisije, tako i ukupnog preživljavanja (Delaunay et al., 2003; Prebet et al., 2009).

e) Trombocitopenija

Nizak broj trombocita pri dijagnozi predstavlja loš prognostički faktor i indirektni pokazatelj uznapredovale bolesti, odnosno insuficijencije hematopoeze (Krauter et al., 2009).

Multivarijantne analize preživljavanja, francuske multicentrične kooperativne grupe (French AML Intergroup), izvedene na 110 bolesnika sa AML, kao faktore udružene sa

kraćim preživljavanjem, izolovale su uznapredovalo doba bolesnika (cut point 35 godina) i nizak broj trombocita ($<20.000 \times 10^9/L$), pri postavljanju dijagnoze bolesti (Delaunay et al., 2003).

f) Parametri koji odslikavaju tumorsku lizu

Visoke vrednosti laktat dehidrogenaze i urata u serumu odslikavaju lizu tumorskih ćelija i u gruboj korelaciji su sa veličinom tumorske mase, tj. brojem leukocita. Većina studija je visoke vrednosti LDH i urata definisala kao nezavisne faktore loše prognoze kod bolesnika sa AML (Montesinos et al., 2008; Prebet et al., 2009).

g) Konvencionalna citogenetika

Citogenetske analize izvršene pri postavljanju dijagnoze bolesti imaju veliki prognostički značaj u akutnoj mijeloblastnoj leukemiji. Pojedine studije citogenetski nalaz ističu kao najvažniji faktor za ishod bolesti (Ma et al., 2009).

Generalno uzevši, anomalije kariotipa koje govore u prilog dobre prognoze bolesti uključuju t(8;21), inv(16) i t(15;17). Uredan kariotip nosi prosečan (intermedijaran) rizik u AML, dok bolesnici sa delecijama duge ručice hromozoma 5 i 7 ili nalazom 11q23, imaju lošu prognozu (Anwar et al., 2006).

U tabeli je dat prikaz prognostičkih grupa u odnosu na citogenetski nalaz (Tkachuk et Hirschmann, 2007).

Tabela 5. Citogenetske grupe rizika u AML

Grupa rizika	Citogenetski nalaz
Povoljna	t (8;21) t (15;17) inv (16)
Intermedijarna	Normalan kariotip +8, +21, +22 del (7q), del (9q)
Loša	-5, -7 del (5q) Kompleksne kariotipske abnormalnosti

Multicentrične studije, zasnovane na velikom broju ispitanika pokazale su da starost pacijenta i citogenetski nalaz pri postavljanju dijagnoze predstavljaju najvažnije prognostičke parametre u AML (Ferrara et al., 2008).

h) Postotak blasta u kostnoj srži

Rezultati jedne studije nisu našli statistički značajne razlike u petogodišnjem preživljavanju između grupe ispitanika sa manje od 30% blasta u kostnoj srži u odnosu na one koji imaju postotak veći od navedenog (Arber et al., 2003).

i) Postotak CD34 i CD33 pozitivnih ćelija u kostnoj srži

Rezultati imunofenotipiziranja pokazali su kontroverzni značaj u pogledu prognoze AML (Mason et al., 2006). Mada je CD34 pozitivnost često udružena sa neispoljavanjem prognozno dobrih antigena (CD33), smatra se da je izolovana visoka CD34 pozitivnost odlika nezrelog imunofenotipa i prestavlja nezavisan faktor loše prognoze (Čolović, 1999).

Jedna analiza na 273 bolesnika sa AML, je definisala tri prognostičke grupe: grupu CD34-/CD33- sa nepovoljnom prognozom, grupu sa CD34+/CD33- sa intermedijarnom prognozom i grupu sa CD34-/CD33+, sa povoljnom prognozom bolesti (Plesa et al., 2008).

Izvesne studije ističu loš prognostički značaj CD34 pozitivnosti, povezujući ga sa kraćim preživljavanjem (Solary et al., 1992), dok druge negiraju njegov prognostički značaj (Arslan et al., 1996). Jedna studija francuskih autora na 99 bolesnika sa AML, takođe negira povezanost CD34 pozitivnosti sa kliničkim ishodom bolesti, ali nalazi pozitivnu korelaciju između CD34 pozitivnosti i učestanosti anomalija na 5. i 7. hromozomu (Fruchart et al., 1998). Studije na velikom broju bolesnika uvrdile su visoku ekspresiju CD34 antigena u slabo diferentioavnim morfološkim podtipovima, kakvi su M0, M1 i M5 (Del Poeta et al., 1994).

Neke studije izvestile su o korelaciji visoke ekspresije CD33 sa procentom blasta u kostnoj srži, ali ne i korelaciji sa citogenetikom (Jilani et al., 2002; Oka et al., 2009), odnosno dužinom preživljavanja kod bolesnika sa AML (Abdool et al., 2010).

Ipak, ekspertska grupa SZO, u revidiranoj klasifikaciji akutne mijeloblaste leukemije, ne preporučuje utrdjivanje ekspresiju CD34+/ CD33+ ćelija flow citometrijom kao zamenu za vizuelni nalaz, delom zbog toga što sama metoda nije standardizovana, delom zbog činjenice da ove markere ne ispoljavaju svi leukemijski blasti (Doyen et al., 2007; Vardiman et al., 2009).

j) FLT3 ITD

U novije vreme, učinjen je veći broj studija koje su se bavile izučavanjem FLT3 interne tandem duplikacije (FLT3-ITD), kao faktora prognoze u AML. Tako je multivarijantnim analizama FLT3-ITD potvrđen kao izolovani faktor loše prognoze - udružen sa kraćim preživljavanjem i ranim relapsom (<1 godine), bez uticaja na stopu postignute kompletne remisije (Kang et al., 2005), dok jedna druga studijska grupa pozitivnost FLT3-ITD dovodi u vezu sa niskom stopom postignutih kompletnih remisija (Li et al., 2008; Han et al., 2009).

Abu-Duhier sa saradnicima utvrđuje FLT3 ITD kao izolovani faktor loše prognoze, povezan sa čestim relapsima i kraćim preživljavanjem, nezavisan od konvencionalnog citogenetskog nalaza. U ovoj studiji pacijenti koji nisu imali mutaciju imali su znatno duže vreme preživljavanja od momenta postavljanja dijagnoze (29,1 mesec) nego oni koji su imali FLT ITD (12,8 meseci) (Abu-Duhier et al., 2000).

Mutacija FLT3 ITD se često detektuje u M3 podtipu i u korelaciji je sa kraćim preživljavanjem i kraćim vremenom do progresije bolesti, u odnosu na bolesnike sa M3 koji nemaju ovu mutaciju (Beitinjaneh et al., 2010).

Reilly-jeva studija definiše FLT3-ITD kao loš prognostički faktor, naročito kod bolesnika bez anomalija kariotipa, mlađih od 60 godina (Reilly, 2003), dok druge studije utvrđuju pozitivnu korelaciju između ove mutacije i hiperleukocitoze (Löwenberg et Burnett, 2005), odnosno visokog procenta blasta u kostnoj srži i visoke serumske laktat dehidrogenaze - preko 1000 U/l. (Au et al., 2004; Chang et al., 2006; Peng et al., 2008).

k) Postizanje kompletne remisije / rani relaps bolesti

Tradicionalni cilj lečenja u AML usmeren je na postizanje i održavanje kompletne remisije (KR) Kriterijumi za KR su broj trombocita veći od 100,000/ μ L, broj neutrofila veći od 1000/ μ L i manje od 5% blasta u uzroku kostne srži (Rowe et Tallman, 2009). Dobro je poznato da postignuta kompletna remisija (KR) u akutnoj mijeloblastnoj leukemiji korelira sa dužim preživljavanjem (Delaunay et al., 2003).

Tokom 2003. godine, uveden je manje rigidniji, kriterijum za KR koji ne zahteva potpuni oporavak trombocita (KRt). Premda je na ovaj način veći postotak bolesnika praktično ulazio u KR, studije izvršene na 6283 bolesnika od strane ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) i SWOG grupe (Southwest Oncology Group), pokazale su da je veći izgled za postizanje prave KR kod bolesnika sa dobrom prognozom bolesti, da je vreme do relapsa bolesti duže kod bolesnika sa KR u odnosu na one sa KRt i konačno, da je ukupno vreme preživljavanja kod bolesnika sa KRt veće u odnosu na bolesnike sa rezistentnom bolešću (Walter et al., 2010).

2.2. KVANTITATIVNA ANALIZA SLIKE U CITOLOGIJI

Mikroskopska procena i interpretacija histoloških i citoloških preparata je glavni oslonac histopatološke dijagnoze i smatra se standardom u odnosu na ostale dijagnostičke postupke. Vizuelna dijagnoza zasniva se na prethodnom iskustvu lekara pa, shodno tome, sadrži i izvesnu dozu subjektivnosti. Neka naučna disciplina može se smatrati pravom naukom tek onda kada se koristi rezultatima merenja (Kališnik, 1995). U medicinskim granama koje se bave proučavanjem forme (anatomija, rentgenologija, histologija), koriste se termini za opisivanje i upoređivanje struktura kao što su "kraće", "duže" ili "jednako", često procenjene bez verodostojnog merenja. Zbog toga se nameće potreba za uvođenjem kvantitativnih metoda u cilju što objektivnijeg postavljanja dijagnoze (Kutlešić i Mihailović, 2000).

Kvantitativna analiza mikroskopske slike se može podeliti na *fotometriju* i *morfometriju*.

2.2.1. Fotometrija

Ova metoda obuhvata kvantitativne tehnike za određivanje vrednosti optičke gustine slike, kao što su totalna optička gustina jedra, a najčešće se upotrebljava za specifične potrebe kao što su analiza sadržaja DNK (ploidijska) i kvantitativnu citohemiju za hormonske receptore, markere proliferativne aktivnosti i dr. (Bartels, 1994).

2.2.2. Morfometrija

Morfometrija je pojam koji označava merenje struktura. U opštem značenju se koristi za označavanje različitih kvantitativnih metoda za analizu geometrijskih svojstava tkiva i ćelija. U praksi se ovaj termin odnosi na kvantitativne tehnike koje mere sledeće varijable: veličinu, oblik i teksturu i/ ili prostorne odnose između ćelija i drugih tkivnih struktura. Morfometrija može da se podeli na: a) stereologiju i b) astereologiju.

a) Stereologija

Stereologija je merenje u prostoru, tj. trodimenzionalno tumačenje ravnih površina preseka pomoću kriterijuma geometrijske verovatnoće. Tačnije rečeno, to je multidisciplinarni pristup kojim se, iz dvodimenzionalnog preseka nekog tela kvantitativno, trodimenzionalno, procenjuje njegova unutrašnja građa.

Cilj stereologije je da koreliše dimenzije projekcija sa dimenzijama originalnih objekata koje one predstavljaju. Naime, merenjem dužine i širine neke strukture dobijamo predstavu o njoj u jednoj ravni, dok stereologija podrazumeva tri dimenzije, tj. volumen, spoljnu površinu, dužinu i broj. Do ovih podataka se dolazi na osnovu interakcije presečenog tkiva i testnog sistema (Kutlešić i Mihailović, 2000).

b) Astereologija

U morfološkim ispitivanjima se često nameće potreba proučavanja objekata sa nepravilnom površinom, kao što su na primer, krvne ćelije u razmazima ili druge ćelije u brisevima. U ovakvim slučajevima nemoguća je klasična stereološka analiza koja pretpostavlja ravnu površinu preseka kroz telo, tako da ovde nedostaje bitna odlika stereološkog proučavanja, a to je trodimenzionalnost.

Astereologija je termin koji definiše kvantitativne tehnike koje mere dvodimenzionalne osobine materijala. Prilikom prelaska iz trodimenzionalnog u dvodimenzionalni prostor, eksponent se smanjuje za jedan. Za analizu je porebno da proučavani objekat presečemo sa ravni tako da trodimenzionalna struktura na preseku postaje dvodimenzionalna površina, dvodimenzionalna površina jednodimenzionalna linija, a jednodimenzionalna linija bezdimenzionalna tačka, dok tačka koja nema dimenzije, ne može ni biti presečena. To znači da prilikom preseka kroz n - dimenzionalni objekat nastaje $(n-1)$ dimenzionalni profil. Praktično, volumen se ispoljava kao površina (area), površina kao obim (kontura), dok se dužina ispoljava kao broj profila (Gudović i sar., 1994; Glaser et Glaser, 2000).

2.2.3. Kompjuterska analiza digitalizovane mikroskopske slike

U didaktičkom smislu, analiza slike bi mogla da se podeli na klasičnu i savremenu. Kod klasične metode, operator na osnovu prethodno definisanih testnih sistema (stereoloških mrežica) sam meri morfometrijske vrednosti delova slike. Kod savremene metode, operator

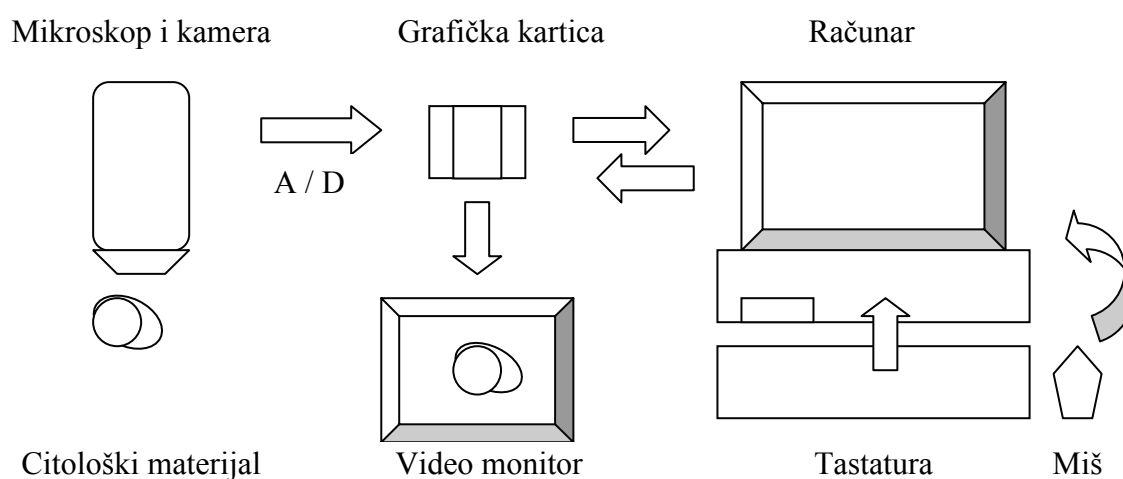
obeležava delove slike od interesa (interaktivni pristup), ili to kompjuter sam čini prema zadatim parametrima (automatska separacija). U oba slučaja kompjuter vrši očitavanja i ukoliko se traži, matematičke analize podataka (Petrović, 2001).

2.2.4. Instrumenti za digitalnu obradu i analizu mikroskopske slike

Mikroskopska slika predstavlja proporcionalno uvećani prikaz objekta koji se posmatra mikroskopom. Suština kompjuterizovane analize slike sadržana je u konverziji analogne informacije o mikroskopskoj slici u digitalnu informaciju.

U osnovi, većina sistema za digitalnu obradu i analizu slike se sastoji od sledećih komponentata:

- Video kamere, montirane na svetlosnom mikroskopu, koja šalje analogni signal;
- Grafičke kartice kompjutera za konverziju analognog signala u digitalni;
- Kompjuterskog softvera koji omogućava vezu sa korisnikom i izvodi matematičke operacije;
- Medijuma za skladištenje podataka (hard disk);
- Opreme za upravljanje sistemom (tastatura, miš, light pen)



Shema 1. Sistem za analognu -digitalnu konverziju i analizu slike
(Weinberg et Carey, 1996).

2.3. MORFOMETRIJA JEDARA - KARIOMETRIJA

Do danas je publikovano svega nekoliko radova koji su se bavili morfometrijom jedara u hematološkim bolestima. U jednoj studiji kod bolesnika sa akutnom limfoblastnom leukemijom (ALL), nadjena je negativna korelacija između veličine dijametra jedra i dužine preživljavanja, kao i dijametra sa FAB podtipom ALL. Opisani rezultati odgovaraju dobro poznatim podacima da se ćelije sa najkrupnijim jedrima nalaze u ALL L3 po FAB-u, koji ujedno ide i sa najkraćim preživljavanjem. (Seshadri et al., 1985).

Studija Rajesha i saradnika, analizirala je razlike u morfometrijskim odlikama jedara između limfoblasta u ALL L2 po FAB klasifikaciji i mijeloblasta u AML M1. Ideja autora je bila utvrditi vrednost kariometrije kao oruđa za diferencijalnu dijagnostiku i rasvetljivanje najčešće dileme hematologa-citologa, a to je razdvajanje ranog mijeloidnog prekursora od njegovog parnjaka u limfoidnoj lozi - limfoblasta. Od morfometrijskih parametara mereni su - areal (površina) jedra, dužina, širina, konveksni areal, perimetar, cirkularnost, ukupna i srednja optička gustina i varijansa vrednosti sivog piksela na digitalnoj slici. Premda su rezultati studije pokazale preklapanje većine kariometrijskih parametara za ova dva tipa blasta, pronađene su statistički značajne razlike za srednji optički intezitet i varijansu vrednosti sivog piksela, čime su ih autori kvalifikovali kao parametre od pomoći za diferencijaciju morfologije ćelija (Rajesh et al., 2004).

Jedna studija bavila se izučavanjem veličine jedara kod ranih granulocitnih prekursora - mijeloblasta i promijelocita u hroničnoj fazi hronične granulocitne leukemije (Smetana et al., 2007), kao i nakon terapije imatinib mesilatom (Smetana et al., 2006). Prosečan dijametar, kako za mijeloblaste, tako i za promijelocite, kretao se između 11 i 13 μm . Kako veličina jedra zavisi od stadijuma ćelijskog ciklusa, pretpostavka je da se oba progenitora nalaze najčešće u S fazi, a nešto ređe u G1, odnosno G2 fazi ćelijskog ciklusa. U zaključku studije, autori su izdvojili dijametar, odnosno veličinu jedra kao parametar za procenu stadijuma ćelijskog ciklusa. U nastavku, autori zaključuju da dijametar jedra mijeloblasta i promijelocita se značajno ne menja terapijom imatinib mesilatom (Smetana et al., 2006).

3. RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA

3.1. RADNA HIPOTEZA

- Dužina preživljavanja (DP) kod bolesnika sa AL u zavisnosti je od starosti bolesnika pri postavljanju dijagnoze. Starija životna dob u vezi je sa kraćim preživljavanjem te samim tim i znak lošije prognoze bolesti;
- Dužina preživljavanja (DP) kod bolesnika sa AL u zavisnosti je od veličine tumorske mase (TM). Bolesnici sa velikom TM (hepatosplenomegalijom, limfadenopatijom, hiperleukocitozom, visokom LDH) imaju kraće preživljavanje od bolesnika sa malom TM;
- Dužina preživljavanja (DP) kod bolesnika sa AML u zavisnosti je od morfološkog oblika leukemije. Najlošiju prognozu (najmanju DP) imaju bolesnici sa podtipom M0, M1, M6 i M7 AML po FAB klasifikaciji, a najbolju sa podtipovima M3, M4 i M5.
- Dužina preživljavanja (DP) kod bolesnika sa AL u zavisnosti je od citogenetskog nalaza. Bolesnici sa nepovoljnim kariotipom (aneuploidija, monozomija, delecija) imaju kraće preživljavanje od bolesnika sa urednim citogenetskim nalazom.
- Kariometrijskim analizama se bolesnici mogu svrstati u grupe sa povoljnom odnosno nepovoljnom prognozom bolesti.

3.2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- 1) Analiza svih ispitivanih kliničkih i biohemijskih podataka, a naročito dužine preživljavanja kod bolesnika sa akutnim leukemijama koji su dijagnostikovani i lečeni na Klinici za hematologiju, Kliničkog centra u Nišu;
- 2) Analize imunološkog fenotipa malignih ćelija u akutnim leukemijama korišćenjem flow-citometrije;
- 3) Citogenetske analize leukemijskih ćelija dobijenih iz aspirata kostne srži bolesnika sa akutnim leukemijama;
- 4) Utvrđivanje prisustva, odnosno, odsustva mutacija na lokusu za FLT3 kao faktora prognoze;
- 5) Kariometrijske analize leukemijskih ćelija aspirata kostne srži kod bolesnika sa akutnim leukemijama. Klasifikovanje ispitanika u grupe na osnovu kariometrijskih vrednosti;
- 6) Klaster analiza dobijenih podataka;
- 7) Komparacija dobijenih rezultata i ispitivanje povezanosti dužine preživljavanja i vrednosti kliničkih, imunofenotipskih, citogenetskih i kariometrijskih parametara kod bolesnika sa akutnim leukemijama;

4. BOLESNICI I METODE RADA

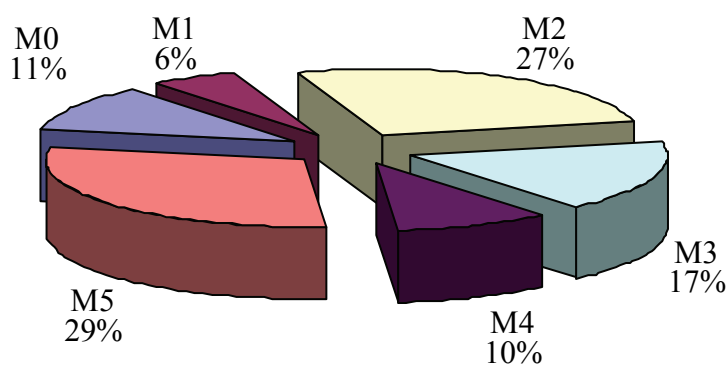
4.1. MESTO ISTRAŽIVANJA

- Dijagnoza bolesti, analize imunofenotipa i terapija vršene su u Klinici za hematologiju, KC u Nišu;
- Analize kariotipa vršene su u citogenetskoj laboratoriji Dečije interne klinike, KC u Nišu;
- Molekularne analize za utvrđivanje mutacije FLT3 ITD su vršene u Institutu za molekularnu biologiju i genetski Inženjering, Beograd;
- Kariometrijske analize su vršene u Institutu za patologiju, KC u Nišu;

4.2. BOLESNICI

Prospektivnom studijom obuhvaćeno je 123 bolesnika oba pola, (59 muškaraca, 64 žene), starosti od 17 - 88 godina sa AML, lečenih u petogodišnjem intervalu, od januara 2005. do decembra 2009. godine.

4.2.1. Distribucija bolesnika u odnosu na FAB podtip AML



Grafikon 1. Distribucija bolesnika po FAB podtipu bolesti.

Najviše je bilo bolesnika sa AML M5 (37 bol./30%), dok su najmalobrojniji bili bolesnici u podtipu AML M1 (7 bol./6%). U našoj grupi ispitanika, nismo imali bolesnike sa dijagnozom M6 i M7 po FAB-u.

Tabela 6. Distribucija bolesnika po FAB podtipu bolesti

FAB podtip	N	%
M0	14	11,38
M1	7	5,69
M2	33	26,83
M3	21	17,07
M4	12	9,76
M5	36	29,27
Ukupno	123	100,00

U ispitivanom uzorku, najviše pacijenata je sa M5 i M2, statistički ih je znatno više no onih sa M1, M4 ($p < 0,001$), kao i M0 ($p < 0,01$).

Tabela 7. Struktura bolesnika po FAB podtipu, polu i starosti.

FAB podtip	N° (%) bolesnika	N° (%) muškarci	N° (%) žene	Prosečna starost
M0	14 (11.38%)	6 (42,86%)	8 (57,14%)	56,93±21,04
M1	7 (5,69%)	1 (14,29%)	6 (85,71%)	66,14±12,98
M2	33 (26,83%)	16 (48,48%)	17 (51,52%)	58,12±15,45
M3	21 (17,07%)	11 (52,38%)	10 (47,62%)	46,67±18,15
M4	12 (9,76%)	4 (33,33%)	8 (66,67%)	57,67±20,06
M5	36 (29,29%)	21 (58,33%)	15 (41,67%)	57,72±14,64
Ukupno	123 (100,00%)	59 (47,97%)	64 (52,03%)	56,33±17,12

Najmlađi bolesnici su iz grupe M3 (oko 47 godina), a najstariji iz grupe M1 (oko 66 godina) i ova razlika je statistički značajna ($p < 0,05$). Statistički značajna razlika u pogledu starosti nađena je i između grupa M3 i M2 ($p < 0,05$), i M3 i M5 ($p < 0,05$), dok ostale razlike nisu statistički značajne.

Najviše osoba muškog pola (21) bilo je u grupi M5, dok je najviše osoba ženskog pola (17) bilo u grupi AML M2, po FAB klasifikaciji.

4.3. METODE RADA

4.3.1. Dijagnostika

Dijagnoza bolesti je postavljena na osnovu:

- a) anamneze;
- b) kliničkog pregleda;
- c) pregleda krvne slike i razmaza periferne krvi;
- d) mijelograma sa citohemijskim bojenjima;
- e) biohumoralnog nalaza;
- f) analize kariotipa konvencionalnom citogenetikom;
- g) imunofenotipskih analiza ćelija koste srži protočnom citometrijom;
- h) dopunskih analiza, gde god je to bilo indikovano (CT sken, ultrazvuk, itd);

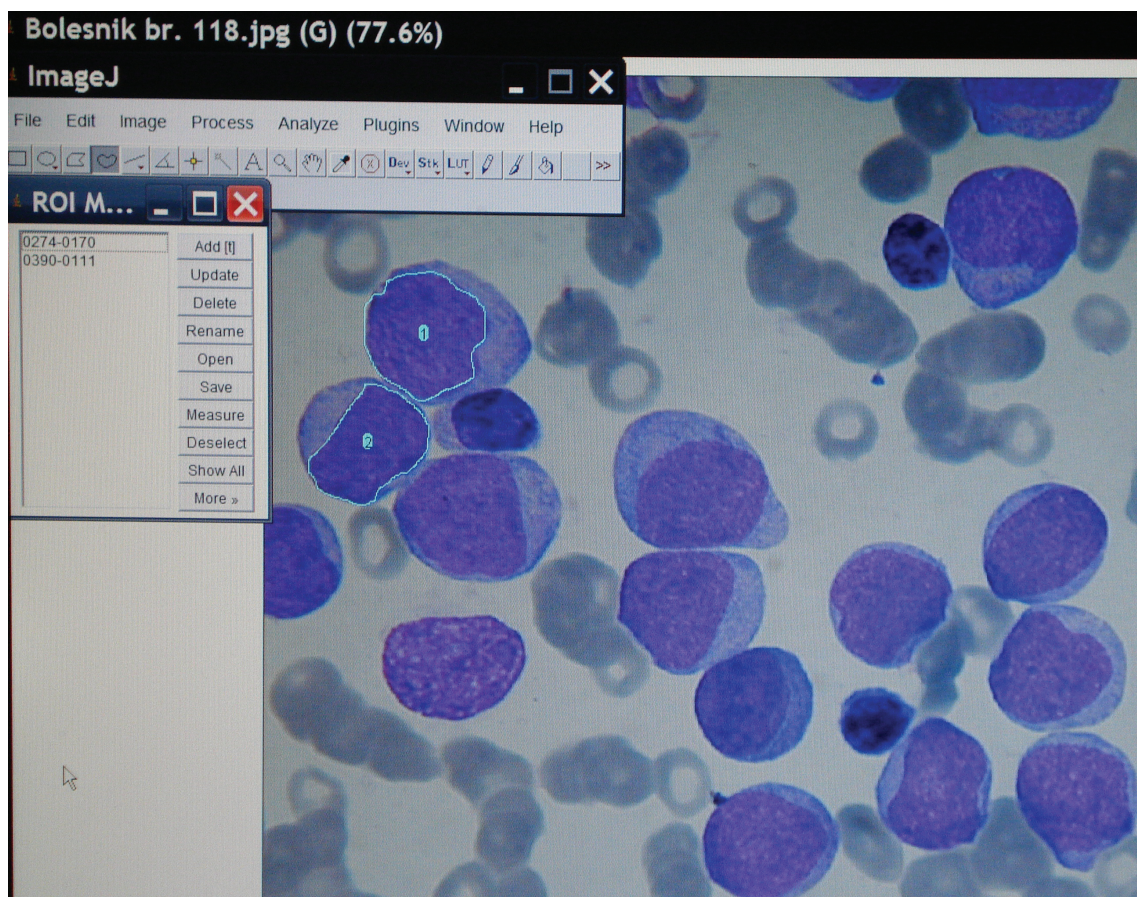
4.3.2. Ispitivanja vezana za prognozu bolesti

a) Molekularne analize

Prognoza bolesti utvrđivana je na osnovu prisustva, odnosno odsustva FLT3 ITD mutacije. Molekularne analize FLT3 ITD vršene su iz uzorka osušenih, nativnih preparata - razmaza kostne srži, metodom polimeraza lančane reakcije (PCR).

b) Kariometrijske analize

Kariometrijske analize vršene su na razmazima punktata kostne srži, bojene po metodi MGG. Analiza digitalne slike je vršena uz pomoć programa ImageJ (Wayne Rasband, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>), korišćenjem objektiva x100, sa uljanom imerzijom, na mikroskopu AX 70 (Olympus, Tokyo, Japan), sa digitalnom kamerom Olympus Camedia C-2000 Zoom. Jedra tumorskih ćelija selektovana su manuelno, uz pomoć kompjuterskog miša. Mereno je 100 jedara po ispitaniku.



Slika 1. Prikaz kariometrijske analize.

Određivani su sledeći kariometrijski parametri:

- 1) Areal (površina) jedra;
- 2) Perimetar (obim) jedra;
- 3) Feret-ov dijametar;
- 4) Optički denzitet (optička gustina) jedra - (OD),
- 5) Standardna devijacija optičke gustine jedra - (SD OD);
- 6) Integrisana optička gustina jedra - (IOD);
- 7) Modna vrednost optičke gustine jedra - (MOD OD);
- 8) Cirkularnost jedra;

1) Areal jedra je projekciona površina koja je definisana kao broj piksela, prikazuje se u μm^2 .

2) Optička gustina (OD) je količina svetlosti koja prolazi kroz objekat i određuje se na više načina.

Na primer:

$$OD(x,y) = -\log(\text{intenzitet}(x,y) - \text{crno}) / (\text{incidentno svetlo} - \text{crno})$$

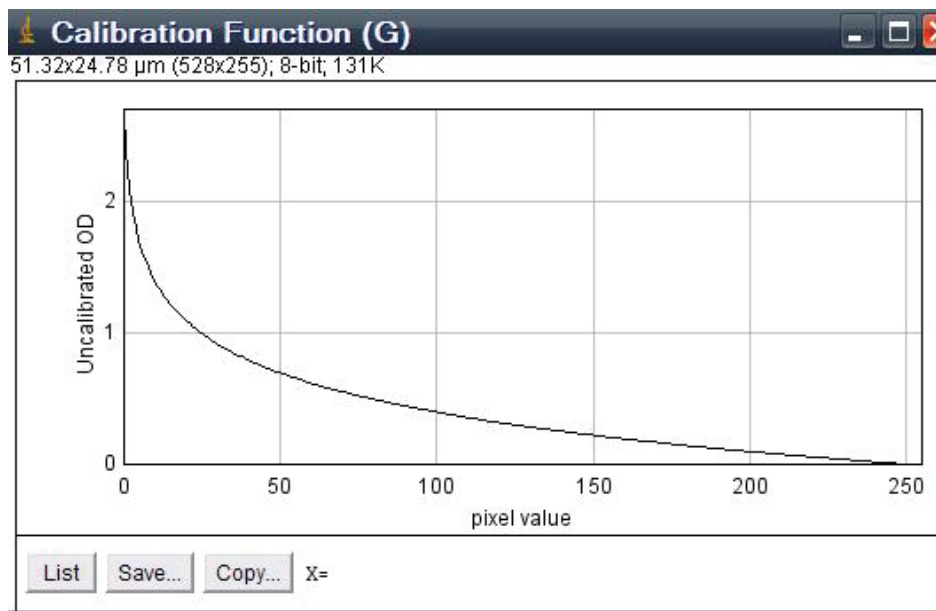
3) Perimetar ili obim jedra se dobija na osnovu 4 projekcije na 00°, 450°, 900° i 1350°; izražava se u μm .

$$Perimetar = \frac{\pi \cdot (Pr_0 + Pr_{45} + Pr_{90} + Pr_{135})}{4}$$

4) Cirkularnost jedra ima vrednost 1 za krug, dok je za ostale oblike manja od 1. To je izvedena mera, dobijena iz areala i perimetra ($4\pi \times [Area] / [Perimetar]^2$).

5) Feret-ov dijametar je maksimalno rastojanje između bilo koje dve tačke na konturi jedra, izražava se u μm .

6) Integralna gustina jedra (IOD) je suma individualnih optičkih gustina (OD) svakog piksela u arealu koji se meri i izražava se u arbitrarnim jedinicama (au). Kalibraciona krivulja IOD prikazana je na slici.



Grafikon 2. Kalibracija integrisane optičke gustine (IOD).

Po svakom pojedinačnom ispitaniku je analizirano po 100 jedara.

5. STATISTIČKA OBRADA

Statistička obrada podataka je vršena deskriptivnom i analitičkom metodom. Podaci su grupisani tabelarno i grafički prikazani.

Od statističkih parametara korištena je aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna greška, koeficijent varijacije, regresiona multivarijantna analiza, cluster analize, dok je analiza preživljavanja bolesnika vršena Kaplan Meier-ovim testom.

Testiranje razlika između srednjih vrednosti vršeno je Studentovim t-testom i Mann-Whitney- evim testom. Izračunavana je i korelacija između pojedinih obeležja.

U istraživanju je prvenstveno korišten komparativni metod analize, sa ciljem da se utvrdi sličnost odnosno razlike između pojedinih varijabli. Komparacija podataka vršena je za celu grupu ispitanika, zatim unutar svake morfološke podgrupe po FAB klasifikaciji i konačno, između navedenih podgrupa.

6. REZULTATI

6.1. KLINIČKE ODLIKE BOLESNIKA SA AML

6.1.1. Distribucija po starosti i polu

Od 123 bolesnika 59 bolesnika bilo je muškog pola (48%), a 64 bolesnika ženskog pola (52%).

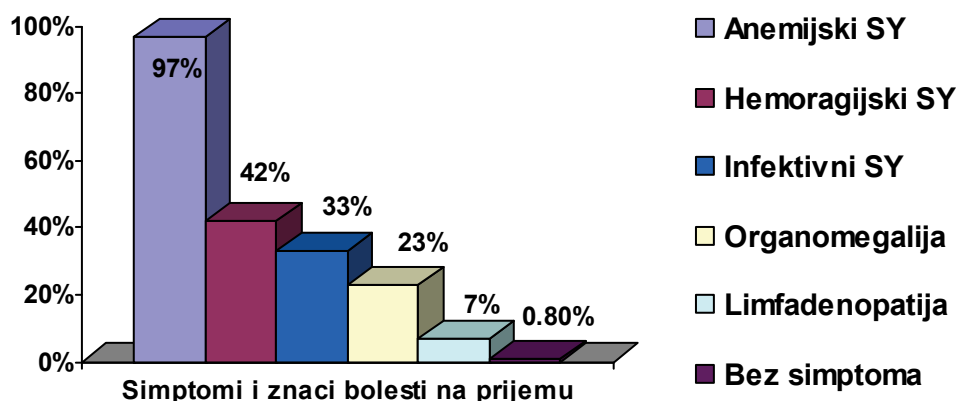
Tabela 8. Struktura bolesnika po polu i starosti.

Pol	N ^o (%)	Min (god.)	Max (god.)	Prosečno (god.)	Cv
Muškarci	59 (47.97%)	17	88	55.10±18.42	33.44
Žene	64 (52.03%)	19	83	57.45±15.89	27.65
Ukupno	123 (100%)	17	88	56.33±17.12	30.39

Prosečna starost ispitivanih bolesnika iznosila je 56.33±17.12 godina, sa najmlađim bolesnikom sa 17 godina i najstarijim sa 88 godina.

Nema statistički značajne razlike u prosečnoj starosti ispitanika prema polu. Na osnovu vrednosti koeficijenta varijacije može se reći da je grupa žena homogena u pogledu starosti, ukupno je uzorak blizu granice homogenosti (Cv=30), a muškarci su malo iznad te granice.

6.1.2. Simptomi i znaci bolesti



Grafikon 3. Znaci i simptomi bolesti na prezentaciji

Najčešće tegobe koje su bolesnika dovodile lekaru bile su u smislu anemijskog sindroma (slabost, pojačano zamaranje, vrtoglavice) i registrovane su kod 119 bolesnika (97%). Hemoragijski sindrom pri inicijalnoj prezentaciji imalo je 52 bolesnika (42%), dok je infekcija bila razlog za hospitalizaciju kod 39 bolesnika (33%). Anemijski, infektivni i hemoragijski sindrom opisan je kod bolesnika iz svih podtipova po FAB-u.

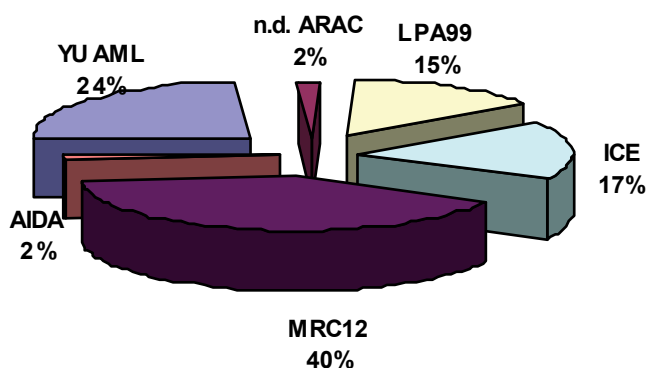
Organomegalija je detektovana kod 28 bolesnika (oko 23%), dok limfadenopatija nije bila česta, i opisana je kod svega 9 bolesnika (oko 7%) i to isključivo u podgrupi M4 i M5..

Kod jednog bolesnika (0.8%), bolest je utvrđena slučajno, nakon laboratorijski otkrivene leukocitoze.

6.1.3. Terapija

Indukciona terapija kod bolesnika sa AML M3 uključivala je terapiju all-trans retinoičnom kiselinom (ATRA) u kombinaciji sa antraciklinom i citarabinom (LPA99 ili AIDA protokol), dok je za bolesnike iz svih ostalih podtipova AML po FAB-u indukciona terapija uključivala standarne protokole (ICE ili MRC12 protokol). Stariji bolesnici, sa oligoblastnom formom AML i pancitopenijom su lečeni niskim dozama citozin arabinozida (ARAC).

Na grafiku je prikazana učestanost primene pojedinih indukcionih terapijskih protokola u našoj grupi bolesnika.



Grafikon 4. Učestanost primene pojedinih terapijskih protokola.

Najčešće primenjivan protokol za indukcionu terapiju bio je MRC12 (kod 40% bolesnika).

6.1.4. Rezultati lečenja

Rezultati lečenja su se sagledavali na 28. ili 35. dan od početka terapije, nakon očekivanog perioda oporavka hematopoeze. U skladu s kriterijumima SWOG kooperativne grupe, (normalizacija krvne slike i biohemijskih parametara, normalna hematopoeza, sa manje od 5% blasta u kostnoj srži), definisana je kompletna remisija (KR) i parcijalna remisija (PR), dok su bolesnici bez terapijskog odgovora i oni koji su progredirali u toku lečenja označeni kao bolesnici sa refrakternom bolešću.

U tabeli su prikazani rezultati lečenja naših ispitanika.

Tabela 9. Rezultati lečenja indukcionom terapijom bolesnika sa AML

FAB	Remisija	Refraktarna bolest	Exitus/ napustili th	Ukupno
M0	9 64,29%	1 7,14%	4 28,57%	14 100,00%
M1	6 85,71%	0 0,00%	1 14,29%	7 100,00%
M2	24 72,73%	4 12,12%	5 15,15%	33 100,00%
M3	16 76,19%	0 0,00%	5 23,81%	21 100,00%
M4	7 58,33%	4 33,33%	1 8,33%	12 100,00%
M5	23 63,89%	10 27,78%	3 8,33%	36 100,00%
Ukupno	85 69,11%	19 15,45%	19 15,45%	123 100,00%

Od ukupno 123 bolesnika, kompletna ili parcijalna remisija postignuta je kod 85 (oko 69%) bolesnika, kod 19 bolesnika (15,4 %) je izostao terapijski odgovor, dok je preostalih 19 (15,4 %) bolesnika egzistiralo u toku indukcionog ciklusa ili napustilo lečenje.

Najveću stopu kompletnih remisija detektovali smo u podtipu AML M1 (85,7%), a najmanju u podtipu AML M4(58,3%).

6.1.5. Vreme do progresije bolesti

Od 123 ispitanika iz naše grupe, relaps bolesti je dokumentovan kod 50 bolesnika (40.65%). Vreme do progresije bolesti (VDP) smo definisali kao vreme od postignute kompletne (KR) ili parcijalne (PR remisije), pa do progresije bolesti, odnosno, hematološki verifikovanog relapsa. Ako je VDP bilo kraće od 12 meseci, označavali smo kao "rani relaps", dok za VDP jednako ili duže od 12 meseci označavali smo "kasni relaps".

Tabela 9. Prosečno vreme do progresije bolesti u mesecima u odnosu na podtip leukemije

FAB podtip	VDP (meseci)	N	Stopa relapsa (%)
M0	6.83 ± 7.03	6	42,86%
M1	11.00 ± 0.0	1	14,29%
M2	13.33 ± 10.33	15	45,45%
M3	12.29 ± 7.95	7	33,33%
M4	17.60 ± 15.57	5	41,67%
M5	12.81 ± 7.64	16	44,44%
Svi	12.62 ± 9.37	50	40,65%

Legenda: VDP = Vreme do progresije bolesti

Najkraće VDP iznosilo je oko 7 meseci i vidjalo se u AML M0, a najduže VDP, oko 17 meseci, bilo je u podtipu AML M4.

Ispitivana je i korelacija VDP u odnosu na starost ispitanika. Rezultati su prikazani u tabeli.

Tabela 10. Korelacija starosti bolesnika i vremena do progresije u mesecima

	N	Spearman R	t (N-2)	p
Starost/ VDP	96	-0.115777	-1.13010	0.261309

Legenda: VDP = Vreme do progresije bolesti

Nije nađena statistički značajna korelacija između starosti bolesnika i TTP.

6.1.6. Dužina preživljavanja

Dužinu preživljavanja (DP) smo definisali kao vreme proteklo od momenta postavljanja dijagnoze, pa do egzitusa, odnosno do završetka studije koja je ukupno trajala 60 meseci.

Tabela 11. Prosečna dužina preživljavanja za sve ispitanike

FAB Podtip	N	Dužina preživljavanja (meseci)
M0	14	28,48 ± 27,11
M1	7	6,91 ± 10,36
M2	33	19,17 ± 20,70
M3	20	14,36 ± 16,89
M4	12	17,58 ± 16,29
M5	34	16,62 ± 14,99
Svi ispitanici	120	17,68 ± 18,88

Prosečna dužina preživljavanja (DP) izračunavana je za 120 bolesnika, obzirom da su 3 bolesnika napustila lečenje i ono u proseku iznosi $17,68 \pm 18,88$ meseci.

Najduže poreživljavanje (oko 28 meseci) je detektovano u grupi AML M0, a najkraće (oko 14 meseci) u grupi AML M3.

Tabela 12. Prosečna dužina preživljavanja kod bolesnika sa egzitusom

FAB podtip	N	Vreme preživljavanja (meseci)
M0	6	10,62 ± 8,09
M1	4	0,34 ± 0,16
M2	21	8,65 ± 9,78
M3	16	9,01 ± 11,57
M4	7	8,86 ± 6,87
M5	22	10,01 ± 10,48
Svi ispitanici	76	8,86 ± 9,78

Prosečno vreme preživljavanja za bolesnike koji su letalno završili u toku studije (N=76), iznosi 8,86±9,78 meseci. Najduže poreživljavanje (oko 21 mesec) je detektovano u grupi AML M2, a najkraće (oko 0.3 meseci) u grupi AML M1.

6.2. LABORATORIJSKE ODLIKE

6.2.1. Hematokrit

Svi ispitanici su podeljeni u tri grupe - sa blagom anemijom ili bez anemije (HCT \geq 32%), sa srednje teškom anemijom (HCT 32 - 25%), kao i grupu bolesnika sa teškom anemijom (HCT<25%).

Tabela 13. Struktura svih ispitanika po vrednostima hematokrita na prijemu.

Vrednost hematokrita (%)	N bolesnika	% bolesnika
\geq 32	1	0.8%
32 - 25	76	61.8%
<25	46	37.3%
Ukupno	123	100%

Najveći broj bolesnika, njih 76, (oko 62%), imao je srednje tešku, 46 bolesnika (oko 37%) tešku anemiju, tj, anemiju koja je predstavljala indikaciju za lečenje transfuzijama krvi, dok je samo jedan bolesnik bio sa blagom anemijom (0.8%). Pearsonovim χ^2 testom potvrđena statistički značajna dominantnost HCT 32-25 u odnosu na HCT \leq 25 ($p < 0,001$).

Tabela 14. Struktura ispitanika po vrednostima hematokrita u odnosu na FAB podtip

FAB Podtip	Vrednost hematokrita (%)						Ukupno
	≥ 32		32 - 25		< 25		
M0	1	7,1%	4	28,6%	9	64,3%	14
M1	0	0,0%	2	28,6%	5	71,4%	7
M2	0	0,0%	19	57,6%	14	42,4%	33
M3	0	0,0%	16	76,2%	5	23,8%	21
M4	0	0,0%	8	66,7%	4	33,3%	12
M5	2	5,6%	25	69,4%	9	25,0%	36
Ukupno	3	2,4%	74	60,2%	46	37,4%	123

Najveća incidencija srednje teške anemije (HCT 32-25%) uvrđena je u podtipu M3, sa statistički značajnom razlikom u odnosu na M0 i M1 ($p < 0,05$), dok su vrednosti HCT $< 20\%$ bile najzastupljenije u podtipu M1 sa statistički značajnom razlikom u odnosu na M5 ($p < 0,05$).

6.2.2. Hemoglobin

U odnosu na vrednosti hemoglobina, svi ispitanici su gradirani u tri grupe - sa normalnim vrednostima serumskog hemoglobina (Hgb > 120 g/L), sa vrednostima hemoglobina 120 - 70 g/L i one koji imaju vrednosti ispod 70g/l, sa indikacijom za lečenje transfuzijama krvi.

Tabela 15. Struktura svih ispitanika po vrednostima serumskog hemoglobina na prijemu.

Vrednosti hemoglobina (g/l)	N bolesnika	% bolesnika
>120	2	1,6%
120 - 70	78	63,4%
<70	43	35,%
Ukupno	123	100,00%

Nalaz hemoglobina u opsegu 70-119g/l bio je statistički češći nalaz u odnosu na sve ostale ponaosob ($p<0,001$).

Tabela 16. Struktura bolesnika po vrednostima hemoglobina u odnosu na podtip leukemije

FAB Podtip	Vrednost hemoglobina (g/l)						Ukupno
	≥ 120		120-70		< 70		
M0	1	7,1%	6	42,9%	7	50,0%	14
M1	1	14,3%	1	14,3%	5	71,4%	7
M2	1	3,0%	18	54,5%	14	42,4%	33
M3	0	0,0%	16	76,2%	5	23,8%	21
M4	0	0,0%	8	66,7%	4	33,3%	12
M5	1	2,8%	26	72,2%	9	25,0%	36
Ukupno	4	3,2%	75	61,0%	44	35,8%	123

Snižene vrednosti hemoglobina (Hgb 120 - 70g/L) najzastupljenije su bile u podtipu M3, statistički značajno više u odnosu na podtip M1 ($p<0,01$), a jako niske vrednosti hemoglobina (Hgb<70g/L) najzastupljenije su bile u podtipu M1, statistički značajno češće u odnosu na podtip M5 ($p<0,05$).

6.2.3. Broj leukocita

U odnosu na broj leukocita u perifernoj krvi, svi ispitanici su podeljeni u tri grupe: u prvoj grupi su bili bolesnici sa leukopenijom ($Le < 4 \times 10^9/l$), u drugoj sa leukocitozom do 100

$\times 10^9/l$, dok su treću grupu činili bolesnici sa hiperleukocitozom, odnosno brojem leukocita iznad $100 \times 10^9/l$.

Tabela 17. Struktura svih ispitanika po vrednostima broja leukocita na prijemu.

Broj leukocita ($\times 10^9/l$)	N bolesnika	% bolesnika
< 4	31	25,3
10 - 100	71	57,7
>100	21	17,0
Ukupno	123	100,0

Leukopeniju na prijemu imao je 31 bolesnik (oko 25%), leukocitozu do $100 \times 10^9/L$ imao je 71 pacijent (oko 58%), dok je hiperleukocitozu imao 21 pacijent (17%). Statistički, najveći broj ispitanika je imao broj leukocita u opsegu $10-100 \times 10^9/L$, statistički značajno češće u odnosu na ostale nalaze broja leukocita ($p < 0,001$).

Tabela 18. Struktura bolesnika po vrednostima broja leukocita u odnosu na FAB podtip

FAB Podtip	Broj leukocita ($\times 10^9/l$)						Ukupno
	<4		4-100		>100		
M0	9	64,3%	4	28,6%	1	7,14%	14
M1	3	42,9%	3	42,9%	1	14,29%	7
M2	1	3,0%	28	84,8%	4	12,12%	33
M3	4	19,0%	12	57,1%	5	23,81%	21
M4	2	16,7%	7	58,3%	3	25,00%	12
M5	10	27,8%	18	50,0%	8	22,22%	36
Ukupno	29	23,6%	72	58,5%	22	17,9%	123

Najveća učestanost leukopenije ($Le < 4 \times 10^9/l$) utvrđena je upodtipu M0, sa statistički značajnom razlikom u odnosu na M3, M4 i M5 ($p < 0,05$), a posebno u odnosu na M2 ($p < 0,001$).

Povišene vrednosti Le (do $100 \times 10^9/L$) najzastupljenije su bile u podtipu M2, statistički više u odnosu na M1 ($p < 0,05$), M5 ($p < 0,01$) i M0 ($p < 0,001$). Hiperleukocitoza ($Le > 100 \times 10^9/l$) se najčešće viđala u podtipu M4, ali bez statistički značajne razlike u odnosu na ostale podtipove.

a) Vrednosti broja leukocita u odnosu na prisustvo limfadenopatije

Urađen je χ^2 test radi utvrđivanja učestanosti limfadenopatije u odnosu na broj leukocita u perifernoj krvi. Svi ispitanici su podeljeni u tri gore navedene grupe: u prvoj grupi su bili bolesnici sa leukopenijom ($Le < 4 \times 10^9/l$), u drugoj sa leukocitozom do $100 \times 10^9/l$, dok su treću grupu činili bolesnici sa hiperleukocitozom, odnosno brojem leukocita iznad $100 \times 10^9/l$.

Tabela 19. Vrednosti broja leukocita u odnosu na prisustvo limfadenopatije

Broj leukocita ($\times 10^9/l$)	Sa limfadenopatijom		Bez limfadenopatije		Ukupno	
<4	25	21,93%	4	44,44%	29	23,58%
10-100	69	60,53%	3	33,33%	72	58,54%
>100	20	17,54%	2	22,22%	22	17,89%
Ukupno	114	100,00%	9	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=2,95, df=2, (NS).$$

Na osnovu χ^2 testa, nisu utvrđene statistički značajne razlike u prisustvu limfadenopatije između navedenih grupa.

b) Vrednosti broja leukocita u odnosu na prisustvo organomegalije

Tabela 20. Vrednosti broja leukocita u odnosu na prisustvo organomegalije

Broj leukocita ($\times 10^9/l$)	Sa organomegalijom		Bez organomegalije		Ukupno	
<4	25	26,32%	4	14,29%	29	23,58%
10-100	53	55,79%	19	67,86%	72	58,54%
>100	17	17,89%	5	17,86%	22	17,89%
Ukupno	95	100,00%	28	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=1,87, df=2, (NS).$$

Iako je incidencija povišenog broja leukocita (leukocitoze i hiperleukocitoze) veća kod pacijenata sa organomegalijom, nema statistički značajne razlike u njenoj zastupljenosti u odnosu na pacijente bez organomegalije.

c) Vrednosti broja leukocita u odnosu na broj trombocita

Tabela 21. Vrednosti broja leukocita u odnosu na broj trombocita

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)	Broj trombocita (x10 ⁹ /l)							
	150 -450		20 - 149		<20			
<4	5	23,81%	19	28,79%	5	13,89%	29	23,58%
10-100	15	71,43%	37	56,06%	20	55,56%	72	58,54%
>100	1	4,76%	10	15,15%	11	30,56%	22	17,89%
Ukupno	21	100,00%	66	100,00%	36	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=8,44, df=4, (NS).$$

Nisu utvrđene statistički značajane razlike u vrednostima broja leukocita u odnosu na vrednosti broja trombocita.

d) Vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednosti sedimentacije

Tabela 22. Vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednosti sedimentacije eritrocita (u mm/h)

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)	Vrednost sedimentacije (mm/h)						Ukupno	
	< 12		12-100		>100			
<4	2	22,22%	12	18,75%	15	30,00%	29	23,58%
10-100	4	44,44%	45	70,31%	23	46,00%	72	58,54%
>100	3	33,33%	7	10,94%	12	24,00%	22	17,89%
Ukupno	9	100,00%	64	100,00%	50	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=8,55, df=4, (NS).$$

Nisu utvrđene statistički značajane razlike u vrednostima broja leukocita u odnosu na brzinu sedimentacije eritrocita.

e) Vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednosti serumskih urata

Tabela 23. Vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednosti urata

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)	Normalani urati		Povišeni urati		Ukupno	
<4	24	28,24%	5	13,16%	29	23,58%
10-100	51	60,00%	21	55,26%	72	58,54%
>100	10	11,76%	12	31,58%	22	17,89%
Ukupno	85	100,00%	38	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=8,39, df=2, p<0,05$$

Utvrđena je statistički značajna razlika u zastupljenosti vrednosti broja leukocita između normalnih i povišenih vrednosti serumskih urata, s tim da su snižene vrednosti Le zastupljenije kod normalnih, a povišene (Le>100x10⁹/l) kod povišenih vrednosti urata (p<0,05).

f) Vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednost ukupnih serumskih proteina

Tabela 24. Vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednosti totalnih proteina

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)	Ukupni proteini (g/l)						Ukupno	
	< 61		61-81		>81			
<4	4	20,00%	24	23,53%	1	100,00%	29	23,58%
10-100	12	60,00%	60	58,82%	0	0,00%	72	58,54%
>100	4	20,00%	18	17,65%	0	0,00%	22	17,89%
Ukupno	20	100,00%	102	100,00%	1	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=3,41, df=4, (NS).$$

Legenda: TPR=Totalni proteini

Nema statistički značajnih razlika u zastupljenosti vrednosti Le u odnosu na vrednosti ukupnih serumskih proteina.

g) Vrednosti broja leukocita u odnosu na prisustvo serumskih albumina

Tabela 25. Vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednosti serumskih albumina

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)	Serumski albumini (u g/l)						Ukupno	
	<35		35 - 51		>51			
<4	6	21,43%	22	23,40%	1	100,00%	29	23,58%
10-100	17	60,71%	55	58,51%	0	0,00%	72	58,54%
>100	5	17,86%	17	18,09%	0	0,00%	22	17,89%
Ukupno	28	100,00%	94	100,00%	1	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=3,32, df=4, (NS)$$

Nema statistički značajnih razlika u zastupljenosti vrednosti Le u odnosu na vrednosti albumina.

h) Vrednosti broja leukocita u odnosu na celularnost kostne srži

Tabela 26. Vrednosti broja leukocita u odnosu na celularnost kostne srži

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)	Povišena celularnost				Ukupno	
	Snižena celularnost		Povišena celularnost			
<4	4	57,14%	25	21,55%	29	23,58%
10-100	3	42,86%	69	59,48%	72	58,54%
>100	0	0,00%	22	18,97%	22	17,89%
Ukupno	7	100,00%	116	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=5,19, df=2, (NS)$$

Mada je incidencija leukopenije viša kod hipocelularne kostne srži, nema statistički značajne razlike u zastupljenosti pojedinih vrednosti broja leukocita između hipo i hiperce-lularne kostne srži.

i) Vrednosti broja leukocita u odnosu na procenat blasta u kostnoj srži

Tabela 27. Vrednosti broja leukocita u odnosu na procenat blasta u kostnoj srži

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)							Ukupno	
	<20		20 - 50		>50			
<4	5	62,50%	12	38,71%	12	14,29%	29	23,58%
10-100	3	37,50%	18	58,06%	51	60,71%	72	58,54%
>100	0	0,00%	1	3,23%	21	25,00%	22	17,89%
Ukupno	8	100,00%	31	100,00%	84	100,00%	123	100,00%

$$\chi^2=19,43, df=4, p<0,001$$

Na osnovu tabele kontigencije 3×3, utvrđena je statistički značajno različita zastupljenost vrednosti Le u odnosu na procenat blasta u kostnoj srži (p<0,001). Incidencija leukopenije opada sa porastom blasta u kostnoj srži, nasuprot incidencije leukocitoze koja raste sa porastom postotka blasti u kostnoj srži (p<0,001).

j) Vrednosti broja leukocita u odnosu na pojavu ranog relapsa

Tabela 28. Vrednosti broja leukocita u odnosu na pojavu ranog relapsa

Broj leukocita (x10 ⁹ /l)	Bez ranog relapsa		Sa ranim relapsom		Ukupno	
	<4	19	20,65%	10	34,48%	29
10-100	57	61,96%	14	48,28%	71	58,68%
>100	16	17,39%	5	17,24%	21	17,36%
Ukupno	92	100,00%	29	100,00%	121	100,00%

$$\chi^2=2,46, df=2, (NS)$$

Snižene vrednosti leukocita (<4 x10⁹/l), zastupljenije su kod pacijenata bez relapsa, ali iz tabele kontigencije 3×2 nema statistički značajne razlike u zastupljenosti Le u odnosu na prisustvo/odsustvo relapsa do godinu dana.

6.2.4. Broj trombocita

Na osnovu broja trombocita svi ispitanici podeljeni u tri grupe – grupu sa urednim brojem trombocita, zatim grupu sa srednje teškom (Tr 150-20 $\times 10^9/L$), kao i grupu bolesnika sa teškom trombocitopenijom ($<20 \times 10^9/L$ trombocita), što je, ujedno, predstavljalo indikaciju za lečenje transfuzijama trombocita.

Tabela 29. Struktura svih ispitanika po vrednostima broja trombocita na prijemu.

Trombociti ($\times 10^9/l$)	N bolesnika	% bolesnika
≥ 150	19	15,4%
20 -150	68	55,3%
≤ 20	36	29,3%
Ukupno	123	100,0%

Statistički, najčešći nalaz odgovarao je broju trombocita između 150-20 $\times 10^9/l$ ($p < 0,001$).

Tabela 30. Struktura bolesnika po vrednostima broja trombocita u odnosu na podtip leukemije

FAB podtip	Broj trombocita ($\times 10^9/l$)						Ukupno
	>150		150-20		<20		
M0	3	21,4%	8	57,1%	3	21,4%	14
M1	1	14,3%	3	42,8%	3	42,9%	7
M2	6	18,2%	13	39,4%	14	42,4%	33
M3	4	19,0%	14	66,7%	3	14,3%	21
M4	3	25,0%	6	50,0%	3	25,0%	12
M5	4	11,1%	22	61,1%	10	27,8%	36
Ukupno	21	17,0%	66	53,7%	36	29,3%	123

Najveća incidencija srednje teške trombocitopenije (Tr 150-20 $\times 10^9/l$) zabeležena je u podtipu M3, a teške trombocitopenije (Tr $\leq 20 \times 10^9/l$) u podtipu M1, slično i kod M2, ali bez statistički značajnih razlika u odnosu na ostale podtipove AML.

a) Vrednosti broja trombocita u odnosu na pojavu ranog relapsa bolesti

Tabela 31. Vrednosti broja trombocita ($10^9/l$) u odnosu na pojavu ranog relapsa bolesti

Broj Tr ($\times 10^9/l$)	Bez ranog relapsa		Sa ranim relapsom		Ukupno	
150-450	16	17,39%	5	17,24%	21	17,36%
20-149	49	53,26%	16	55,17%	65	53,72%
<20	27	29,35%	8	27,59%	35	28,93%
Ukupno	92	100,00%	29	100,00%	121	100,00%

$$\chi^2=0,04, df=2, (NS).$$

Nema statistički značajne razlike u zastupljenosti vrednosti broja trombocita u odnosu na prisustvo/odsustvo relapsa do godinu dana (NS).

6.2.5. Procenat blasta u kostnoj srži

Shodno klasifikaciji SZO, kao granična vrednost za postojanje akutne leukemije uzeto je 20% blasta u kostnoj srži. Stoga su svi bolesnici podeljeni u tri grupe: grupu sa manje od 20% blasta (oligoblastna forma leukemije) i grupu sa ekscesom blasta do 50% ćelijske populacije kostne srži i grupu sa više od 50% blasta. 20%.

Tabela 32. Struktura svih ispitanika po procentu blasta u kostnoj srži

Blasti u kostnoj srži (%)	N bolesnika	% bolesnika
≤ 20	8	6,50%
21 - 50	33	26,83%
>50	82	66,67%
Ukupno	123	100,00%

Najviše ispitanika je imalo blaste u kostnoj srži više od 50%, statistički ih je značajno više no ispitanika sa blastima 21-50%, kao i $\leq 20\%$ ($p < 0,001$).

Tabela 33. Struktura bolesnika po procentu blasta u kostnoj srži u odnosu na FAB podtip

FAB	Blasti u kostnoj srži (%)						Ukupno
	< 20		20 - 50		>50		
M0	2	14,3%	4	28,6%	8	57,1%	14
M1	2	28,6%	1	14,3%	4	57,1%	7
M2	1	3,0%	13	39,4%	19	57,6%	33
M3	0	0,0%	3	14,3%	18	85,7%	21
M4	1	8,3%	2	16,7%	9	75,0%	12
M5	2	5,6%	8	22,2%	26	72,2%	36
Ukupno	8	6,5%	31	25,2%	84	68,3%	123

Kod više od polovine ispitanika u svim FAB podtipovima bolesti, vrednosti blasta u kostnoj srži su iznosile preko 50%. Kod M3 taj procenat je najviši (85,71%), ali bez statistički značajne razlike u odnosu na ostale Dg. Vrednosti blasta od 20% do 50% su bile najzastupljenije u podtipu M2, dok je nalaz manje od 20% blasta je bio najčešći u podtipu M1 ali, bez statistički značajne razlike u odnosu na ostale podtipove AML.

6.2.6. Sedimentacija

Na osnovu vrednosti sedimentacije eritrocita u prvom satu, svi ispitanici podeljeni su u tri grupe - sa urednom sedimentacijom ($SE \leq 12\text{mm/h}$), sa povišenom sedimentacijom do 100 mm u prvom satu i grupu bolesnika sa sedimentacijom $>100\text{mm}$ u prvom satu.

Tabela 34. Struktura svih ispitanika po vrednostima sedimentacije (u mm/h).

Vrednost SE (mm/h)	N bolesnika	% bolesnika
≤ 12	7	5,6%
13 - 100	66	53,7%
>100	50	40,7%
Ukupno	123	100,0%

Najveći broj bolesnika (66, oko 54%) imao je umereno ubrzanu sedimentaciju, dok je 50 bolesnika (oko 41%) imalo jako ubrzanu sedimentaciju u prvom satu ($SE >100\text{mm/h}$).

Broj pacijenata sa SE između 13-100 mm/h, statistički je veći od broja pacijenata sa $Se \geq 100$ mm/h ($p < 0,05$), kao i onih sa $SE \leq 12$ mm/h ($p < 0,001$).

Tabela 35. Struktura bolesnika po vrednostima sedimentacije u odnosu na FAB podtip

FAB	Sedimentacija (mm/h)						Ukupno
	≤ 12		13 - 100		>100		
M0	1	7,1%	6	42,9%	7	50,0%	14
M1	0	0,0%	4	57,1%	3	42,9%	7
M2	5	15,1%	14	42,4%	14	42,4%	33
M3	2	9,5%	13	61,9%	6	28,6%	21
M4	1	8,3%	4	33,3%	7	58,3%	12
M5	0	0,0%	23	63,9%	13	36,1%	36
Ukupno	9	7,3%	64	52,0%	50	40,6%	123

Povišene vrednosti SE (13-100 mm/h) najčešće su kod M5, dok su vrednosti $SE > 100$ mm/h bile najčešće u podtipu M4, ali bez statistiki značajnih razlika u odnosu na ostale podtipove. Normalne vrednosti SE najčešće su bile u podtipu M2 i statistički je njihova zastupljenost češća no kod podtipa M4 kod koga ni jedan ispitanika nema normalne vrednosti Se ($p < 0,05$).

6.2.7. Fibrinogen

Svi ispitanici podeljeni u tri grupe - sa niskim vrednostima fibrinogena u plazmi (< 2 g/l), sa vrednostima fibrinogena u fiziološkim granicama (2 - 4 g/l), sa povišenom vrednostima fibrinogena (> 4 g/l).

Tabela 36. Struktura svih ispitanika po vrednostima fibrinogena

Vrednosti Fibrinogena (g/l)	N bolesnika	% bolesnika
< 2	11	9.0%
2 - 4	57	46.3%
> 4	55	44.7%
Ukupno	123	100%

Uredne vrednosti fibrinogena imalo je 57 (oko 46%) bolesnika, povišene vrednosti je imalo 55 (44,7%) bolesnika, dok je svega 11 (9%) bolesnika imalo snižene vrednosti fibrinogena u plazmi. Broj pacijenata sa hipofibrinogenemijom je statistički mnogo manji od broja pacijenata sa normalnim ili višim vrednostima fibrinogena ($p < 0,001$).

Tabela 37. Struktura bolesnika po vrednostima fibrinogena u odnosu na FAB podtip

FAB	Vrednosti serumskog fibrinogena (g/l)						Ukupno
	≤ 2		2-4		>4		
M0	1	7,1%	10	71,4%	3	21,4%	14
M1	0	0,0%	3	42,9%	4	57,1%	7
M2	0	0,0%	17	51,5%	16	48,5%	33
M3	7	33,3%	6	28,6%	8	38,1%	21
M4	2	16,7%	5	41,7%	5	41,7%	12
M5	2	5,6%	13	36,1%	21	58,3%	36
Ukupno	12	9,7%	54	43,9%	57	46,3%	123

Snižene vrednosti fibrinogena su bile najzastupljenije u podtipu M3, statistički značajno češće no u podtipu M5 ($p < 0,01$), kao i u M2 gde nema ni jednog ispitanika sa sniženim vrednostima ($p < 0,001$). Povišene vrednosti fibrinogena najzastupljenije su bile u podtipu M5, statistički češće nego kod M0 ($p < 0,05$), dok su normalne vrednosti fibrinogena najzastupljenije u podtipu M0, statistički značajno više nego u podtipu M3 ($p < 0,05$).

6.2.8. Ukupni proteini

Svi ispitanici podeljeni u dve grupe - sa vrednostima ukupnih proteina u fiziološkim granicama (TPR 63- 80 g/l) i grupu sa vrednostima ukupnih proteina ispod normalnih vrednosti (TPR < 63 g/l).

Tabela 38. Struktura svih ispitanika po vrednostima ukupnih proteina u serumu

Ukupni proteini (g/l)	N bolesnika	% bolesnika
63 - 80	103	83,7%
< 63	20	16,3%
Ukupno	123	100,0%

Najveći broj, tj. 103 bolesnika (oko 84%) imalo je vrednosti proteina u fiziološkim granicama, dok je 20 (oko 16%) bolesnika imalo hipoproteinemiju. U ispitivanom uzorku statistički značajno dominiraju ispitanici sa vrednostima ukupnih proteina u opsegu od 63-80 g/l. ($p < 0,001$).

Tabela 39. Struktura bolesnika po vrednostima ukupnih proteina u serumu u odnosu na FAB podtip

FAB podtip	Ukupni proteini (g/l)				Ukupno
	< 63		63 - 80		
M0	4	28,6%	10	71,4%	14
M1	1	14,3%	6	85,7%	7
M2	1	3,0%	32	97,0%	33
M3	2	9,5%	19	85,7%	21
M4	3	25,0%	9	75,0%	12
M5	9	25,0%	27	75,0%	36
Ukupno	20	16,3%	103	83,7%	123

Snižene vrednosti ukupnih serumskih proteina najzastupljenije su bile u podtipu M0, statistički značajno češće nego u podtipu M2 ($p < 0,05$), dok su normalne vrednosti serumskih proteina bile najzastupljenije u podtipu M2, statistički zastupljenije nego kod M0 i M5 ponaosob ($p < 0,05$).

6.2.9. Serumski albumini

Svi ispitanici podjeljeni u dve grupe: sa vrednostima serumskih albumina u fiziološkim granicama i grupu sa vrednostima serumskih albumina ispod normalnih vrednosti.

Tabela 40. Struktura svih ispitanika po vrednostima serumskih albumina

Vrednosti albumina (g/l)	N bolesnika	% bolesnika
35 - 45	95	77,3%
< 35	28	22,7%
Ukupno	123	100,0%

Najveći broj bolesnika (95, oko 77%) imalo je vrednosti albumina u fiziološkim granicama, dok je manji broj bolesnika, (28, oko 23%), imao snižene vrednosti albumina. Nalaz albumina u fiziološkom opsegu je bio statistički značajno češći nalaz ($p < 0,001$).

Tabela 41. Struktura bolesnika po vrednostima serumskih albumina u odnosu na FAB podtip

FAB podtip	Serumski albumini (g/l)				Ukupno
	< 35		35 - 45		
M0	5	35,7%	9	64,3%	14
M1	1	14,3%	6	85,7%	7
M2	2	6,0%	31	93,9%	33
M3	3	14,3%	18	80,9%	21
M4	5	41,7%	7	58,3%	12
M5	12	33,3%	24	66,7%	36
Ukupno	28	22,8%	95	77,2%	123

Snižene vrednosti serumskih albumina najčešće su se detektovale u podtipu M4, statistički češće no kod M2 ($p < 0,01$), dok su normalne vrednosti bile najzastupljenije u podtipu M2, statistički zastupljenije no kod M0, M5 ($p < 0,05$), kao i M3 ($p < 0,01$).

6.2.10. Serumska laktat dehidrogenaza

Svi ispitanici podeljeni u tri grupe - sa vrednostima laktat dehidrogenaze (LDH) u fiziološkim granicama, grupu sa vrednostima LDH do 1000 U/l, kao i grupu sa vrednostima LDH preko 1000 U/l.

Tabela 42. Struktura svih ispitanika po vrednostima serumske laktat dehidrogenaze

Vrednost LDH (u U/l)	N bolesnika	% bolesnika
≤ 440	24	19.5%
440 – 1000	65	52.9%
>1000	34	27.6%
Ukupno	123	100%

Najveći broj bolesnika (65, oko 53%) imao je umereno povišene vrednosti LDH, dok je 34 bolesnika (oko 28%) imalo izrazito visoke vrednosti LDH. Ostala 24 bolesnika (oko 20%), imalo je vrednosti serumske LDH u fiziološkim granicama. Umereno povišene vrednosti LDH (460 – 1000U/L) su predstavljale statistički češći nalaz u odnosu na ostala dva nalaza ponaosob ($p < 0,001$).

Tabela 43. Struktura bolesnika po vrednostima serumske laktat dehidrogenaze u odnosu na FAB podtip

FAB	Vrednost laktat dehidrogenaze (U/l)						Ukupno
	≤ 440		440 - 1000		> 1000		
M0	2	14,3%	11	78,6%	1	7,1%	14
M1	3	42,9%	3	42,9%	1	14,3%	7
M2	9	27,3%	16	48,5%	8	24,2%	33
M3	3	14,3%	7	33,3%	11	52,4%	21
M4	2	16,7%	4	33,3%	6	50,0%	12
M5	6	16,7%	23	63,9%	7	19,4%	36
Ukupno	25	20,3%	64	52,0%	34	27,6%	123

Povišene vrednosti LDH (440-1000 U/l) najzastupljenije su bile u podtipu M0, statistički zastupljenije no u podtipu M3 ($p < 0,05$). Vrednosti LDH veće od 1000 U/l

najzastupljenije su bile u podtipu M3, statistički zastupljenije no u podtipu M5 ($p < 0,05$) i i M0 ($p < 0,01$).

Tabela 44. Vrednosti serumske laktat dehidrogenaze u odnosu na pojavu ranog relapsa bolesti

Vrednosti LDH (U/l)	Bez relapsa do god dana		Sa relapsom do god. dana		Ukupno	
≤440	18	19,57%	6	20,69%	24	19,83%
440-1000	44	47,83%	19	65,52%	63	52,07%
>1000	30	32,61%	4	13,79%	34	28,10%
Ukupno	92	100,00%	29	100,00%	121	100,00%

$$\chi^2=0,04, df=2, (NS).$$

Nema statistički značajne razlike u zastupljenosti vrednosti serumske LDH u odnosu na prisustvo/odsustvo relapsa do godinu dana.

6.2.11. Serumski urati

Svi ispitanici podeljeni u dve grupe - sa vrednostima urata u fiziološkim granicama i grupu sa vrednostima urata preko 420 mmol/l.

Tabela 45. Struktura svih ispitanika po vrednostima serumskih urata

Vrednosti urata (u mmol/l)	N bolesnika	% bolesnika
202 - 420	85	69.1 %
> 420	38	30.9%
Ukupno	123	100%

Najveći broj bolesnika (85, oko 69%), je imao normalne vrednosti serumskih urata pri postavljanju dijagnoze bolesti, dok je 38 ispitanika (oko 31%) imalo povišene vrednosti urata. Nalaz urata u opsegu 202-420 mmol/l, statistički je preovlađujući ($p < 0,01$).

Tabela 46. Struktura bolesnika po vrednostima serumskih urata u odnosu na FAB podtip

FAB podtip	Vrednost serumskih urata (mmol/l)				Ukupno
	202-420		>420		
M0	10	71,4%	4	28,6%	14
M1	5	71,4%	2	28,6%	7
M2	24	72,7%	9	27,3%	33
M3	15	71,4%	6	28,6%	21
M4	9	75,0%	3	25,0%	12
M5	22	61,1%	14	38,9%	36
Ukupno	85	69,1%	38	30,9%	123

Na osnovu dobijenih podataka, nisu se mogle utvrditi statistički značajne razlike u vrednostima serumskih urata između pojedinih podtipova AML.

6.3. ANALIZE IMUNOFENOTIPA

Ispitivanje imunofenotipskih odlika malignih blasta uključivalo je dokazivanje ekspresije receptora CD34 i CD33 kao prognostičkih faktora, dok su analize CD13, CD14 i HLA DR rađene sporadično, u skladu sa tehničkim mogućnostima.

Od 123 ispitanika, analize na ekspresiju antigena CD34 i CD33 su urađene kod njih 111 (oko 90%).

6.3.1. Ekspresija CD34/CD33 u zavisnosti od podtipa AML po FAB-u

Tabela 47. Ekspresija CD34/ CD33 u različitim podtipovima AML po FAB-u.

FAB Podtip	CD34 (%)	CD33 (%)
M0	43,96±26,07	20,21±19,47
M1	31,30± 16,67	32,94±18,04
M2	16,94±19,82	49,81±33,19
M3	15,34±12,42	54,51±25,96
M4	15,48±12,01	49,08±23,13
M5	35,59±18,45	45,70±21,24

Najveći procenat CD34 pozitivnih ćelija vidjeli smo u podgrupi M0 i M5, a najmanji u FAB podtipu M4. Što se tiče ekspresije CD33, najveći postotak ćelija koji je eksponirao ovaj antigen pripadao je FAB podtipu M3 i M2, a najmanji postotak ekspresije zabeležen je u podtipu M0.

Primenom MANOVA testa nađena je statistički značajna razlika u pogledu zastupljenosti antigena CD34 i CD33 kod različitih FAB podtipova AML (Wilks Lambda= 0,76, Rao R= 3,15, $p < 0,001$).

U pogledu zastupljenosti CD34, nađena je statistički značajna razlika između podtipova M0 i M2 ($p < 0,001$), M0 i M3 ($p < 0,001$), M0 i M4 ($p < 0,001$), M3 i M5 ($p < 0,05$) dok ostale razlike nisu statistički značajne.

U pogledu zastupljenosti CD33, nađena je statistički značajna razlika između podtipova M0 i M2 ($p < 0,01$), M0 i M3 ($p < 0,001$), M0 i M4 ($p < 0,01$), M0 i M5 ($p < 0,01$), dok ostale razlike nisu statistički značajne (NS).

6.3.2. Korelacija starosti bolesnika i procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija

Tabela 48. Korelacija starosti bolesnika i procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija

	N	Spearman R	t (N-2)	p
Starost / CD34%	112	-0.062962	-0.66167	0.509568
Starost / CD33%	112	-0.110844	-1.16975	0.244630

Nije nađena statistički značajna korelacija između starosti bolesnika i procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija.

6.3.3. Korelacija procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija

Tabela 49. Korelacija procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija

	N	Spearman R	t (N-2)	p
% CD34 / % CD33	112	-0.056544	-0.593989	0.553739

Nije nađena statistički značajna korelacija između procenta CD34 pozitivnih i procenta CD33 pozitivnih ćelija.

6.4. CITOGENETSKE ANALIZE

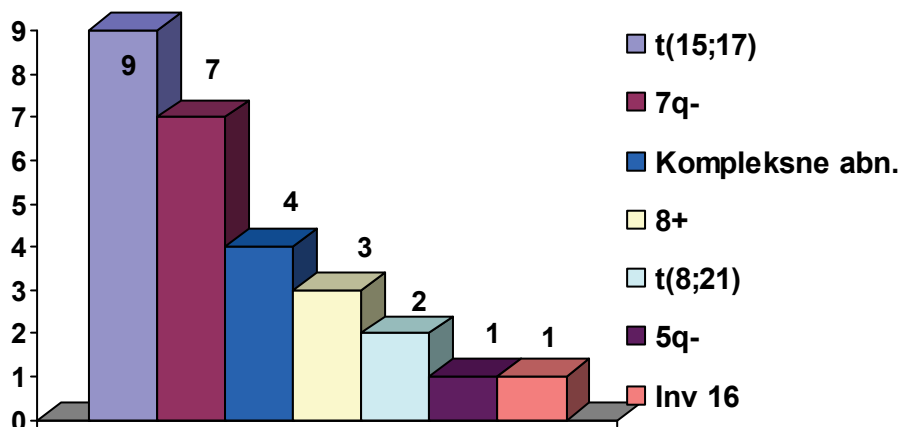
Od ukupno 123 ispitanika, citogenetske analize su izvršene kod 108 (oko 88%) bolesnika, dok su kod preostalih 15 bolesnika (oko 12%), izostale, uglavnom iz tehničkih razloga.

Tabela 50. Nalaz u kariotipu za celu grupu ispitanika

Kariotip	N	%
Normalan	81	65,85
Abnormalan	27	21,95
Nije rađen	15	12,20
Ukupno	123	100

Od ukupno 108 urađenih citogenetskih analiza, kod 27 (25%) je utvrđena neka abnormalnost kariotipa, dok je kod preostalog 81 (75%) bolesnika, konstatovan uredan citogenetski nalaz.

Na grafikonu je dat prikaz učestanosti pojedinih citogenetskih abnormalnosti.



Grafikon 5. Distribucija pojedinih abnormalnosti kariotipa (broj bolesnika).

6.4.1. Nalaz kariotipa u odnosu na FAB podtip

Tabela 51. Rezultati citogenetskih analiza u odnosu na FAB podtip

FAB podtip	Normalan kartiotip N bolesnika	Patološki kariotip N bolesnika
M0	12	1
M1	5	1
M2	26	5
M3	7	9
M4	5	4
M5	26	7
Ukupno (n=108)	81 (75%)	27 (25%)

Od ukupno 108 uradjениh citogenetskih analiza, kod 27 (25%) je utvrđena neka abnormalnost kariotipa, dok je kod preostalog 81 (75%) bolesnika, konstatovan uredan citogenetski nalaz.

Tabela 52. Zastupljenost pojedinih abnormalnosti kariotipa u odnosu na FAB podtip

Podtip	7q-	5q-	8+	t(8;21)	t(15;17)	inv 16	Poliploidija/ aneuploidija
M0	-	-	-	-	-	-	1
M1	1	-	-	-	-	-	-
M2	1	1	-	2	-	-	1
M3	-	-	-	-	9	-	-
M4	3	-	1	-	-	-	-
M5	2	-	2	-	-	1	2

Kod 27 bolesnika utvrđene su anomalije kariotipa. Najčešća anomalija odnosila se na t(15;17), ona je utvrđena kod 9 bolesnika (33.33%) i isključivo je bila detektovana u M3 podtipu. Druga po učestanosti anomalija, bila je 7q-, utvrđena kod 7 bolesnika (25.92%) u podtipovima leukemije M1, M2 i M4.

6.4.2. Testovi korelacije kariotipa i vremena do progresije bolesti

Tabela 53. Vreme do progresije bolesti kod bolesnika sa i bez kariotipskih anomalija

	Bez anomalija kariotipa (N= 64)	Sa anomalijama kariotipa (N= 18)	t-value	df	p
VDP (meseci)	19.95313	20.11111	-0.018553	80	0.985244

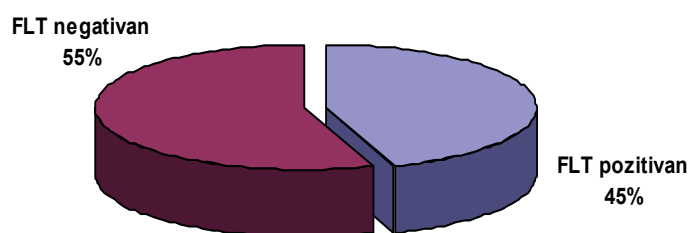
Nije nađena statistički značajna razlika u VDP bolesnika bez i sa anomalijama kariotipa tumorskih ćelija (NS).

6.5. ANALIZE FLT3 ITD

Tabela 54. Incidencija nalaza mutacije FLT3 ITD za celu grupu ispitanika

FLT 3	N	%
Negativan	57	46,34 %
Pozitivan	46	37,40 %
Nije rađen	20	16,26 %
Ukupno	123	100,00 %

Od ukupno 123 ispitanika, molekularne analize na FLT3 ITD urađene su kod 103 bolesnika (oko 84%), dok kod preostalih 20 (oko 16%) bolesnika, analize FLT ITD iz različitih tehničkih razloga, nisu urađene. Iz te grupe bolesnika (n=103), 46 (44.6%) je bilo pozitivno, dok je 57 (55.4%) bilo negativno.



Grafikon 6. Distribucija ispitanika u odnosu na analize FLT ITD

6.5.1. FLT3 ITD u pojedinim podtipovima AML po FAB klasifikaciji

Tabela 55. Incidencija nalaza za FLT3 ITD u pojedinim podtipovima AML po FAB klasifikaciji

FAB	Negativan FLT		Pozitivan FLT	
M0	4	36,36%	7	63,64%
M1	5	83,33%	1	16,67%
M2	15	53,57%	13	46,43%
M3	12	70,59%	5	29,41%
M4	5	62,50%	3	37,50%
M5	16	48,48%	17	51,52%
Ukupno	57	55,34%	46	44,66%

$$\chi^2=5,93, (NS).$$

Nije nađena statistički značajna razlika u pogledu učestanosti mutacija FLT3 kod različitih podtipova AML.

6.5.2. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na vrednosti serumske laktat dehidrogenaze

Tabela 56. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na vrednosti serumske LDH

FLT 3 ITD	LDH <440 U/l		LDH=440-1000		LDH>1000		Ukupno	
Negativan	15	65,22%	28	47,46%	14	66,67%	57	55,34%
Pozitivan	8	34,78%	31	52,54%	7	33,33%	46	44,66%
Ukupno	23	100,00%	59	100,00%	21	100,00%	103	100,00%

$\chi^2=3,48$, $df=2$, (NS).

Nema statistički značajne razlike u prisustvu pozitivnog i negativnog FLT u odnosu na vrednosti serumske LDH.

6.5.3. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na nalaz kariotipa

Tabela 57. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na nalaz u kariotipu

FLT 3 ITD	Normalan kariotip		Abnormalan kariotip		Ukupno	
Negativan	41	55,41%	15	62,50%	56	57,14%
Pozitivan	33	44,59%	9	37,50%	42	42,86%
Ukupno	74	100,00%	24	100,00%	98	100,00%

$\chi^2=1,14$, $df=1$, (NS).

Nema statistički značajne razlike u prisustvu pozitivnog i negativnog FLT u odnosu na nalaz kariotipa.

6.5.4. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na vrednosti sedimentacije

Tabela 58. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na vrednosti sedimentacije

FLT 3 ITD	Se < 12	Se 12-100	Se > 100	Ukupno
Negativan	4 66,67%	36 65,45%	17 40,48%	57 55,34%
Pozitivan	2 33,33%	19 34,55%	25 59,52%	46 44,66%
Ukupno	6 100,00%	55 100,00%	42 100,00%	103 100,00%

$$\chi^2=6,34, df=2, p<0,05$$

Evidentno je da je kod pacijenata sa vrednostima sedimentacije >100mm/h zastupljeniji nalaz mutacije FLT3 ITD, sa statistički značajnom razlikom na nivou p<0,05.

6.5.5. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na prisustvo/odsustvo blasta u perifernoj krvi

Tabela 59. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na prisustvo/odsustvo blasta u perifernoj krvi

FLT 3 ITD	Odsutni blasti u periferiji	Prisutni blasti u periferiji	Ukupno
Negativan	12 44,44%	43 58,11%	55 54,46%
Pozitivan	15 55,56%	31 41,89%	46 45,54%
Ukupno	27 100,00%	74 100,00%	101 100,00%

$$\chi^2=1,14, df=1, (NS).$$

Nema statistički značajne razlike u prisustvu pozitivnog i negativnog FLT u odnosu na prisustvo / odsustvo blasta u perifernoj krvi.

6.5.6. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na postotak blasta u kostnoj srži

Tabela 60. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na postotak blasta u kostnoj srži

FLT 3 ITD	Blasti do 20%		Blasti 20%- 50%		Blasti >50%		Ukupno	
Negativan	4	57,14%	15	55,56%	38	55,07%	57	55,34%
Pozitivan	3	42,86%	12	44,44%	31	44,93%	46	44,66%
Ukupno	7	100,00%	27	100,00%	69	100,00%	103	100,00%

$$\chi^2=3,48, df=2, (NS).$$

Nema statistički značajne razlike u prisustvu pozitivnog i negativnog FLT u odnosu na postotak blasta u kostnoj srži.

6.5.7. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na celularnost kostne srži

U odnosu na celularnost kostne srži, sve ispitanike smo podelili u grupu sa hipocelularnom kostnom srži (celularnost 0 - 2) i one sa hipercelularnom kostnom srži (celularnost 4 i više), budući da bolesnika sa normocelularnom kostnom srži (celularnost 3) nije bilo.

Tabela 61. Incidencija nalaza celularnosti kostne srži u odnosu na FAB podtip

FAB podtip	Celularnost k. srži snižena		Celularnost k. srži povišena		Ukupno
M0	2	14,3%	12	85,7%	14
M1	2	28,6%	5	71,4%	7
M2	1	3,0%	32	97,0%	33
M3	0	0,0%	21	100,00%	21
M4	1	8,3%	11	91,7%	12
M5	1	2,8%	35	97,2%	36
Ukupno	7	5,7%	116	94,3%	123

Tabela 62. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na celularnost kostne srži

FLT 3 ITD	Hipocelularnost		Hiper celularnost		Ukupno	
Negativan	4	66,67%	53	54,64%	57	55,34%
Pozitivan	2	33,33%	44	45,36%	46	44,66%
Ukupno	6	100,00%	97	100,00%	103	100,00%

$\chi^2=0,02$, $df=1$, (NS).

Na osnovu χ^2 testa, nema statistički značajne razlike u prisustvu pozitivnog i negativnog nalaza mutacije FLT3 ITD u odnosu na celularnost kostne srži (NS).

6.5.8. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na broj leukocita u perifernoj krvi

Tabela 63. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na broj leukocita u perifernoj krvi

FLT 3 ITD	Leukociti <4 x10 ⁹ /l		Leukociti 10-100 x10 ⁹ /l		Leukociti >100 x10 ⁹ /l		Ukupno	
Negativan	11	42,31%	40	63,49%	6	42,86%	57	55,34%
Pozitivan	15	57,69%	23	36,51%	8	57,14%	46	44,66%
Ukupno	26	100,00%	63	100,00%	14	100,00%	103	100,00%

$\chi^2=4,36$, $df=2$, (NS).

Nema statistički značajne razlike u prisustvu pozitivnog i negativnog nalaza mutacije FLT3 ITD u odnosu na broj leukocita.

6.5.9. Ishod lečenja u zavisnosti od prisustva FLT3 ITD i hiperleukocitoze

Tabela 64. Ishod lečenja u zavisnosti od prisustva FLT3ITD i hiperleukocitoze

Ishod lečenja	Bolesnici bez FLT3 i bez hiperleukocitoze		Bolesnici sa FLT3 i sa hiperleukocitozom		Ukupno	
	Broj	Procent	Broj	Procent	Broj	Procent
Refraktarna bolest	12	12,63%	1	12,50%	13	12,62%
Exitus	4	4,21%	3	37,50%	7	6,80%
Remisija	79	83,16%	4	50,00%	83	80,58%
Ukupno	95	100,00%	8	100,00%	103	100,00%

Na osnovu tabele kontigencije 3x2 evidentno je da se zastupljenost navedenih ishoda statistički značajno razlikuje između ispitanika koji imaju hiperleukocitozu ($Le > 100 \times 10^9/l$) i FLT3 ITD mutaciju i ispitanika koji nisu imali FLT3 ITD mutaciju, niti hiperleukocitozu ($p < 0,01$). Naime, zastupljenost ispitanika sa remisijom je statistički značajno manja ($p < 0,05$), a sa exitusom značajno veća ($p < 0,01$) u grupi pacijenata sa FLT3 ITD mutacijom i hiperleukocitozom.

6.5.10. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na broj trombocita

Tabela 65. Incidencija mutacije FLT3 ITD u odnosu na broj trombocita

FLT 3 ITD	Tr 450 -150		Tr 150-20		Tr <20		Ukupno	
	Broj	Procent	Broj	Procent	Broj	Procent	Broj	Procent
Negativan	14	73,68%	34	58,62%	9	34,62%	57	55,34%
Pozitivan	5	26,32%	24	41,38%	17	65,38%	46	44,66%
Ukupno	19	100,00%	58	100,00%	26	100,00%	103	100,00%

$$\chi^2=7,36, df=2, p<0,05$$

Zastupljenost pozitivnog nalaza mutacije FLT3 ITD raste sa smanjenjem broja trombocita, uz statistički značajnu razliku na nivou $p < 0,05$.

6.5.11. Incidencija nalaza za FLT3 ITD u odnosu na pojavu ranog relapsa

Tabela 66. Incidencija nalaza za FLT3 ITD u odnosu na pojavu ranog relapsa

FLT 3	Bez relapsa		Sa ranim relapsom		Ukupno	
Negativan	51	68,92%	6	21,43%	57	51
Pozitivan	23	31,08%	22	78,57%	45	23
Ukupno	74	100,00%	28	100,00%	102	74

$$\chi^2=16,71, df=1, p<0,001$$

Prisustvo relapsa do godinu dana statistički je značajno prisutnije kod pacijenata koji su bili pozitivni na FLT3 ITD mutaciju ($p<0,001$).

6.5.12. Ishod lečenja u zavisnosti od prisustva FLT3 ITD i starosti bolesnika

Ispitanike iz nače grupe smo podelili u dve grupe: U grupu bez verifikovane FLT3 ITD mutacije i mlađe od 60 godina i grupu sa prisutnom FLT3 ITD mutacijom, starije od 60 godina.

Tabela 67. Ishod lečenja u zavisnosti od prisustva FLT3 ITD i starosti bolesnika

	Bolesnici bez FLT3 < 60 godina		Bolesnici sa FLT3 > 60 godina		Ukupno	
Refraktarna bolest	7	8,64%	6	27,27%	13	12,62%
Exitus	4	4,94%	3	13,64%	7	6,80%
Remisija	70	86,42%	13	59,09%	83	80,58%
Ukupno	81	100,00%	22	100,00%	103	100,00%

Na osnovu tabele kontingencije 3x2 zastupljenost navedenih ishoda statistički se značajno razlikuje između ispitanika koji imaju FLT3 ITD mutaciju i stariji su od 60god u odnosu na grupu bolesnika bez FLT3 ITD mutacije i mlađih od 60 godina. ($p<0,05$). Naime, zastupljenost ispitanika sa remisijom je statistički značajno manja ($p<0,05$), a sa refraktarnom bolešću značajno veća ($p<0,05$) u grupi pacijenata starijih od 60 godina i FLT3 ITD mutacijom.

6.6. ANALIZE KARIOMETRIJSKIH PARAMETARA

U našoj grupi ispitanika ispitivali smo sledeće kariometrijske parametre: - prosečni areal jedra ćelije, srednju vrednost optičke gustine jedra, standardnu devijaciju i modnu vrednost optičke gustine jedra, integrisani optički denzitet jedra, perimetar, Feretov dijametar i konačno, cirkularnost jedra.

Primenom MANOVA testa dobijene su statistički visoko značajne razlike u pogledu kariometrijskih parametara između različitih FAB podtipova AML ($p < 0,01$)

6.6.1. Prosečni areal jedra ćelije

Tabela 68. Prosečni areal jedra ćelije

AML Podtip	AREAL (u pikselima) $\bar{x} \pm SD$
M0	100,37±17,35
M1	91,12±16,15
M2	98,50±15,42
M3	94,40±16,67
M4	111,40±21,53
M5	106,10±22,02
Svi ispitanici	101,08±19,15

Prosečan areal jedra ćelije za celu grupu naših ispitanika iznosio je $101,08 \pm 19,15$ piksela. Najmanji areal bio je u podtipu AML M1 ($91,12 \pm 16,15$), dok je najveća vrednost areala utvrđena kod AML M4 podtipa ($111,40 \pm 21,53$).

Primenom ANOVA testa nađene su statistički značajne razlike u pogledu arela jedra između različitih FAB podtipova AML ($p < 0,05$). Primenom t-testa, statistički značajne razlike nađene su između M1 i M4 podtipa ($p < 0,05$) i M3 i M4 podtipa ($p < 0,05$), dok ostale razlike nisu statistički značajne.

6.6.2 Obim (perimetar) jedra

Tabela 69. Vrednosti perimetra jedara u našoj grupi ispitanika

AML Podtip	PERIMETER JEDRA $\bar{x} \pm SD$
M0	40,16±3,97
M1	38,34±4,15
M2	40,38±3,09
M3	38,95±3,29
M4	43,11±3,68
M5	42,52±5,34
Svi ispitanici	40,89±4,31

Srednja vrednost perimetra jedra za celu grupu ispitanika iznosila je 40,89±4,31. Najveća vrednost ovog parametrea utvrđena je u podtipu AML M4 (43,11±3,68), dok je najmanja vrednost bila u grupi AML M1 (38,34±4,15).

Primenom ANOVA testa dobijene su visoko statistički značajne razlike između različitih FAB podtipova ($p < 0,01$). Primenom t-testa statistički značajne razlike nađene su između grupa M1 i M4 ($p < 0,05$), M3 i M4 ($p < 0,01$), dok ostale razlike nisu statistički značajne.

6.6.3. Feretov dijametar

Tabela 70. Vrednosti Feretovog dijametra jedra u našoj grupi ispitanika

AML Podtip	FERETOV DIJAMETAR $\bar{x} \pm SD$
M0	13,24±1,49
M1	12,50±1,24
M2	13,16±1,23
M3	12,87±1,27
M4	14,44±1,58
M5	14,05±1,61
Svi ispitanici	13,47±1,51

Srednja vrednost Feretovog dijametra jedra za celu grupu ispitanika iznosila je $13,47 \pm 1,51$. Najveća vrednost ovog parametrea utvrđena je u podtipu AML M4 ($14,44 \pm 1,58$), dok je najmanja vrednost bila u grupi AML M1 ($12,50 \pm 1,24$).

Primenom ANOVA testa dobijene su statistički značajne razlike između različitih FAB podtipova ($p < 0,01$). Primenom t-testa statistički značajne razlike nađene su između grupa M1 i M4 ($p < 0,05$), M1 i M5 ($p < 0,05$), M3 i M4 ($p < 0,01$), M3 i M5 ($p < 0,01$), dok ostale razlike nisu statistički značajne.

6.6.4. Srednja vrednost optičke gustine (OD) jedra ćelije

Tabela 71. Srednja vrednost optičke gustine

AML Podtip	Srednja vrednost OD $\bar{x} \pm SD$
M0	$0,35 \pm 0,07$
M1	$0,33 \pm 0,03$
M2	$0,34 \pm 0,08$
M3	$0,36 \pm 0,07$
M4	$0,35 \pm 0,03$
M5	$0,35 \pm 0,07$
Svi ispitanici	$0,35 \pm 0,07$

Srednja vrednost optičke gustine za celu grupu ispitanika iznosila je $0,35 \pm 0,07$. Najveća vrednost optičke gustine utvrđena je u podtipu AML M3 ($0,36 \pm 0,07$), dok je najmanja vrednost utvrđena u podtipu AML M1 ($0,33 \pm 0,03$), ali dobijene razlike nisu statistički značajne.

6.6.5. Standardna devijacija optičke gustine (SD OD)

Tabela 72. Vrednosti standardne devijacije optičke gustine

AML Podtip	SD OD $\bar{x} \pm SD$
M0	0,06±0,02
M1	0,05±0,01
M2	0,06±0,02
M3	0,06±0,02
M4	0,05±0,01
M5	0,05±0,01
Svi ispitanici	0,05±0,02

Standardna devijacija optičke gustine (SD OD) za celu grupu ispitanika iznosila je $0,05 \pm 0,02$. Najveća vrednost standardne devijacije optičke gustine utvrđena je u podtipovima AML M0, M2, odnosno M3 ($0,06 \pm 0,02$), dok je najmanja vrednost utvrđena u podtipu AML M1 i M4, odnosno M5 ($0,05 \pm 0,01$), što ukazuje na heterogenost jedara u prva tri spomenuta podtipa.

Primenom ANOVA testa dobijene su statistički značajne razlike između različitih FAB podtipova ($p < 0,05$). Primenom t-testa nađene su statistički značajne razlike između podgrupa M0 i M4 ($p < 0,05$), M0 i M5 ($p < 0,05$), M2 i M4 ($p < 0,05$), dok ostale razlike nisu statistički značajne.

6.6.6. Modna vrednost optičke gustine jedra

Tabela 73. Modna vrednost optičke gustine jedra u našoj grupi ispitanika

AML Podtip	MOD OD $\bar{x} \pm SD$
M0	0,34±0,08
M1	0,32±0,03
M2	0,33±0,08
M3	0,35±0,09
M4	0,34±0,03
M5	0,34±0,08
Svi ispitanici	0,34±0,07

Modna vrednost optičke gustine jedra (MDOD) za celu grupu ispitanika iznosila je 0,34±0,07. Najmanja vrednost ovog parametra utvrđena je u podtipu AML M1 (0,32±0,03), dok je najveća vrednost utvrđena u podtipu AML M3 (0,35±0,09), ali dobijene razlike nisu statistički značajne.

6.6.7. Integrisana optička gustina (IOD) jedra

Tabela 74. Vrednosti integrisanog optičkog denziteta jedra u našoj grupi ispitanika

AML Podtip	INTEGRISANI OPTIČKI DENZITET $\bar{x} \pm SD$
M0	1352,94±411,98
M1	1155,49±302,02
M2	1313,45±324,27
M3	1233,21±317,71
M4	1638,11±483,78
M5	1523,23±482,5
Svi ispitanici	1388,34±418,34

Srednja vrednost integrisanog optičkog denziteta jedra za celu grupu ispitanika iznosila je $1388,34 \pm 418,34$. Najveća ovog parametra utvrđena je u podtipu AML M4 ($1638,11 \pm 483,78$), dok je najmanja vrednost utvrđena u podtipu AML M1 ($1155,49 \pm 302,02$).

Primenom ANOVA testa nađene su statistički visoko značajne razlike između različitih FAB podtipova ($p < 0,01$). Primenom t-testa statistički značajne razlike nađene su između grupa M1 i M4 ($p < 0,05$), i M2 i M4 ($p < 0,05$), M1 i M3 ($p < 0,01$), dok ostale razlike nisu statistički značajne.

6.6.8. Cirkularnost jedra

Tabela 75. Vrednosti cirkularnosti jedra u našoj grupi ispitanika

AML Podtip	CIRKULARNOST $\bar{x} \pm SD$
M0	$0,78 \pm 0,03$
M1	$0,77 \pm 0,03$
M2	$0,75 \pm 0,03$
M3	$0,77 \pm 0,03$
M4	$0,74 \pm 0,04$
M5	$0,73 \pm 0,05$
Svi ispitanici	$0,75 \pm 0,04$

Srednja vrednost cirkularnosti jedra za celu grupu ispitanika iznosila je $0,75 \pm 0,04$. Najveća vrednost ovog parametra utvrđena je u podtipu AML M0 ($0,78 \pm 0,03$), dok je najmanja vrednost bila u grupi AML M5 ($0,73 \pm 0,05$).

Primenom ANOVA testa nađene su statistički visoko značajne razlike između različitih FAB podtipova ($p < 0,01$). Primenom t-testa statistički značajne razlike nađene su između grupa M0 i M2 ($p < 0,05$), M0 i M4 ($p < 0,05$), M0 i M5 ($p < 0,05$), M2 i M5 ($p < 0,05$), M3 i M5 ($p < 0,01$), dok ostale razlike nisu statistički značajne.

6.6.9. Testovi korelacija kariometrijskih varijabli i starosti bolesnika

Tabela 76. Korelacija starosti bolesnika i kariometrijskih varijabli

	N	Spearman R	t(N-2)	p
Starost / Areal	123	0.000910	0.010007	0.992032
Starost / Prosečan OD	123	-0.007510	-0.082617	0.934293
Starost / SD OD	123	0.041340	0.455130	0.649831
Starost/ MOD OD	123	0.001194	0.013130	0.989545
Starost / Perimetar	123	0.013941	0.153368	0.878363
Starost / Cirkularnost	123	0.047645	0.524692	0.600757
Starost / Feret	123	-0.002486	-0.027342	0.978232
Starost / IOD	123	-0.006929	-.076225	0.939366

Nije nađena statistički značajna korelacija između starosti bolesnika i kariometrijskih varijabli.

6.6.10. Korelacije kariometrijskih varijabli i procenta CD34⁺ ćelija

Tabela 77. Korelacije kariometrijskih varijabli i procenta CD34⁺ pozitivnih ćelija

	N	Spearman R	t(N-2)	p
% CD34 / Areal	112	-0.010968	-0.115036	0.908626
% CD34 / Prosečni OD	112	-0.012534	-0.131467	0.895646
% CD34 / SD OD	112	0.143329	1.518934	0.131648
% CD34 / MOD OD	112	0.016793	0.176148	0.860501
% CD34 / Perimetar	112	-0.012965	-0.135987	0.892080
% CD34 / Cirkularnost	112	0.060381	0.634434	0.527115
% CD34 / Feret	112	-0.018341	-0.192391	0.847791
% CD34 / IOD	112	-0.015201	-0.159447	0.873609

Nije nađena statistički značajna korelacija između procenta CD34⁺ ćelija i kariometrijskih varijabli.

6.6.11. Korelacije kariometrijskih varijabli i procenta CD33⁺ ćelija

Tabela 78. Korelacije kariometrijskih varijabli i procenta CD33⁺ pozitivnih ćelija

	N	Spearman R	t(N-2)	p
% CD33 / Areal	112	-0.049129	-0.51590	0.606963
% CD33 / Prosečni OD	112	0.139884	1.48169	0.141283
% CD33 / SD OD	112	-0.004619	-0.04845	0.961449
% CD33 / MOD OD	112	0.118209	1.24854	0.214483
% CD33 / Perimetar	112	-0.001412	-0.01481	0.988214
% CD33 / Cirkularnost	112	-0.169376	-1.80247	0.074209
CD33 / Feret	112	0.009301	0.09755	0.922468
% CD33 / IOD	112	-0.022417	-0.23517	0.814511

Nije nađena statistički značajna korelacija između procenta CD33⁺ ćelija i kariometrijskih varijabli.

6.6.12. Korelacije kariometrijskih varijabli i nalaza u kariotipu

Tabela 79. Vrednosti kariometrijskih varijabli kod bolesnika sa i bez anomalija kariotipa

	Bolesnici bez anomalija kariotipa (N=81)	Bolesnici sa anomalijama kariotipa (N=27)	t	df	p
Areal	100.07±18.01	108.17±22.22	-1.90670	106	0.059267
Prosečni OD	0.35±0.69	0.35±0.59	-.180077	106	0.857436
SD OD	0.05±0.02	0.06±0.01	-.242384	106	0.808951
MOD OD	0.34±0.06	0.35±0.06	-.271122	106	0.786825
Perimetar	40.67±4,25	42.27±4.33	-.271122	106	0.094939
Cirkularnost	0.75±0.04	0.75±0.03	.875577	106	0.875577
Feret	13.39±1.44	13.96±1.62	.090201	106	0.090201
IOD	1364.27±388.02	1542.08±505.13	-1.90603	106	0.059355

Nisu nađene statistički značajne razlike u vrednostima kariometrijskih varijabli između bolesnika sa i bez anomalija kariotipa.

6.6.13. Razlike u kariometrijskim parametrima u odnosu na nalaz FLT3 ITD

Tabela 80. Razlike u kariometrijskim parametrima u odnosu na FLT3 ITD

	FLT 3 negativni	FLT 3 pozitivni	t	df	p
Areal	95.32±16.15	105.87±20.75	-2.90255	101	.004545
Prosečni OD	0.35±0.06	0.36±0.07	.909781	101	.365104
SD OD	0.05±0.01	0.06±0.02	.894353	101	.373259
MOD OD	0.34±0.07	0.35±0.08	.910547	101	.364702
Perimetar	39.52±3.53	42.15±4.95	-3.13165	101	.002274
Cirkularnost	0.75±0.03	0.76±0.05	1.622699	101	.107771
Feret	12.99±1.22	13.87±1.67	-3.09419	101	.002553
IOD	1256.36±323.9	1500.18±466.52	-3.11797	101	.002373

Areal, obim, Feretov dijametar i IOD jedara su statistički visoko značajno veći kod bolesnika koji su FLT3 pozitivni u odnosu na bolesnike koji su FLT3 negativni ($p < 0.01$).

FLT3 i kariometrija

Primenom diskriminantne analize nađene su statistički značajne razlike između FLT3 pozitivnih i negativnih pacijenata (Wilks' Lambda: .82099 approx. $F(8,94) = 2.5620$ $p < 0.0142$).

Tabela 81. Rezultati diskriminantne analize

	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (1,94)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr.)
Areal	0.856928	0.958065	4.114466	0.045347	0.002551	0.997449
Prosečni D	0.824327	0.995955	0.381777	0.538148	0.087501	0.912499
SD OD	0.845282	0.971264	2.781080	0.098712	0.511029	0.488971
MOD OD	0.824376	0.995896	0.387414	0.535169	0.096153	0.903847
Perimetar	0.854304	0.961007	3.814041	0.053799	0.003182	0.996818
Cirkularnost	0.846533	0.969829	2.924322	0.090553	0.036714	0.963286
Feret	0.835120	0.983083	1.617584	0.206567	0.026402	0.973598
IOD	0.845953	0.970494	2.857895	0.094240	0.007130	0.992870

Statistički značajne razlike između FLT3 pozitivnih i negativnih pacijenata nađene su samo za areal jedara ($p < 0.05$).

6.6.14. Korelacija između kariometrijskih varijabli i vremena do progresije bolesti

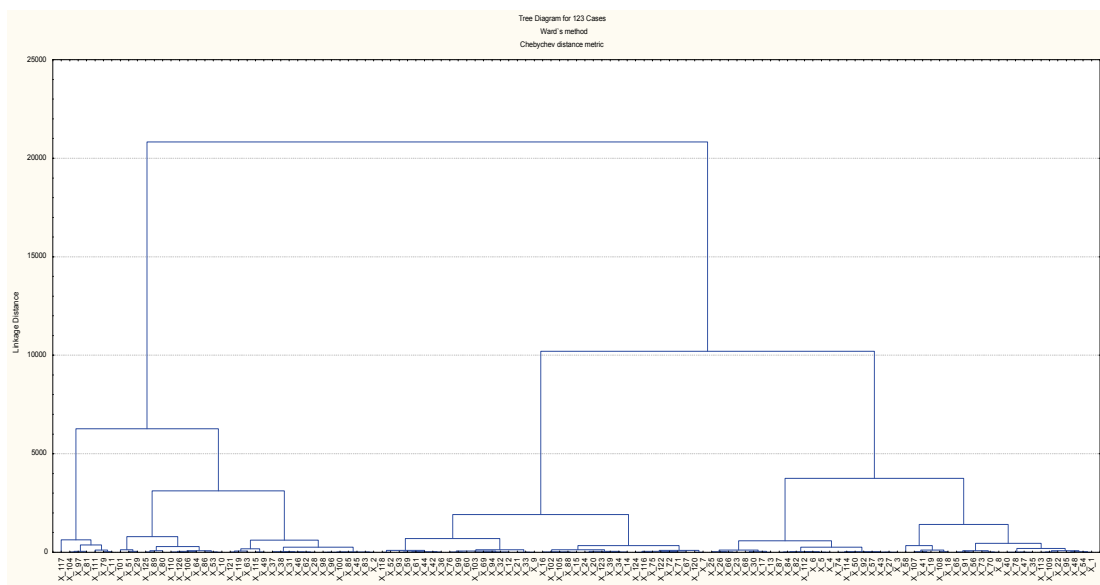
Tabela 82. Korelacija između vremena do progresije bolesti i kariometrijskih varijabli

	N	Spearman R	t (N-2)	p
VDP / Areal	96	-0.081083	-0.788721	0.432260
VDP/ Prosečni OD	96	0.095008	0.925321	0.357168
VDP / SD OD	96	-0.062420	-0.606369	0.545731
VDP / MOD OD	96	0.085536	0.832348	0.407322
VDP / Perimetar	96	-0.089068	-0.866988	0.388156
VDP / Cirkularnost	96	0.037456	0.363402	0.717120
VDP / Feret	96	-0.082173	-0.799402	0.426073
VDP / IOD	96	-0.078223	-0.760733	0.448721

Nisu nađene statistički značajne korelacije između VDP i kariometrijskih varijabli.

6.6.15. Klaster analize kariometrijskih varijabli

Na osnovu unetih kariometrijskih varijabli, korišćenjem Ward-ovog metoda i Chebyshev-e metričke distance, izdvojena su četiri klastera (Grafikon 7).



Grafikon 7. Kluster analiza po kariometrijskim varijablama

Tabela 83. Vrednosti kariometrijskih varijabli kod različitih klastera

	Areal	Mean OD	SD OD	Mod OD	Perimetar	Cirkularnost	Feretov dijametar	IOD
KLASTER 1 (N= 7)	146.6±10.7	0.35±0.06	0.06±0.02	0.32±0.05	50.64±2.22	0.72±0.07	16.84±0.53	2468.07±179.5
KLASTER 2 (N= 30)	117.49±7.3	0.36±0.06	0.05±0.02	0.35±0.06	44.63±1.98	0.74±0.04	14.81±0.72	1742.69±175.0
KLASTER 3 (N= 40)	101.98±4.61	0.33±0.07	0.06±0.01	0.32±0.08	41.06±1.15	0.76±0.04	13.53±0.48	1379.94±90.82
KLASTER 4 (N= 46)	82.65±8.75	0.35±0.06	0.06±0.02	0.32±0.08	36.81±2.24	0.76±0.04	12.03±0.74	1000.22±155.51

Najveće vrednosti areala jedara nađene su u klasteru 1 i statistički su visoko značajno veće od vrednosti za klaster 2, 3 i 4 ($p < 0.01$).

Najmanje vrednosti areala jedara nađene su u klasteru 4 i statistički su visoko značajno manje od vrednosti za klaster 1, 2, i 3 ($p < 0.01$).

Razlike između klastera 2 i 3 su takođe visoko statistički značajne ($p < 0.01$).

Najmanje vrednosti optičke gustine jedara su u klasteru 3 a najveće u klasteru dva ali dobijene razlike nisu statistički značajne.

Najmanje vrednosti standardne devijacije optičke gustine jedara su u klasteru 2 ali dobijene razlike nisu statistički značajne.

Najveće vrednosti moda optičke gustine su u klasteru 3 ali dobijene razlike nisu statistički značajne.

Najveće vrednosti obima jedara nađene su u klasteru 1 i statistički su visoko značajno veće od vrednosti za klaster 2, 3 i 4 ($p < 0.01$). Najmanje vrednosti obima jedara nađene su u klasteru 4 i statistički su visoko značajno manje od vrednosti za klaster 1, 2, i 3 ($p < 0.01$). Razlike između klastera 2 i 3 su takođe visoko statistički značajne ($p < 0.01$).

Najmanje vrednosti cirkularnosti jedara nađene su u klasteru 1 i statistički su značajno manje od vrednosti cirkularnosti jedara u klasterima 3 i 4 ($p < 0.05$). Razlika između klastera 1 i 2 nije statistički značajna, do su razlike između klastera 2 i 3 statistički značajne ($p < 0.05$).

Najmanje vrednosti Feretovog dijametra jedara nađene su u klasteru 4 i statistički su visoko značajno manje od vrednosti Feretovog dijametra jedara u klasterima 1, 2 i 3 ($p < 0.01$). Razlike između klastera 1 i 2, kao i između klastera 2 i 3 su visoko statistički značajne ($p < 0.01$).

Najmanje vrednosti IOD jedara nađene su u klasteru 4 i statistički su visoko značajno manje od vrednosti Feretovog dijametra jedara u klasterima 1, 2 i 3 ($p < 0.01$). Razlike između klastera 1 i 2, kao i između klastera 2 i 3 su visoko statistički značajne ($p < 0.01$).

6.7. KORELACIJE ISPITIVANIH PARAMETARA SA DUŽINOM PREŽIVLJAVANJA

6.7.1. Starost bolesnika i dužina preživljavanja (DP)

Tabela 84. Korelacija starosti bolesnika i dužine preživljavanja u mesecima

	N	Spearman R	t (N-2)	p
DP / Starost	123	-0.32	-3.7	0.000321

Nađena je statistički visoko značajna negativna korelacija između dužine preživljavanja i starosti bolesnika ($p < 0,01$).

6.7.2. Dužina preživljavanja i vrednosti serumske laktat dehidrogenaze

Tabela 85. Dužina preživljavanja u mesecima, kod bolesnika sa normalnim i povišenim vrednostima serumske laktat dehidrogenaze

	Normalne vrednosti LDH (N= 24)	Povišene vrednosti LDH (N= 98)	t-value	df	p
DP	22.13±17.48	15.81±18.23	1.53	120	0.13

Nije nađena statistički značajna razlika između dužine preživljavanja kod bolesnika sa normalnim i povišenim vrednostima serumske LDH (NS).

6.7.3. Testovi korelacije dužine preživljavanja u odnosu na celularnost

Tabela 86. Dužina preživljavanja u mesecima i celularnost kostne srži

	Hipocelularna kostna srž (N= 7)	Hipercelularna kostna srž (N= 116)	t-value	df	p
DP	12.60±10.14	17.19±18.54	-0.65	121	0.52

Nije nađena statistički značajna razlika u dužini preživljavanja između bolesnika sa hipocelularnom i hipercelularnom kostnom srži (t- test, NS).

6.7.4. Dužina preživljavanja i procenat CD34 i CD33 pozitivnih ćelija

Tabela 87. Korelacija dužine preživljavanja i procenta CD34 i CD 33 pozitivnih ćelija

	N	Spearman R	t (N-2)	p
DP / CD34%	112	-0.113380	-1.19685	0.233937
DP / CD33%	112	-0.137149	-1.45216	0.149304

Nije nađena statistički značajna korelacija između vremena preživljavanja i procenta CD34 i CD33 pozitivnih ćelija (NS).

6.7.5. Odnos preživljavanja i prisustva/odsustva kariotipskih anomalija

Tabela 88. Dužina preživljavanja kod bolesnika sa i bez kariotipskih anomalija

	Bez anomalija kariotipa (N= 81)	Sa anomalijama kariotipa (N= 27)	t-value	df	p
DP (meseci)	18.4±18.14	20.4±18.7	-0.492688	106	0.62

Nije nađena statistički značajna razlika u vremenu preživljavanja bolesnika bez i sa anomalijama kariotipa tumorskih ćelija (t-test, NS).

6.7.6. Testovi korelacije vremena preživljavanja i VDP

Tabela 89. Korelacija dužine preživljavanja (DP) i vremena do progresije bolesti (VDP)

	N	Spearman R	t(N-2)	p
DP / VDP	96	0.810197	13.40109	0.000000

Nađena je statistički visoko značajna korelacija između vremena preživljavanja i VDP ($p < 0,001$).

6.7.7. Testovi korelacije između nalaza FLT3 ITD i dužine preživljavanja

Tabela 90. Testovi korelacije između FLT pozitivnih i FLT negativnih pacijenata u odnosu na dužinu preživljavanja i vreme do progresije bolesti

	Starost (godine)	DP (meseći)	VDP (meseći)
FLT 3 ITD negativni	52.32±16.64	29,22±19.23	34.51±38.22
FLT 3 ITD pozitivni	56.46±17.44	10.81±16.39	9.74±21.34

FLT3 pozitivni bolesnici žive statistički visoko značajno kraće (oko 11 meseci) u odnosu na FLT3 negativne bolesnike (oko 30 meseci) ($p < 0,001$).

Bolesnici koji su negativni na FLT3 imaju statistički značajno duži VP u odnosu na bolesnike koji su FLT3 pozitivni ($p < 0,001$).

Razlika u starosti FLT3 negativnih i FLT3 pozitivnih bolesnika nije statistički značajna.

6.7.8. Korelacija između dužine preživljavanja i kariometrijskih varijabli

Tabela 91. Korelacija između kariometrijskih varijabli i dužine preživljavanja

	N ^o	Spearman R	t (N-2)	p
DP / AREAL	123	-0.248517	-2.82223	0.005577
DP / Prosečni OD	123	0.071651	0.79019	0.430964
DP / SD OD	123	-0.077395	-0.85391	0.394843
DP / MOD OD	123	0.075082	0.82824	0.409165
DP / PERIMETAR	123	-0.247645	-2.81168	0.005751
DP / CIRKULARNOST	123	0.062441	0.68819	0.492651
DP / FERET	123	-0.258955	-2.94910	0.003826
DP / IOD	123	-0.249237	-2.83094	0.005437

Dužina preživljavanja je u statistički visoko značajnoj negativnoj korelaciji sa vrednostima areala, obima, Feret-ovog dijametara i IOD jedara ($p < 0,01$). Ostale korelacije nisu statistički značajne.

6.7.9. Analize dužine preživljavanja kod različitih klastera

Tabela 92. Dužina preživljavanja kod različitih klastera

Klaster br.	N	Dužina preživljavanja (meseći)
1	7	12.64±17.75
2	30	12.63±16.35
3	40	11.91±12.82
4	46	24.75±20.92

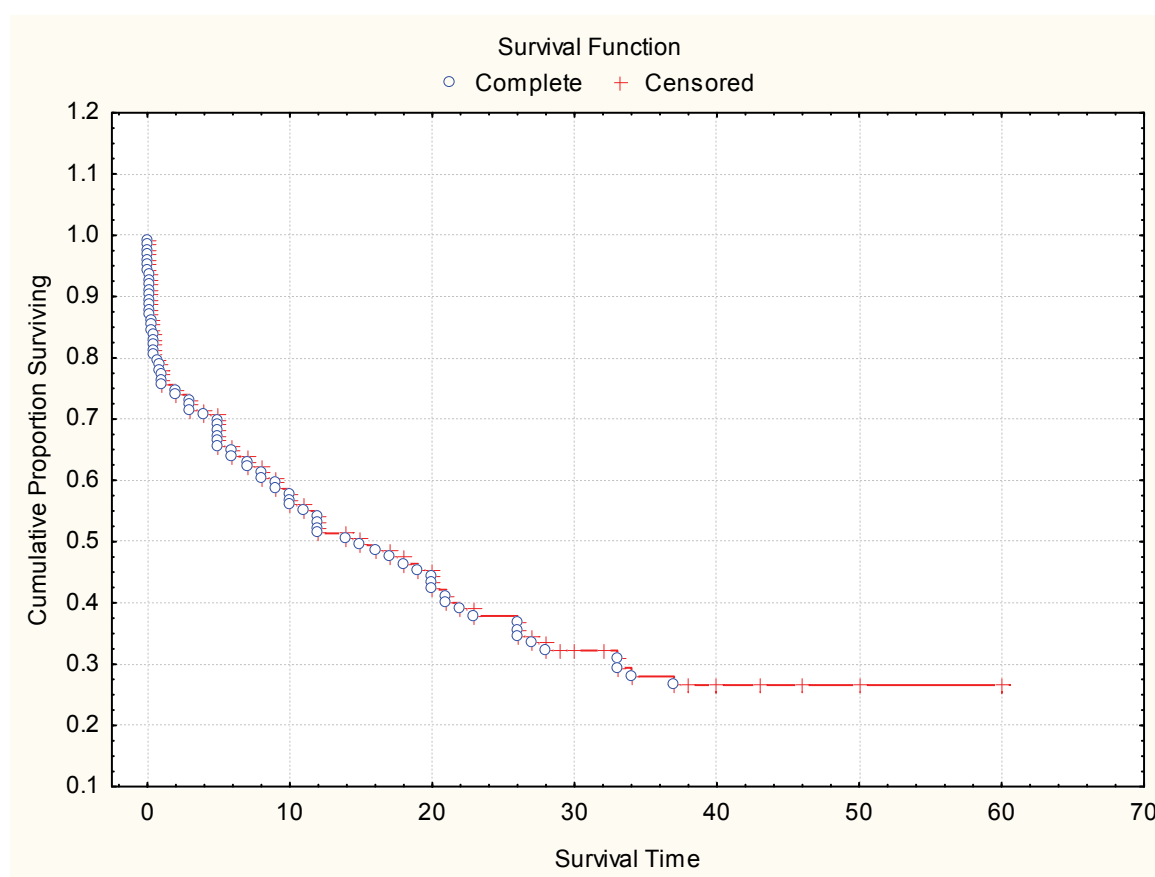
Najkraće vreme preživljavanja je u klasteru 3 (oko 12 meseci) a najduže u klasteru 4 (oko dve godine).

Nađene su statistički značajne razlike u dužini preživljavanja (DP) između klastera 4 i klastera 2, kao i između klastera 4 i klastera 3 ($p < 0.01$). Ostale razlike nisu statistički značajne.

6.8. KAPLAN MEIEROVE ANALIZE PREŽIVLJAVANJA

Kaplan Meierovim analizama moguće je proceniti dužinu preživljavanja, predstavljenu u vidu postotka bolesnika koji preživljavaju za određeno vreme posmatranja, tj. trajanja studije. Prednost ove analize je što uzima u obzir i tzv. cenzurisane podatke, koji se odnose na bolesnike koji su iz bilo kog razloga isključeni iz daljeg praćenja (napustili lečenje ili nepoznat ishod) (Collett, 2003).

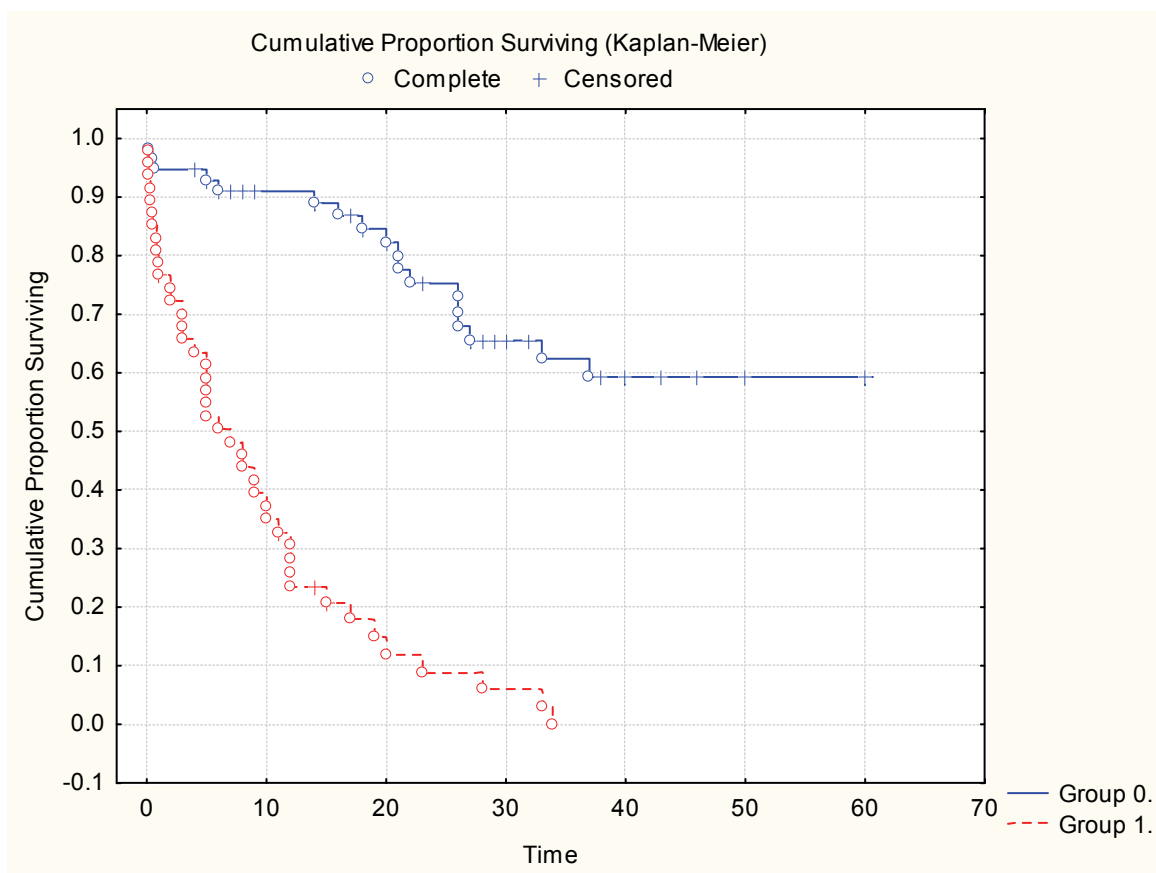
6.8.1. Kaplan Meierove analize dužine preživljavanja za celu grupu ispitanika



Grafikon 8. Kaplan Meierove analize kumulativnog preživljavanja u mesecima za celu grupu ispitanika.

Prvu godinu od početka bolesti preživi oko 50% bolesnika. Dve godine preživi oko 37% bolesnika. Tri godine preživi oko 27% bolesnika.

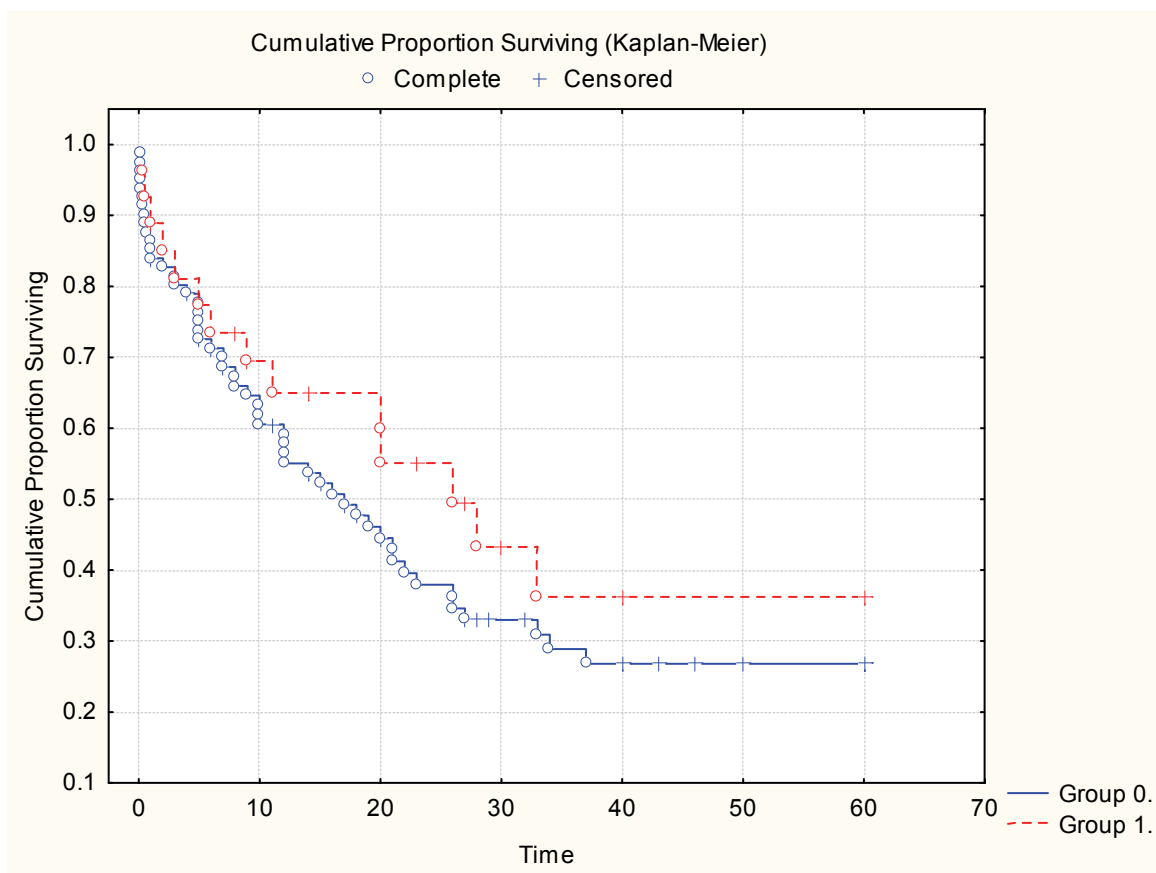
6.8.2. Kaplan Meierove analize preživljanja bolesnika u odnosu na prisustvo FLT3 ITD



Grafikon 9. Kumulativno preživljavanje u mesecima u odnosu na FLT3 ITD.

Kaplan Meierovim analizama nađena je statistički visoko značajna razlika u preživljanju u odnosu na FLT3 ITD, pri čemu su bolesnici sa mutacijom FLT ITD živeli manje od 40 meseci (Grupa 1), dok su bolesnici bez ove mutacije živeli preko 60 meseci (Grupa 0). (log rank test, $p < 0.01$)

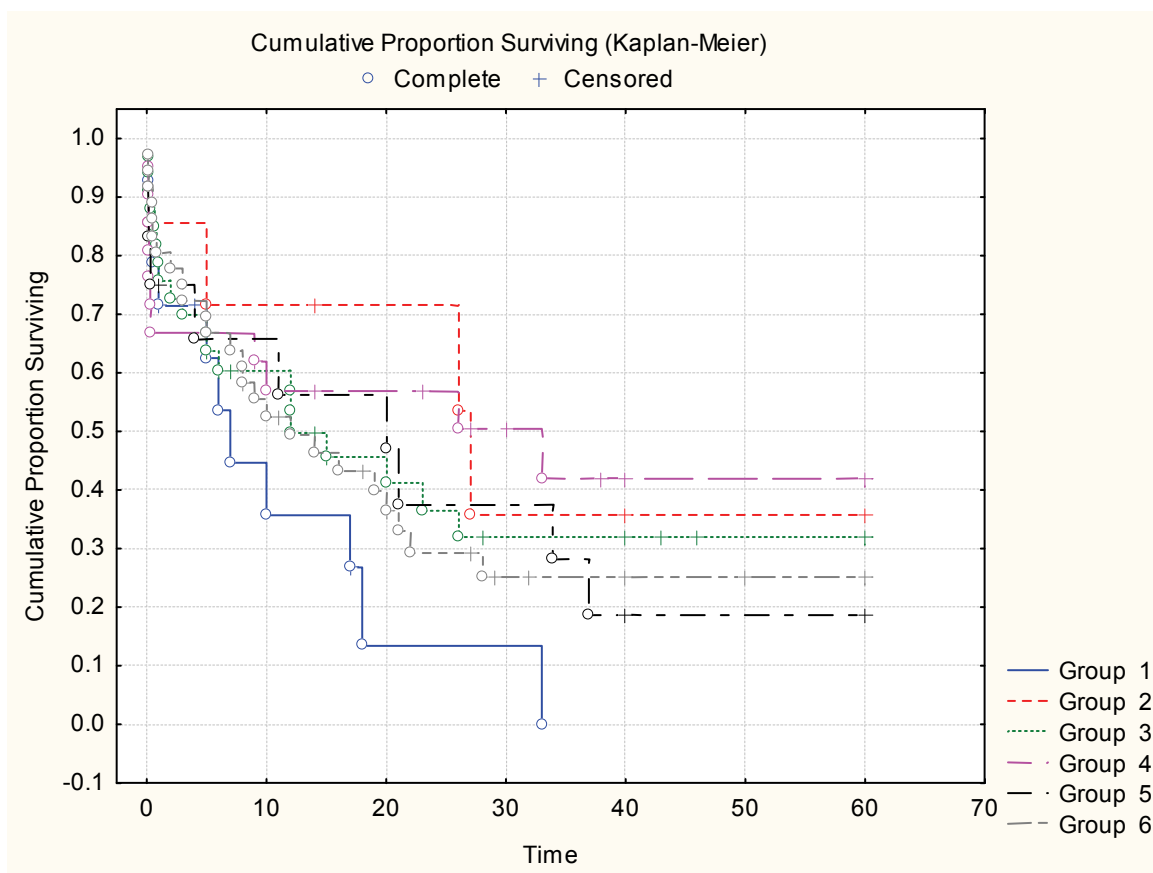
6.8.3. Kaplan Meierove analize preživljavanja u odnosu na citogenetski nalaz



Grafikon 10. Kaplan Meierove analize preživljavanja u odnosu na citogenetski nalaz.

Na osnovu nalaza u kariotipu, svi bolesnici su podeljeni u dve grupe: Grupu 0 - sa normalnim kariotipom i Grupu 1 sa abnormalnim kariotipom. Kaplan-Meier-ova analiza nije pokazala statistički značajne razlike u preživljavanju između ove dve grupe (NS).

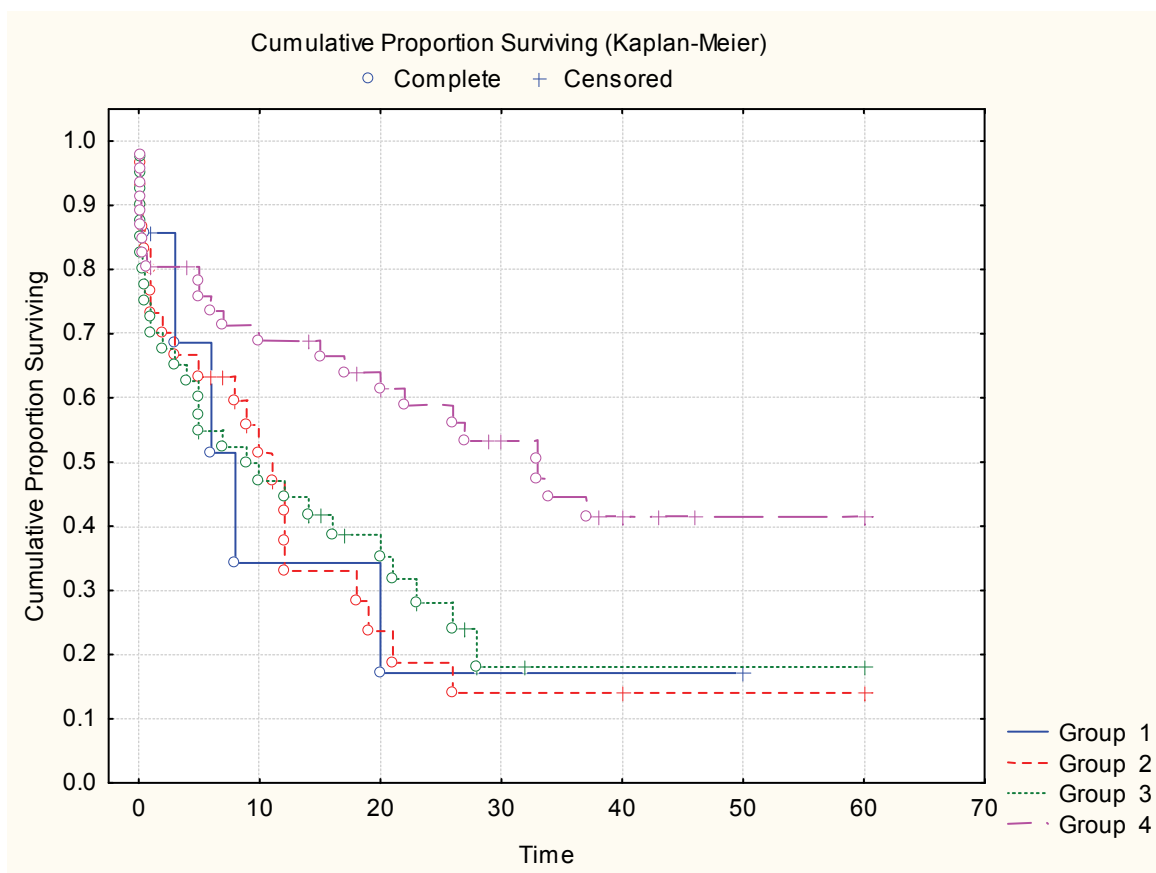
6.8.4. Kaplan Meierove analize preživljanja bolesnika u odnosu na FAB podtip AML



Grafikon 11. Kaplan Meierove analize preživljanja bolesnika u odnosu na FAB podtip AML.

Svi ispitanici su, shodno FAB podtipu, klasifikovani u šest grupa (AML M0 - M5). Nisu utvrđene statistički značajne razlike u preživljanju između bolesnika u odnosu na podtip bolesti po FAB klasifikaciji (NS).

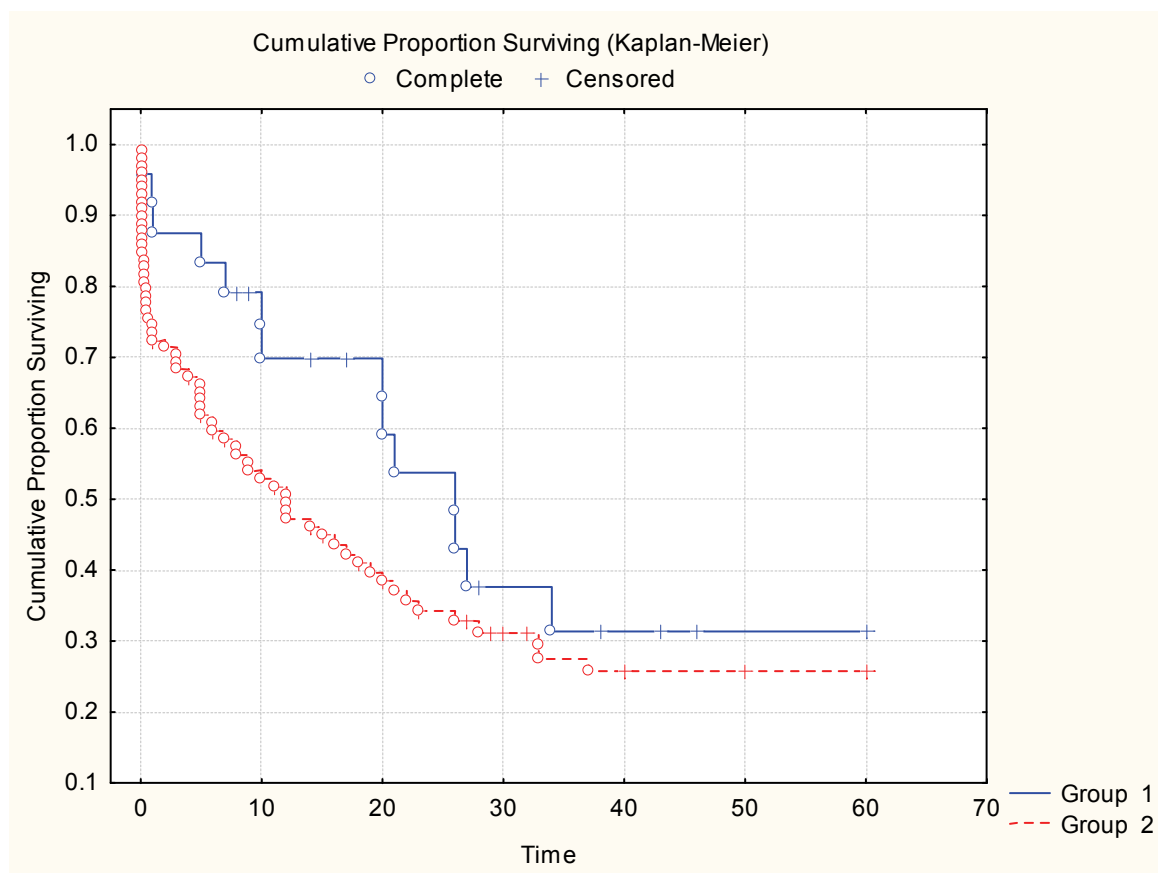
6.8.5. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika u odnosu na klaster



Grafikon 12. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika u odnosu na klaster.

Prethodno učinjenom klaster metodom, svi bolesnici su podjeljeni u četiri klastera. Kaplan-Meierove analize preživljavanja nisu utvrdile statistički značajne razlike u preživljavanju između bolesnika koji pripadaju različitim klasterima (NS).

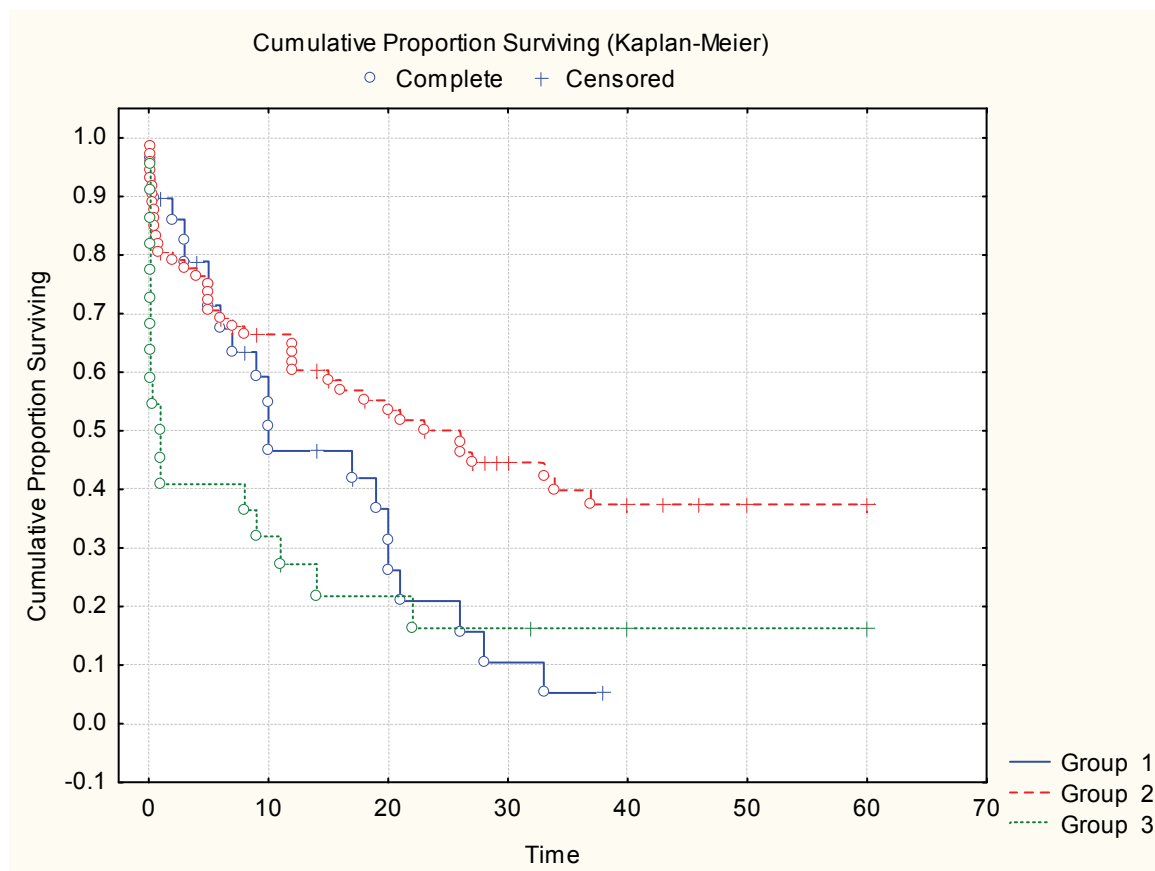
6.8.6. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika u odnosu na vrednost LDH



Grafikon 13. Kaplan Meierove analize preživljavanja bolesnika u odnosu na vrednost LDH.

U odnosu na vrednost LDH, svi ispitanici su podeljeni u dve grupe. Grupu 1 čine bolesnici sa vrednostima LDH u fiziološkim granicama, dok su u grupi 2 bolesnici sa visokim vrednostima LDH. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u preživljavanju između bolesnika sa normalnim vrednostima LDH (grupa 1) i bolesnika sa povišenim vrednostima LDH (grupa 2) (NS).

6.8.7. Kaplan Meierove analize preživljavanja između ispitanika u odnosu na broj leukocita u perifernoj krvi.



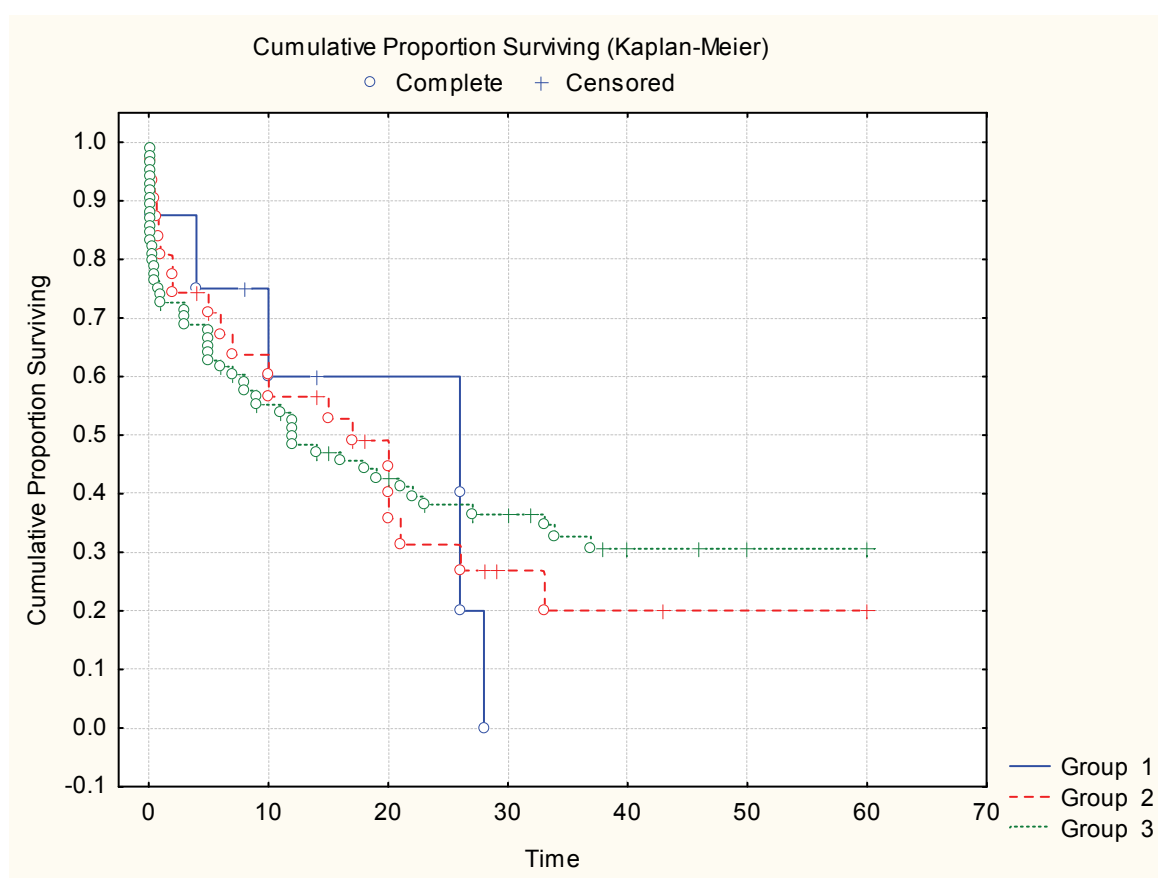
Grafikon 14. Kaplan Meierove analize preživljavanja između ispitanika sa različitim brojem leukocita u perifernoj krvi.

Sve ispitanike smo u odnosu na broj leukocita u perifernoj krvi podelili u tri grupe: Grupu 1 - sa leukopenijom, Grupu 2 - sa umereno povišenim brojem leukocita (do $100.000 \times 10^9/L$) i Grupu 3 sa hiperleukocitozom ($>100.000 \times 10^9/L$).

Najduže preživljavanje je utvrđeno Grupi 2 (oko 40% bolesnika preživi 60 meseci) ove razlike su statistički visoko značajne ($p < 0,01$) u odnosu na preživljavanje u Grupi 1 (manje od 10% bolesnika živi duže od 35 meseci), kao i na preživljavanje u Grupi 3 ($p < 0,01$) (manje od 20% bolesnika preživi 60 meseci). Razlika u dužini preživljavanja između grupe 1 i grupe 3 nije statistički značajna.

6.8.8. Kaplan Meierove analize preživljanja bolesnika u odnosu na postotak blasta u kostnoj srži.

U odnosu na postotak blasta u kostnoj srži, svi bolesnici su podeljeni u tri grupe: Grupa 1 - blasti do 20% blasta, gde spadaju bolesnici sa oligoblastnim formama leukemije, Grupa 2 - blasti 21 - 50%, bolesnici sa srednje infiltrisanom kostnom srži, i Grupa 3 - blasti >50%, bolesnici sa značajno infiltrisanom kostnom srži.



Grafikon 15. Kaplan Meierove analize preživljanja bolesnika u odnosu na postotak blasta u kostnoj srži.

Kaplan-Meier-ovim analizama nisu utvrđene statistički značajne razlike u preživljanju između bolesnika opisanih grupa (NS).

7. DISKUSIJA

Akutna mijeloidna leukemija privlači veliku pažnju lekara i istraživača, s jedne strane zbog etiologije koja još uvek u potpunosti nije razjašnjena, a s druge strane, ova bolest iz godine u godinu beleži stalni porast broja obolelih.

Epidemiološka razmatranja

Od 123 naših ispitanika sa AML, bilo je 59 bolesnika bilo je muškog pola (48%), a 64 bolesnika ženskog pola (52%). Ova manja prevalenca ženskog pola u kontradiktornostima je epidemiološkim podacima koji govore za nešto veću učestanost AML među muškarcima (Deschler et Lubbert, 2008)., mada nema statistički značajne razlike u ovoj učestanosti.

Što se tiče starostne strukture naših bolesnika, prosečna starost naših ispitanika pri postavljanju dijagnoze bolesti je bila 56.33 ± 17.12 godina, što govori za nešto mlađe doba bolesnika u momentu postavljanja dijagnoze u odnosu na epidemiološke podatke (Engelhardt et Mertelsmann, 2008).

U odnosu na FAB podtip, najveći postotak bolesnika bio je sa dijagnozom AML M5 (29,3%) koji se, po epidemiološkim podacima detektuje u oko 10% svih bolesnika sa AML, a na drugom mestu po učestanosti je dijagnoza podtipa M2 (26,8%), što je približno publikovanim podacima o učestanosti ovog tipa od oko 25% (Bennett et al., 1976).

Najstariji bolesnici (medijana oko 66 god.), pripadali su podtipu M1, a najmlađi bolesnici (medijana oko 46 god.), podtipu M3. Ovakav podatak odgovara činjenici da se M3 podtip češće opisuje kod mlađih bolesnika (Douer et al., 2003).

Kliničke i laboratorijske odlike ispitanika

Anemijski sindrom je praktično, predstavljao skoro neizostavan nalaz pri inicijalnoj prezentaciji bolesnika (97% bolesnika), dok su se hemoragijski (46%) i infektivni sindrom (33%) vidjali nešto ređe, što generalno, odgovara opisanoj kliničkoj slici AML. Palpabilna organomegalija je detektovana kod oko četvrtine bolesnika, što takođe odgovara literaturnim podacima (Lichtman, 2007), dok je limfadenopatija predstavljala redak nalaz (7% vs. 5% u literaturi) i to isključivo u potipovima sa monocitnom diferencijacijom - M4 i M5 (Tobelem et al, 1980).

Najveći postotak bolesnika imao je srednje tešku anemiju, sa hematokritom $HCT > 25\%$, (76% bolesnika) i vrednostima hemoglobina $Hgb > 70\text{g/L}$ (78% bolesnika), što nije predstavljalo indikaciju za lečenje transfuzijama krvi.

U odnosu na FAB podtip, najveći postotak (oko 76%) bolesnika sa opisanim vrednostima HCT i Hgb, pripadao je podtipu M3. U nastavku, najveći postotak bolesnika sa teškom anemijom ($Hgb < 70\text{g/L}$, $HCT < 25\%$), pripadao je podtipu M1.

Premda podaci iz literature kao najčešći nalaz navode leukopeniju (kod 50% bolesnika), u našoj grupi bolesnika smo je detektovali kod svega 25% bolesnika, pri čemu smo leukocitozu (58% v.s. 33%) i hiperleukocitozu (17% vs. 5%) češće detektovali u odnosu na podatke iz literature (Lichtman, 2007). Nalaz većeg broja bolesnika sa leukocitozom / hiperleukocitozom u našoj grupi se objašnjava činjenicom da je nalaz povišenog broja leukocitoza, uz ispoljeniju kliničku simptomatologiju, češće opredeljivalo ordinirajućeg lekara za upućivanje bolesnika hematologu i započinjanja dijagnostike u odnosu na bolesnike sa leukopenijom.

Najveća učestanost leukopenije ($Le < 4 \times 10^9/l$) utvrđena je u podtipu M0. Ovo se može objašnjavati činjenicom da je u ovom podtipu, stepen diferencijacije najmanji, sa izraženom disgranuloipoezom što se u perifernoj krvi odslikava leukopenijom.

Nisu utvrđene statistički značajne razlike između broja leukocita u perifernoj krvi i sledećih ispitivanih kliničko - laboratorijskih parametara: prisustvo limfadenopatije i organomegalije, FAB podtipa, sedimentacije, broja trombocita, LDH, ukupnih serumskih proteina i albumina i celularnosti kostne srži.

Utvrđena je statistički značajna razlika u zastupljenosti vrednosti broja leukocita u odnosu na vrednosti serumskih urata. Tako su kod bolesnika sa leukopenijom i umerenom leukocitozom (do $100 \times 10^9/l$), vrednosti urata u serumu bile u fiziološkim okvirima, dok su kod bolesnika sa hiperleukocitozom ($Le > 100 \times 10^9/l$), vrednosti serumskih urata bile iznad fizioloških vrednosti ($p < 0,05$). Ovakav nalaz odgovara dobro poznatoj činjenici, da kod bolesnika sa hiperleukocitozom, povišene vrednosti urata nastaju usled sindroma tumorske lize (Jeha, 2001; Hillman et al., 2005).

U skladu sa kriterijumima SZO, najveći postotak bolesnika (94%), zadovoljavao je dijagnostički kriterijum, sa više od 20% blasta u kostnoj srži, dok je preostalih 6% bolesnika imalo oligoblastni tip AML, pri čemu nije bilo statistički značajnih razlika u odnosu na FAB podtip bolesti.

Što se tiče vrednosti broja leukocita u odnosu na procenat blasta u kostnoj srži, utvrđeno je da incidencija leukocitoze raste sa porastom postotka blasta u kostnoj srži, što odgovara

klasičnom konceptu bolesti da, tokom proliferacije malignog klona u kostnoj srži, nastaje i progresivna infiltracija periferne krvi.

Jedna studijska grupa MD Anderson centra, ispitivala je vreme preživljavanja kod bolesnika sa "perifernom leukemijom", tj hiperleukocitozom i većim postotkom blasta u perifernoj krvi u odnosu na postotak u kostnoj srži. Iako je izolovana hiperleukocitoza bila nezavistan faktor loše prognoze, nisu utvrđene statistički značajne razlike u preživljavanju bolesnika većim postotkom blasta u perifernoj krvi u odnosu na postotak u kostnoj srži (Amin et al., 2005).

U pogledu broja trombocita, najveći postotak ispitanika (oko 55%) imao je srednje izraženu trombocitopeniju ($Tr 150-20 \times 10^9/L$), pri čemu je najveći broj ovih bolesnika pripadao podtipu M3, ali bez statistički značajnih razlika u odnosu na ostale podtipove AML.

Iako su neke studije (Krauter et al., 2009), pokazale da trombocitopenija pri dijagnozi predstavlja loš prognostički faktor, udružen sa pojavom ranog relapsa (<1 god), u našoj grupi ispitanika nismo utvrdili statistički značajne razlike u incidenciji vrednosti trombocitopenije u odnosu na pojavu ranog relapsa.

Od biohemijskih parametara, najveći postotak bolesnika (oko 95%) imao je ubrzanu sedimentaciju, uz normalne ili povišene vrednosti serumskog fibrinogena (91%). Preostalih 9% bolesnika imalo je hipofibrinogenemiju i to statistički značajno zastupljenije u podtipu M3. Ovakav nalaz odgovara činjenici da su niske vrednosti fibrinogena otkrivaju u sklopu potrošne koagulopatije koja je čest nalaz u M3 (Gralnick et Tan, 1974; Chan et al., 1984).

Najveći postotak ispitanika (oko 81%) imao je povišene vrednosti LDH, od toga je njih 28% imalo vrednosti LDH preko 1000U/L. Vrednosti LDH veće od 1000 U/l statistički su bile najzastupljenije u podtipu M3. Iako brojne studije navode povišene vrednosti LDH kao izolovani parametar loše prognoze, u našoj grupi ispitanika nismo utvrdili satistički značajne razlike u zastupljenosti vrednosti serumske LDH i pojave ranog relapsa (Montesinos et al., 2008; Prebet et al., 2009).

Jedna trećina naših ispitanika imala je povišene vrednosti serumskih urata, bez statistički značajnih razlika u pojedinim FAB podtipovima.

Imunofenotipske analize

Analize imunofenotipa uključivale su određivanje postotka $CD34^+$ i $CD33^+$ ćelija u kostnoj srži. Najveći postotak $CD34^+$ ćelija smo vidjeli u podgrupi M0 što odgovara činjenici da se radi o FAB podtipu sa najprimitivnijim progenitorima, dok je najveći postotak $CD33^+$

ćelija pripadao je FAB podtipu M2 i M3, što govori o izvesnoj diferencijaciji u mijeloidnoj lozi.

Nije utvrđena korelacija između ekspresije CD34⁺ i ekspresije CD33⁺ antigena, kao ni između ekspresije pomenutih antigena i vremena preživljavanja. Ovakav nalaz je u skladu sa mišljenjima eksperata SZO i autora izvesnih studija koji negiraju dijagnostičku vrednost ekspresije CD33/CD34 (Vardiman et al., 2009), kao i prognostičku vrednost ekspresije CD 34 u odnosu na vreme preživljavanja (Arslan et al., 1996).

Citogenetske analize

Od ukupno 123 ispitanika, citogenetske analize su izvršene kod 108 ispitanika (oko 88%). U ispitivanoj grupi, anomalije kariotipa su detektovane kod svega 27 ispitanika (25%). Najčešća anomalija kariotipa odnosila se na t(15;17), utvrđenu kod 9 bolesnika (33%), u podtipu M3, dok je druga po učestanosti bila anomalija 7q-, utvrđena kod 7 bolesnika (26%) u podtipovima leukemije M1, M2 i M4.

Ovako mali broj bolesnika sa citogenetskim nalazom nam nije dozvoljavao stratifikaciju u prognostičke grupe rizika, te je vršena korelacija između grupe sa normalnim i patološkim citogenetskim nalazom u pogledu vremena do progresije bolesti (VDP) kao i ukupnog vremena preživljavanja (VP). Nisu utvrđene statistički značajne razlike u VDP i VP između pomenutih grupa.

Molekularne analize

Molekularne analize uključivale su detektovanje interne-tandem mutacije gena za receptor FLT3 (FLT3 ITD). Oko 45% bolesnika imalo je mutaciju FLT3, što je češće u odnosu na podatke iz literature (Frohling-u i sar., 2007).

Nisu utvrđene statistički značajne razlike između FLT3 pozitivnih i FLT3 negativnih bolesnika u pogledu sledećih parametara: FAB podtipa, starosti, broja leukocita, prisustva blasta u perifernoj krvi, vrednosti serumske LDH, postotka CD34⁺ i CD33⁺ ćelija, celularnosti kostne srži, procenta blasta u kostnoj srži, kao ni nalaza u kariotipu. Utvrđena je statistički značajna razlika u pogledu FLT3 ITD pozitivnosti i vrednosti sedimentacije i broja trombocita. Tako je kod bolesnika sa mutacijom FLT3ITD bila češća incidencija ubrzane sedimentacije ($p < 0,05$), odnosno trombocitopenije ($p < 0,05$).

Neke studije novijeg datuma definisale su udruženost nalaza FLT3 ITD mutacije i hiperleukocitoze ($>100 \times 10^9/L$), kao faktore nepovoljne prognoze u AML (Au et al., 2004; Peng et al., 2008). U skladu sa nalazima ovih studija, komparirali smo grupu bolesnika sa mutacijom FLT3 ITD i hiperleukocitozom i grupu bez mutacije FLT3 ITD i hiperleukocitoze, u pogledu ishoda lečenja (remisija vs. egzitus vs. refraktorna bolest), nakon sprovedene indukciono terapije. Utvrđena je statistički značajno manja incidencija remisije ($p < 0,05$), kao i statistički značajno veća incidencija egzitusa ($p < 0,01$) u grupi pacijenata sa FLT3 ITD mutacijom i hiperleukocitozom. U pogledu incidencije nalaza refraktorne bolesti, nije bilo statistički značajnih razlika između ispitivanih grupa. Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima navedenih studija.

Rezultati jednog drugog istraživanja definisali su FLT3 ITD kao loš prognostički faktor, naročito kod mlađih od 60 godina (Reilly, 2003). U skladu sa ovim istraživanjem komparirali smo grupu bolesnika sa mutacijom FLT3 ITD, starijih od 60 godina i grupu bolesnika bez mutacije FLT3 ITD, mlađih od 60 godina u pogledu ishoda lečenja (remisija vs. egzitus vs. refraktorna bolest), nakon sprovedene indukciono terapije. U grupi bolesnika sa mutacijom FLT3 ITD, starijih od 60 godina utvrđena je statistički značajno manja incidencija remisije ($p < 0,05$) i statistički značajno veća incidencija refraktorne bolesti ($p < 0,05$) u odnosu na grupu bolesnika bez mutacije FLT3 ITD, mlađih od 60 godina. U pogledu incidencije egzitusa, nije bilo statistički značajnih razlika između ispitivanih grupa. Ovakvi rezultati su u saglasnosti sa rezultatima pomenutog istraživanja.

Kariometrijske analize

U našoj grupi ispitanika ispitivali smo sledeće kariometrijske parametre: prosečni areal jedra ćelije, srednju vrednost optičke gustine jedra, standardnu devijaciju i modnu vrednost optičke gustine jedra, integrisani optički denzitet jedra, perimetar, Feretov dijametar i cirkularnost jedra. Kariometrijske analize na leukemijskim mijeloblastina odraslih nisu rađene u većim studijama, te ne postoje podaci iz literature sa kojima bi se mogla vršiti komparacija.

Prosečan areal jedra ćelije za celu grupu naših ispitanika iznosio je oko 101 piksel. Najmanji areal, perimetar (obim jedra) i Feretov dijametar bio je u podtipu AML M1, dok je najveća vrednost areala i perimetra i Feretovog dijametra utvrđena kod AML M4 podtipa, i M5 podtipa. Ovakvi rezultati govore da su najkrupnija jedra opisana u podtipovima M4 i M5 čiji ćelijski supstrat sačinjavaju krupne ćelije tipa monoblasta/ mijeloblasta.

Statistički značajna razlika utvrđena je i u pogledu cirkularnosti jedra - najveća vrednost ovog parametra utvrđena je u AML M0 (oko 0,78), dok je najmanja vrednost bila u grupi AML M5 (oko 0,73). Obzirom da se zna da se cirkularnost 1 odgovara idealni krugu (Kutlešić et Mihailović, 2000), dobijene vrednosti cirkularnosti odgovaraju ovalnim jedrima u mijeloblastima u M0, dok još manje vrednosti cirkularnosti u podtipu M5 odgovaraju nepravilnim, razudjenijim jedrima kakve imaju monocitoidne ćelije.

Najveća vrednost optičke gustine utvrđena je u podtipu AML M3 dok je najmanja vrednost utvrđena u podtipu AML M1. Iako se najmanja vrednost optičke gustine, tj. "najsvetlija" jedra u M1 mogu mogu tumačiti u kontekstu despiralizovane DNK i žive transkriptivne aktivnosti ćelije u M1 u odnosu na kondenzovaniji hromatin u jedrima promijelocita u M3, dobijene razlike nisu statistički značajne.

Što se tiče integrisanog optičkog denziteta, najveća vrednost ovog parametra utvrđena je u podtipu AML M4, dok je najmanja vrednost utvrđena u podtipu AML M1. Ovo je očekivano, obzirom da integrisani optički denzitet treba posmatrati u kontekstu areala jedra, za koje je prethodno utvrđeno da je bio najveći u AML M4.

Ispitivane su korelacije između kariometrijskih i kliničko-laboratorijskih varijabli. Nije nađena statistički značajna korelacija između kariometrijskih varijabli i starosti bolesnika, postotka CD34 i CD33 pozitivnih ćelija kao i nalaza u kariotipu.

Utvrđeno je da su areal, obim, Feretov dijametar i IOD jedara statistički visoko značajno veći kod bolesnika koji su FLT3 ITD pozitivni u odnosu na bolesnike koji su FLT3 ITD negativni ($p < 0.01$). Ovi nalazi praktično upućuju na to da bolesnici sa FLT3 ITD mutacijom imaju leukemijske blaste sa krupnijim jedrima.

Klaster analizom, matematičkim modelom, na osnovu unetih varijabli statistički program, formira srodne skupove, odnosno klasterne (Black, 2006). Na osnovu unetih kariometrijskih varijabli, korišćenjem Ward-ovog metoda i Chebyshev-e metričke distance, izdvojena su četiri klastera. Najveće vrednosti areala, obima jedra, cirkularnosti, Feretovog dijametra i IOD, nađene su u klasteru 1 i statistički su visoko značajno veće od vrednosti ovih parametara u klasterima 2,3 i 4 ($p < 0.01$). Najmanje vrednosti areala, obima jedra, cirkularnosti, Feretovog dijametra i IOD nađene su u klasteru 4 i statistički su visoko značajno manje od vrednosti za klasterne 1,2, i 3 ($p < 0.01$). Praktično, klaster 1 je sadržavao ćelije sa najkrupnijim i najrazudjenijim jedrima većeg denziteta, dok su najsitnija i najovalnija jedra ćelija, manjeg denziteta bila u klasteru 4.

Vreme preživljavanja i vreme do progresije bolesti

Što se tiče korelacije vremena preživljavanja (VP) sa ispitivanim kliničko - laboratorijskim parametrima, nađena je statistički visoko značajna negativna korelacija između dužine preživljavanja i starosti bolesnika ($p < 0,01$). Ovakav nalaz odgovara ranije publikovanim podacima da uznapredovalo životno doba bolesnika predstavlja faktor nepovoljne prognoze u AML i objašnjava se činjenicom da stariji bolesnici imaju lošu prognozu zbog smanjenih vitalnih rezervi, kormobiditeta, kao i lošeg podnošenja agresivne citostatske terapije (Rathnasabapathy et Lancet, 2003; Robak et Wierzbowska, 2009).

Nisu nađene statistički značajne razlike u VP u odnosu na FAB podtip, vrednost serumske LDH, celularnost kostne srži, postotak CD34 i CD33 pozitivnih ćelija, kao i prisustvo/ odsustvo kariotipskih abnormalnosti.

Spearmanovim testom utvrđena je visoko značajna pozitivna korelacija između vremena do progresije bolesti i ukupnog vremena preživljavanje ($p < 0,001$).

Konačno, potvrđena je vrednost FLT3 ITD mutacije kao nezavisnog faktora loše prognoze: a) Prisustvo ranog relapsa (< 1 god.), je statistički značajno prisutnije kod pacijenata koji su bili pozitivni na FLT3 ITD mutaciju ($p < 0,001$), b) FLT3 ITD pozitivni bolesnici žive statistički značajno kraće (oko 11 meseci) u odnosu na FLT3 negativne bolesnike (oko 30 meseci) ($p < 0,001$). Ovakvi rezultati u saglasnosti su sa nalazima drugih autora (Abu-Duhier et al., 2000; Kang et al., 2005).

Jedan od ciljeva istraživanja odnosio se na ispitivanje prognostičke vrednosti kariometrijskih parametara. U tu svrhu, ispitivane su korelacije pojedinih kariometrijskih parametara sa vremenom do progresije bolesti (VDP), kao i ukupnim vremenom preživljavanja (VP). Dobijeni rezultati nisu utvrdili statistički značajnu korelaciju između VDP i navedenih kariometrijskih varijabli, ali je nađena statistički visoko značajna negativna korelacija između VP i areala, obima, Feret-ovog dijametra i IOD jedara ($p < 0,01$), što upućuje na činjenicu da bolesnici čiji blasti imaju krupnija jedra imaju kraće vreme preživljavanja.

Analize između različitih klastera utvrdile su statistički značajne razlike u vremenu preživljavanja između klastera 4 i 2, kao i između klastera 4 i 3 ($p < 0,01$), pri čemu je najduže vreme preživljavanja bilo u klasteru 4 (oko 24 meseca) a najkraće u klasteru 3 (oko 12 meseci). Obzirom da klaster 4 sadrži ćelije sa najsitnijim jedrima, rezultati pomenutih klaster analiza u saglasnosti su sa napred navedenim rezultatima analiza koje su pokazale negativnu korelaciju sa

arealom, obimom, Feret-ovim dijametrom i IOD (tj. sa veličinom jedra ćelije) i vremenom preživljavanja.

Kaplan Meirove analize preživljavanja

Kaplan Meirove analize kumulativnog preživljavanja za celu grupu ispitanika pokazale su da prvu godinu od početka bolesti preživi oko 50% bolesnika, drugu godinu preživi oko 37% bolesnika, dok nakon treće godine preostane još oko 27% živih bolesnika.

Kaplan Meirovim analizama nisu se mogle utvrditi statistički značajne razlike u preživljavanju u odnosu na FAB podtip, postotak blasta u kostnoj srži, vrednosti serumske LDH, citogenetski nalaz, kao ni između pojedinih klastera.

U pogledu broja leukocita, najduže preživljavanje je utvrđeno u grupi sa umereno povišenim brojem leukocita ($10 - 100 \times 10^9/L$), pri čemu 40% bolesnika preživljava 60 meseci, statistički značajno duže od bolesnika iz grupe sa leukopenijom (10% bolesnika preživljava 10 meseci) ($p < 0,01$), odnosno hiperleukocitozom (20% bolesnika preživljava 60 meseci) ($p < 0,01$).

Ovakav nalaz govori da su leukopenija i hiperleukocitoza nepovoljni prognostički parametri u AML, udruženi sa kraćim preživljavanjem. Kraće vreme preživljavanja kod bolesnika sa leukopenijom se može tumačiti uznapredovalom bolešću sa insuficijencijom mijelopoeze ili smanjenom vijabilnošću leukemijskih ćelija koje propadaju u samoj kostnoj srži, dok se u slučaju hiperleukocitoze radi o velikoj tumorskoj masi što je u ranijim publikacijama izdvojeno kao nepovoljni faktor prognoze (Marbelo et al., 2008; Delaunay et al., 2003; Prebet et al., 2009).

Kaplan Meierovim analizama nađena je statistički visoko značajna razlika u preživljavanju u odnosu na FLT3 ITD, pri čemu su bolesnici sa mutacijom FLT ITD živeli nešto više od 30 meseci, dok 60% bolesnika živi 60 meseci (log rank test, $p < 0,01$).

8. ZAKLJUČCI

1. Nađena je statistički visoko značajna negativna korelacija između dužine preživljavanja i starosti bolesnika;
2. Najkraće vreme preživljavanja je bilo u podtipu AML M0 a najduže u podtipu M1 ali dobijene razlike nisu statistički značajne;
3. Nije nađena statistički značajna korelacija između vremena preživljavanja i procenta CD34⁺ i CD33⁺ ćelija, kao ni procenta blasta u kostnoj srži;
4. Nije nađena statistički značajna razlika u vremenu preživljavanja bolesnika bez i sa anomalijama kariotipa tumorskih ćelija;
5. Nađena je statistički visoko značajna korelacija između vremena do progresije bolesti i vremena preživljavanja;
6. Nisu utvrđene statistički značajne razlike u preživljavanju između bolesnika sa normalnim vrednostima LDH i bolesnika sa povišenim vrednostima LDH;
7. U odnosu na broj leukocita, najkraće preživljavanje je u grupi sa leukopenijom, odnosno hiperleukocitozom;
8. Procenat blasta u kostnoj srži ne utiče na dužinu preživljavanja kod bolesnika sa AML;
9. Bolesnici bez mutacije FLT3 ITD imaju statistički značajno duže vreme preživljavanja u odnosu na bolesnike koji sa ovom mutacijom;
10. Dužina preživljavanja je u statistički visoko značajnoj negativnoj korelaciji sa vrednostima areala, obima, Feret-ovog dijametra i IOD jedara.

Na osnovu svega izloženog, može se zaključiti da su najvažniji paramateri loše prognoze kod bolesnika sa AML: uznapredovalo životno doba bolesnika, leukopenija ili broj leukocita iznad 100 000⁹/L, prisustvo FLT3 mutacije i veća veličina jedara tumorskih ćelija.

9. LITERATURA

1. Abdool A, Yeh CH, Kantarjian H, O'Brien S, Bruey JM, Giles F, et al: Circulating CD33 and its clinical value in acute leukemia. *Exp Hematol*. 2010 (*in press*).
2. Abu-Duhier F M, Goodeve A C, Wilson G A, Gari M A, Peake I R, Rees D C, et al: FLT3 internal tandem duplication mutations in adult acute myeloid leukaemia define a high-risk group. *British journal of haematology* 2000;111(1):190-5.
3. Amin HM, Yang Y, Shen Y, Estey EH, Giles FJ, Pierce SA, et al: Having a higher blast percentage in circulation than bone marrow: clinical implications in myelodysplastic syndrome and acute lymphoid and myeloid leukemias. *Leukemia*. 2005;19(9):1567-72.
4. Anwar M, Ayyub M, Iqbal H: Frequency of cytogenetic abnormalities in patients of acute myeloid leukaemia. *Pak J Pathol* 25 2006;17(1) 25-8.
5. Arber DA, Stein AS, Carter NH, Ikle D, Forman SJ, Slovak ML: Prognostic Impact of Acute Myeloid Leukemia Classification. *Am Jour Clin Pat* 2003;119(5).
6. Arslan O, Akan H, Beksac M, Zcan O, Koc H, Ilhan O, et al: Lack of Prognostic Value of CD34 in Adult AML. *Leuk Lymphoma*. 1996; 23(1 & 2): 185 -6.
7. Au WY, Fung A, Chim CS, Lie AK, Liang R, Ma ES, et al: FLT-3 aberrations in acute promyelocytic leukaemia: clinicopathological associations and prognostic impact. *Br J Haematol*. 2004;125(4):463-9.
8. Bartels PH. Quantitation in histopathology. In:Marchevsky AM and Bartels PH eds., *Image analysis - a primer for pathologist*. New York:Raven Press, 1994:1-28.

9. Beitinjaneh A, Jang S, Roukoz H, Majhail NS: Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations in acute promyelocytic leukemia: a systematic review. *Leuk Res.* 2010;34(7):831-6.
10. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al: Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) co-operative group. *Br J Haematol.* 1976;33(4):451-8.
11. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR, et al: Proposed Revised Criteria for the Classification of Acute Myeloid Leukemia: A Report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* October 1, 1985 103:620-5;
12. Berger DP, Engelhardt M, Henß H, Mertelsmann R, editors. *Acute Myeloid Leukemia in: Concise Manual of Hematology and Oncology.* Berlin: Springer Verlag; 2008: 415-22.
13. Black PE editor. *Dictionary of Algorithms and Data Structures.* U.S. National Institute of Standards and Technology; New York: Wiley; 2006.
14. Burns CP, Armitage JO, Frey AL: Analysis of presenting features of adult leukemia. *Cancer.* 1981 47:2460-2.
15. Chan TK, Chan GT, Chan V: Hypofibrinogenemia due to increased fibrinolysis in two patients with acute promyelocytic leukemia. *Aust N Z J Med.* 1984;14(3):245-9.
16. Chang SH, Lee NY, Kim DH, Sohn SK, Suh JS: FLT3 Gene Mutations as a Prognostic Factor for Acute Myeloid Leukemia. *Korean J Lab Med.* 2006;26(4):233-40.
17. Cheson BD, Cassileth PA, Head DR, Schiffer CA, Bennett JM, Bloomfield CD, et al: Report on the National Cancer Institute sponsored workshop on definitions of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1990; 8: 813-9.

18. Collett D. Modelling Survival Data. In: Medical Research, Second Edition. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC. 2003.
19. Čolović M. Akutna mijeloblasta leukemija. U: Čolović, Janković G, urednici. Maligne bolesti krvi. Beograd: Zavod za udžbenike i nastavna sredstva; 1999. str. 81-118.
20. Delaunay J, Vey N, Leblanc T, Fenaux P, Rigal-Huguet F, Witz F, et al: Prognosis of inv(16)/t(16;16) acute myeloid leukemia (AML): a survey of 110 cases from the French AML Intergroup. *Blood*, 2003, Vol. 102, No. 2, pp. 462-9.
21. Del Poeta G, Stasi R, Venditti A, Suppo G, Aronica G, Bruno A, et al: Prognostic value of cell marker analysis in de novo acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 1994 Mar;8(3):388-94.
22. Deschler B, Lubbert M: Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer*. 2006;107(9):2099-107.
23. Deschler B, Lubbert M: Acute myeloid leukemia: epidemiology and etiology. In: Estey EH, Faderl SH, Kantarijan HM, editors. *Hematologic Malignancies: Acute Leukemias*. Berlin: Springer; 2008. p. 47-56.
24. Douer D, Santillana S, Ramezani L, Samanez C, Slovak ML, Lee MS, et al: Acute promyelocytic leukaemia in patients originating in Latin America and is associated with an increased frequency of the bcr1 subtype of the PML/RARalpha fusion gene. *Br. J. Haematol*. 2003;122(4):563-70.
25. Doyen TN, Lawrence WD, Raul CB, editors. *Flow Cytometry In Hematopathology: A Visual Approach To Data Analysis And Interpretation*. New Jersey: Humana Press; 2nd edition 2007:86.
26. Erba HP: Prognostic Factors in Elderly Patients with AML and the Implications for Treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007:420-8.

27. Estey E, Dohner H. Acute myeloid leukaemia. *Lancet* 2006; 368: 1894–907
28. Ferrara F, Palmieri S, Leoni F. Clinically useful prognostic factors in acute myeloid leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2008; 66 (3):181-93.
29. Fernandez HF, Rowe JM: Induction therapy in acute myeloid leukemia: intensifying and targeting the approach. *Curr Opin Hematol.* 2010;17 (2):79-84.
30. Fey M, Dreyling M, ESMO Guidelines Working Group: Acute myeloblastic leukemia in adult patients: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2008;19 Suppl 2:58-9.
31. Fröhling S, Schlenk RF, Breitruck J: Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood.* 2002;100(13):4372–80.
32. Fröhling S, Scholl C, Levine RL, Loriaux M, Boggon TJ, Bernard OA, et al: Identification of driver and passenger mutations of FLT3 by high-throughput DNA sequence analysis and functional assessment of candidate alleles. *Cancer Cell.* 2007;12(6):501–13.
33. Fruchart C, Lenormand B, Bastard C, Boulet D, Lesesve JF, Callat MP, et al: Correlation between CD34 expression and chromosomal abnormalities but not clinical outcome in acute myeloid leukemia. *Am Jour Hematol.* 1998, Vol 53 (3), p. 175-80.
34. Gari M, Abuzenadah A, Chaudhary A, Al Quahtani M, Banni H, Ahmad W, et al: Detection of FLT3 Oncogene Mutations in Acute Myeloid Leukemia Using Conformation Sensitive Gel Electrophoresis. *Int J Mol Sci.* 2008, Vol 9(11), p. 2194-204.
35. Ghosh S, Shinde SC, Kumaran GS, Sapre RS, Dhond SR, Badrinath Y, et al: Haematologic and Immunophenotypic Profile of Acute Myeloid Leukemia: An

- Experience of Tata Memorial Hospital. *Indian Journal of Cancer*. 2003, Vol 40 (2), p. 71-76.
36. Glaser, J.R., Glaser, E.M: Stereology, morphometry, and mapping: The whole is greater than the sum of its parts. *J Chem Neuroanat*. 2000, 20(1): 115-26.
37. Gralnick HR, Tan HK: Acute promyelocytic leukemia: a model for understanding the role of the malignant cell in hemostasis. *Hum Pathol*. 1974;5(6):661-73.
38. Gregory TK, Wald D, Chen Y, Vermaat JM, Xiong Y, Tse W: Molecular prognostic markers for adult acute myeloid leukemia with normal cytogenetics. *J Hematol Oncol*. 2009 2;2:23.
39. Greenwood MJ, Seftel MD, Richardson C, Barbaric D, Barnett MJ, Bruyere H, et al. Leukocyte count as a predictor of death during remission induction in acute myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 2006;47:1245–52.
40. Gudović R, Matavulj M, Stefanović N, Lozanov- Crvenković Z: Osnovi stereologije. *Folia Anatomica* 21/22 (2):4-11.1994.
41. Han YL, Zhang SJ, Qiao C, Dai D, Sun XM, Xu YL, et al: FMS-like tyrosine kinase 3 gene mutations in acute myeloid leukemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2009;17(5):1135-9.
42. Heining-Mikesch K, Lubbert M. Acute Myeloid Leukemia. In: Berger DP, Engelhardt M, Henß H, Mertelsmann R, editors. *Concise Manual of Hematology and Oncology*. Berlin:Springer-Verlag 2008. p.93-113.
43. Hillman RS, Kenneth AA, Henry RM, editors. *The Acute Myeloid Leukemias*. In: *Hematology in Clinical Practice*, 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2005.
44. Huntly B, Gilliland DG. Pathobiology of acute myeloid leukemia. In: Hoffman, editor. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 4th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2005.

45. Jabbour EJ, Estey E, Kantarjian HM. Adult acute myeloid leukaemia. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 247–60.
46. Jeha S: Tumor lysis syndrome. *Semin Hematol* 2001; 38:4.
47. Jilani I, Estey E, Huh Y, Joe Y, Manshouri T, Yared M, et al: Differences in CD33 intensity between various myeloid neoplasms. *Am J Clin Pathol.* 2002 Oct;118(4):560-6.
48. Kališnik M: Temelji stereologije. *Acta Stereol* 1985;4(1):1-148.
49. Kang HJ, Hong SH, Kim IH, Park BK, Han KS, Cho HI, et al: Prognostic significance of FLT3 mutations in pediatric non-promyelocytic acute myeloid leukemia. *Leuk Res.* 2005;29(6):617-23.
50. Kayser S, Schlenk RF, Londono MC, Breitenbuecher F, Wittke K, Du J, et al: Insertion of FLT3 internal tandem duplication in the tyrosine kinase domain-1 is associated with resistance to chemotherapy and inferior outcome. *Blood* 2009; 114(12):2386-92.
51. Klaus M, Haferlach T, Schnittger S, Kern W, Hiddemann W, Schoch C: Cytogenetic profile in de novo acute myeloid leukemia with FAB subtypes M0, M1, and M2: a study based on 652 cases analyzed with morphology, cytogenetics, and fluorescence in situ hybridization. *Cancer Genet Cytogenet.* 2004;155(1):47-56.
52. Krauter J, Wagner K, Schäfer I, Marschalek R, Meyer C, Heil G, et al: Prognostic Factors in Adult Patients up to 60 Years Old With Acute Myeloid Leukemia and Translocations of Chromosome Band 11q23: Individual Patient Data–Based Meta-Analysis of the German Acute Myeloid Leukemia Intergroup. *Jour Clin Onc* Vol 27, No 18 (20),2009: pp.3000-6.
53. Kutlešić Č, Mihailović D. Uvod u dijagnostičku kvantitativnu patologiju, prvo izdanje. Niš Sven; 2000. str. 5-7.

54. Levine EG, Bloomfield CD: Leukemias and myelodysplastic syndromes secondary to drugs, radiation, and environmental exposure. *Semin Oncol* 19:47, 1992.
55. Li S, Wang T, Wang J, Li J, Zhang L: Dynamic detection of FLT3 gene in patients with AML and its significance. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2007 Aug;15(4):705-8.
56. Liang JY, Wu DP, Liu YJ, Ma QF, Gong JX, Zhu MQ, et al: The clinical and laboratory features of acute promyelocytic leukemia: an analysis of 513 cases. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 2008;47(5):389-92.
57. Lichtman MA. Acute myelogenous leukaemia. In: Beutler E, Coller BS, Kipps TJ, Lichtman MA, editors. *Williams Hematology*, 7th Ed.. New York: McGraw-Hill 2007. p..272-98.
58. Lichtman MA. Acute myelogenous leukaemia. In: Kaushansky K, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal JT, editors. *Williams Hematology*, 8th Ed. New York: McGraw-Hill 2010. p.281-315.
59. Loffler H, Rastetter J, T. Haferlach. editors. *Atlas of Clinical Hematology*. 6th ed. Berlin: Springer-Verlag; 2004.
60. Lowenberg B, Burnett AK. Acute Myeloid Leukemia in Adults. In: Degos L, Linch CD, Lowenberg B, editors. *Textbook of Malignant Hematology*. London: Taylor-Francis; 2005. p. 1054-91.
61. Lowenberg B, Downing JR, Burnett AK: Acute Myeloid Leukemia. *Engl. J. Med.*, 1999; 341(14):1051-62.
62. Ma Y, Wang X, Xu X, Lin G: World Health Organization sub-types, initial treatment outcome and prognostic study of unselected adult patients with acute myeloid leukaemia in Shanghai: an analysis of 623 cases. *J Int Med Res*. 2009;37(4):1191-201.

63. Mason KD, Juneja SK, Szer J: The immunophenotype of acute myeloid leukemia: is there a relationship with prognosis? *Blood Rev.* 2006;20(2):71-82.
64. Marbello L, Ricci F, Nosari AM, Turrini M, Nador G, Nichelatti M, et al: Outcome of hyperleukocytic adult acute myeloid leukaemia: a single-center retrospective study and review of literature. *Leuk Res.* 2008;32(8):1221-7.
65. Miller KB, Daoust PR. Clinical Manifestations in Acute Myeloid Leukemia. In: Hoffman R, editor. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 4th ed. Philadelphia:Churchill Livingstone 2005.
66. Miller KB, Pihan G. Clinical Manifestations of Acute Myeloid Leukemia. In: Hoffman R, editor. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone 2008.
67. Montesinos P, Lorenzo I, Martín G, Sanz J, Pérez-Sirvent ML, Martínez D, et al: Tumor lysis syndrome in patients with acute myeloid leukemia: identification of risk factors and development of a predictive model. *Haematologica.* 2008;93(1):67-74.
68. Nakao M, Yokota S, Iwai T: Internal tandem duplication of the Flt-3 gene found in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 1996; 10:1911-8.
69. Oka S, Muroi K, Matsuyama T, Sato K, Ueda M, Toshima M, et al: Correlation between flow cytometric identification of CD33-positive cells and morphological evaluation of myeloblasts in bone marrow of patients with acute myeloblastic leukemia. *Hematology.* 2009;14(3):133-8.
70. Peng HL, Zhang GS, Gong FJ, Shen JK, Zhang Y, Xu YX, et al: Fms-like tyrosine kinase (FLT) 3 and FLT3 internal tandem duplication in different types of adult leukemia: analysis of 147 patients. *Croat Med J.* 2008;49(5):650-69.
71. Petrović A: Planimetrijsko- kariometrijska analiza seboroičnih i solarnih keratoza i bazo i spinocelularnih karcinoma kože. Magistarska teza, Univerzitet u Nišu, 2001.

72. Plesa C, Chelghoum Y, Plesa A, Elhamri M, Tigaud I, Michallet M, et al: Prognostic value of immunophenotyping in elderly patients with acute myeloid leukemia: a single-institution experience. *Cancer*. 2008 1;112(3):572-80.
73. Prébet T, Boissel N, Reutenauer S, Thomas X, Delaunay J, Cahn JY, et al: Acute Myeloid Leukemia With Translocation (8;21) or Inversion (16) in Elderly Patients Treated With Conventional Chemotherapy: A Collaborative Study of the French CBF-AML Intergroup. *Jour Clinical Onc*, Vol 27, No 28, 2009: pp. 4747-53.
74. Radich JP: Molecular Classification of Acute Myeloid Leukemia: Are We There Yet? *Journal of Clinical Oncology*, Vol 26, No 28, 2008: pp. 4539-41.
75. Rajesh L, Pattari SK, Garewal G, Dey P, Srinivasan R: Image morphometry of acute leukemias. Comparison between lymphoid and myeloid subtypes. *Anal Quant Cytol Histol*. 2004;26(1):57-60.
76. Rathnasabapathy R, Lancet JE: Management of acute myelogenous leukemia in the elderly. *Cancer Control*. 2003;10(6):469-77.
77. Reilly JT: FLT3 and its role in the pathogenesis of acute myeloid leukaemia. *Leuk Lymphoma*. 2003;44(1):1-7.
78. Robak T, Wierzbowska A: Current and emerging therapies for acute myeloid leukemia. *Clin Ther*. 2009;31 Pt 2:2349-70.
79. Rowe JM, Talman MS. Therapy for acute myeloid leukemia. In: Hoffman R editor. *Hematology: Basis principles and practice*, 5 th ed., 2009. New York: Churchill Livingstone p. 93-111.
80. Scholl S, Fricke HJ, Sayer HG, Höffken K: Clinical implications of molecular genetic aberrations in acute myeloid leukemia. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2009;135(4):491-505.

81. Seshadri R, Jarvis LR, Jamal O, Skinner JM: A morphometric classification of acute lymphoblastic leukemia in children. *Med Pediatr Oncol.* 1985;13(4):214-20.
82. Smetana K, Mikulenkov D, Klamov H: A short note on the nuclear diameter in human early granulocytic progenitors. *Hematology*, Vol 11, No 5&6, 2006: pp 399-401.
83. Smetana K, Pilcova H, Pluskalova M, Hrkal Z: A karyometric study on ageing and butyrate or imatinib treated human leukemic myeloblasts represented by K562 cells originated from chronic myeloid leukaemia. *Neoplasma.* 2007;54(5):359-64.
84. Snyder R: Benzene and leukemia. *Crit Rev Toxicol* 32:155, 2002.
85. Solary E, Casasnovas RO, Campos L, Béné MC, Faure G, Maingon P, et al: Surface markers in adult acute myeloblastic leukemia: correlation of CD19+, CD34+ and CD14+/DR--phenotypes with shorter survival. *Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (GEIL). Leukemia.* 1992;6(5):393-9.
86. Stone RM. AML in older adults. In: Judith EK editor. *Contemporary Hematology: Acute Myelogenous Leukemia*, 1 st ed., 2007. New Jersey: Humana Press Inc. p. 373-385.
87. Szotkowski T, Rohon P, Zapletalova L, Sicova K, Hubacek J, Indrak K: Secondary acute myeloid leukemia - a single center experience. *Neoplasma.* 2010;57(2):170-8.
88. Tallman MS: Treatment of relapsed or refractory acute promyelocytic leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2007;20(1):57-65.
89. Thiel H, Diem H, Haferlach T, editors. *Color Atlas of Hematology*, 2nd ed. Stuttgart: Thieme;2004.
90. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel U, Platzbecker U, et al: Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood.* 2002 15;99(12):4326-35.

91. Tkachuk DC, Hirschmann JV, editors. Wintrobe's Atlas of Clinical Hematology, 1st ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
92. Tobelem G, Jacquillat C, Chastang C: Acute monoblastic leukemia: A clinical and biologic study of 74 cases. *Blood* 55:71, 1980
93. Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, Bennett JM: Hypocellular acute myeloid leukemia. *Hematol Pathol* 1995; 9:195.
94. Yamamoto Y, Kiyoi H, Nakano Y: Activating mutations of D835 within the activating loop of FLT3 in human hematologic malignancies. *Blood*. 2001;97(8):2434–9.
95. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD: The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*, 2002, Vol. 100, No. 7, pp. 2292-302.
96. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al: The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*, 2009; Vol. 114, No.5, pp. 937-51.
97. Walter RB, Kantarjian HM, Huang X, Pierce SA, Sun Z, Gundacker HM, et al: Effect of complete remission and responses less than complete remission on survival in acute myeloid leukemia: a combined Eastern Cooperative Oncology Group, Southwest Oncology Group, and M. D. Anderson Cancer Center Study. *J Clin Oncol*. 2010; 28(10):1766-71.
98. Wang X, Lin G, Wang J: 244 patients with hyperleukocytic acute leukemia. Shanghai Leukemia Cooperation Group. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 1997;36(8):532-5.
99. Wandt H, Haferlach T, Thiede C, Ehninger G: WHO classification of myeloid neoplasms and leukemia. *Blood*, 2010, Vol. 115, No. 3, pp. 748-9.

BIOGRAFIJA



Osnovni podaci

Nenad Govedarović

Datum i mesto rođenja: 17.07.1965. godine, u Nišu

Naučna oblast i uža specijalnost: Medicina, specijalista interne medicine - hematolog

Obrazovanje:

Naziv specijalizacije Interna medicina

Godina i mesto polaganja: 11. novembar 1996. godine, sa ocenom odličan
Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Naziv magistarske teze: **"Komparativna klinička i histomorfometrijska analiza multipnog mijeloma"**

Naučna oblast: Magistar medicinskih nauka iz hematologije

Godina i mesto odbrane: 29. oktobar 2002. godine
Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Naziv završenog fakulteta: Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu
Studijska grupa - medicina
19. decembar 1989. god., sa opštim uspehom 9,59.

Stipendije i usavršavanja:

Stipendija Srpske Akademije Nauka i Umetnosti

1. Januar 1990. - 1. Januar 1991. godine.

Kurs iz stereologije

Katedra za biologiju, MF u Novom Sadu.

12. - 19. Mart 1995. godine

Obuka za rad na flow citometru

Laboratorija za imunofenotipizaciju, Klinika za hematologiju, KC Niš.

Mart - April 2003. godine

Članstva:

- Član komore lekara, stomatologa i farmaceuta - br. licence 301993
- Član Srpskog lekarskog drustva (SLD)
- Član Srpske limfomske grupe (SLG)
- Član Srpske mijelomske grupe (SMG)
- Član Srpske grupe za hroničnu mijeloidnu leukemiju (SGCML)
- Član Evropskog Asocijacije Hematologa (EHA)

Rezultati naučnoistraživačkog rada (izabrane publikacije):

1. **N Govedarović**, G Marjanović: Frequency and Prognostic Impact of FLT3/ITD Mutation in Patients With Acute Myeloid Leukemia. Journal of BUON Vol.16, No.1, 2011.
2. **Govedarović N**, Mihailović D: Broj, volumen i areal nukleolarnih organizatorskih regiona (NOR-a) kao faktori prognoze u multipnom mijelomu. Bilt hematol 32(3):183-186;2004.
3. Vučić M, Tijanić I, **Govedarović N**, Mačukanović – Golubović L, Pavlović Z: The Impact of Leukodepletion Model on the Quality of Concentrated Thrombocytes Using the Assessment of Expression of Cellular Activation Markers. C Eur Jour Med. (*in press*)
4. Tijanić, M. Vučić, **N. Govedarović**, M. Tijanić, L. Mačukanović-Golubović: How to recognize acute leukemia in dental practice. Acta Stomatologica Naissi 25(59):883-888;2009.
5. V Kostić, M Đorđević, L Popović, E Kostić, **N Govedarović**: Efikasnost antivirusne terapije kod osoba sa hemofilijom i hepatitis C virusnom infekcijom. Med pregl 2009; LXII (3-4):129-132.

Projekti: - kao glavni istraživač

1. LNH-13: Rituximab as a maintenance therapy in pts with diffuse large B Cell LNH
2. DACO-016 : Randomized Phase 3 Trial of Decitabine Versus Patient's Choice with Physician's Advice of Either Supportive Care or Low-dose Cytarabine for the Treatment of Older Patients with Newly Diagnosed Acute Myeloid Leukemia
3. 3RP-R02: A safety registry to observe the clinical tolerability of Amphotericin B Cholesteryl Sulfate Complex for Injection (AMPHOCIL[®]), in the context of currently used pre-medication regimens.

Pedagoški rad:

Asistent – UNO Interna medicina - hematologija od 2000. godine

Uvodna predavanja:

“ Savremen pristup suportivnoj terapiji multipnog mijeloma” i Sastanak Srpske mijelomske grupe (SMG), 08.maj 2009. godine, Beograd.

“ Potporna terapija multipnog mijeloma”

Centar za kontinuiranu medicinsku edukaciju Medicinskog fakulteta u Nišu,
10. mart 2010. godine, Niš.

“ Diferencijalna dijagnoza limfadenopatija”

Edukaciona predavanja u organizaciji Srpske limfomske grupe (SLG) po zdravstvenim centrima Leskovac, Prokuplje, Vranje, Pirot, Zaječar, tokom 2008. - 2009. godine.

Učešće u radu poslovnih i stručnih organa i organizacija

Sekretar Srpske limfomske grupe (SLG);

Koordinator za jug Srbije u Srpskoj mijelomskoj grupi (SMG);

KOMPARATIVNA KLINIČKA, IMUNOLOŠKA, CITOGENETSKA, I KARIOMETRIJSKA ANALIZA AKUTNIH LEUKEMIJA

Sažetak

Akutna mijeloidna leukemija (AML) je maligna bolest akutnog toka, čiji je krajni ishod kod visokog procenta bolesnika još uvek nepovoljan. Cilj naše studije je bio definisati nove potencijalne prognostičke faktore u AML i komparisati ih sa standardnim faktorima prognoze. Studijom je bilo obuhvaćeno 123 novodijagnostikovanih bolesnika sa dijagnozom AML M0 - M5 po FAB-u, prosečne starosti oko 56 godina.

Nakon postavljanja dijagnoze svim bolesnicima su urađena kariometrijska ispitivanja, tj. mereni parametri jedara leukemijskih blasta, konvencionalne analize kariotipa, molekularne analize na prisustvo FLT3 ITD mutacije i analize imunofenotipa, metodom protočne citometrije.

Prema dobijenim rezultatima, može se zaključiti da su najvažniji nepovoljni faktori prognoze kod bolesnika sa AML: starije životno doba, leukopenija ili broj leukocita veći od $100000 \times 10^9 / l$, prisustvo FLT3 ITD mutacije i veća veličina jedara leukemijskih ćelija.

COMPARATIVE CLINIC, IMMUNOLOGIC, CYTOGENETIC AND KARYOMETRIC ANALYSIS OF ACUTE LEUKEMIAS

Summary

Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant disease with fulminant course, which results in a high percentage of patients remaining unfavourable. The aim of our research is to define potentially new prognostic factors and to compare them with standard, well established, prognostic factors in AML. Study group included 123 newly diagnosed patients, with mean age about 56 yr., with diagnosis AML M0 - M5, according to FAB classification.

After diagnosis, all patients underwent karyometric analyses (eg. measure of leukemic blast nuclei parameters), conventional karyotype analysis, molecular analyses of FLT3 ITD mutation, as well as immunophenotype analysis by flow cytometry.

According to results, it can be concluded that the main adverse factors in AML are: advanced age of patient, leucopenia or white blood cells count higher than $100000 \times 10^9 / l$, presence of FLT3 ITD mutation and higher size of myeloblast's nuclei.



Универзитет у Нишу
Универзитетска библиотека

Овај текст је део Дигиталног репозиторијума, јавно је доступан, и може се слободно користити за личне потребе, у образовне и научне сврхе. Ако користите текст, наведите извор.

Комерцијална употреба текста није дозвољена.

University of Niš
University Library

This text is a part of the Digital repository of public domain. Permission is granted for personal, educational and scientific use. If you do use the document, indicate the source.

No permission is granted for commercial use.

