

PhD értekezés

A haemostasis változása acut lymphoid leukaemiás gyermekek
inductios chemotherápiája során

Írta:

dr. Kardos Mária
POTE Gyermekklinika

Programvezető:

dr. Sümegi Balázs egyetemi tanár
POTE Biokémia Intézet

Alprogram vezető:

dr. Losonczy Hajna egyetemi tanár
POTE I. sz. Belklinika

Tutor:

dr. Losonczy Hajna egyetemi tanár
POTE I.sz. Belklinika

Pécsi Orvostudományi Egyetem, Pécs, 1998.

Tartalomjegyzék

Rövidítések

Bevezetés	1. oldal
A daganatsejt okozta haemostasis válasz pathophysiologiája	2. - 13. oldal
Célkitűzések	14. - 15. oldal
Beteganyag, módszer	15. - 19. oldal

Eredmények

I. Kezeletlen acut lymphoid leukaemiás gyermekek haemostasisának jellemzői	20. oldal
II/A. A haemostasis változása az inductios chemotherápia különböző szakaszaiban	20. - 28. oldal
II/B. A gyermekkori ALL L-asparaginase terápiája során (BFM ALL-88) észlelt haemostasis eltérések	29. - 35. oldal
III. Haemostasis zavar okozta thrombo-emboliás és vérzéses szövődmények	
Klinikai megfigyelések 1988-1997 között	36. - 53. oldal

IV. Örökletes tényezők szerepe a gyermekkori akut lymphoid leukaemia kezdeti szakában észlelt haemostasis zavarokban	54. - 57. oldal
V. A haemostasis eltérések és a klinikai jellemzők összefüggése gyermekkori akut lymphoid leukaemiában	58. - 60. oldal
VI. FV Leiden mutatio szerepe a gyermekkori ALL inductios chemotherápiája során észlelt haemostasis zavarokban	61. - 63. oldal
VII. Therápiásan befolyásolhatók-e az inductios chemotherápiát kísérő haemostasis eltérések?	64. - 69. oldal
Következtetések, az eredmények hasznosíthatósága	70. - 78. oldal
Irodalomjegyzék	79. - 97. oldal

Mellékletek:

A témával kapcsolatos saját közlemények jegyzéke

A témával kapcsolatos saját előadások jegyzéke

Köszönetnyilvánítás

Rövidítések

ADP:	adenosine diphosphat
PDGF:	platelet derived growth factor
PCA:	procoaguláns aktivitás
TF:	szöveti faktor
DIC:	diffus intravascularis coagulopathia
FPA:	fibrinopeptid A
SERPIN:	serine protease inhibitor
PAI-1:	plasminogén aktivátor inhibitor 1
PAI-2:	plasminogén aktivátor inhibitor 2
AT:	antithrombin
PC:	protein C
PS:	protein S
APC:	aktivált protein C
F1+2:	prothrombin aktivációs fragment
TAT:	thrombin-antithrombin komplex
aPTI:	aktivált partialis thromboplastin idő
FVIII: C:	faktor VIII coagulatio aktivitás
FDP:	fibrin/fibrinogén degradációs termék
ALL:	acut lymphoid leukaemia
BFM:	Berlin-Frankfurt-Münster
CT:	computer tomographia
MR:	magnetic resonance imaging
FFP:	friss fagyasztott plasma
PCR:	polymerase láncreakció
UH:	ultrahang
FAB:	French-American-British
Pred:	Prednisolon
VCR:	Vincristin

DNR: Daunorubicin
ASP: L-asparaginase
CP: Cyclophosphamid
ARA-C: Cytosine arabinoside
MTX: Methothrexat
6-MP: Mercaptopurine

BEVEZETÉS

A gyermekkori acut lymphoid leukaemiák húsz évvel ezelőtt még az igen gyorsan progrediáló, néhány hónap alatt halálhoz vezető kórképek közé tartoztak. Napjainkban azonban a komplex chemotherápia segítségével a betegek nemcsak tartós haematológiai remissióba hozhatók, hanem nemzetközi és hazai irodalmi adatok szerint a betegek 80 %-ában teljes gyógyulásról is beszélhetünk (54,57,110,130).

Az intenzív cytostaticus kezelés alatt fellépő, a beteg sorsát meghatározó szövödmények közül a fertőzések és a vérzések a leggyakoribbak.

A haemostasis zavarai klinikailag vérzések vagy thrombosisok formájában jelentkeznek. A vérzések leginkább az alapbetegség és a kezelés következtében kialakuló thrombocytopeniára, továbbá a véralvadás megváltozására vezethetők vissza. A thrombosisok kialakulásában rheológiai tényezők, aktivátor anyagok felszabadulása, és ezek következtében a vér hypercoagulabilitása játszanak szerepet. A hypercoagulabilitas az alvadási rendszer procagulánsainak és inhibitorainak egyensúlyzavarával magyarázható (126).

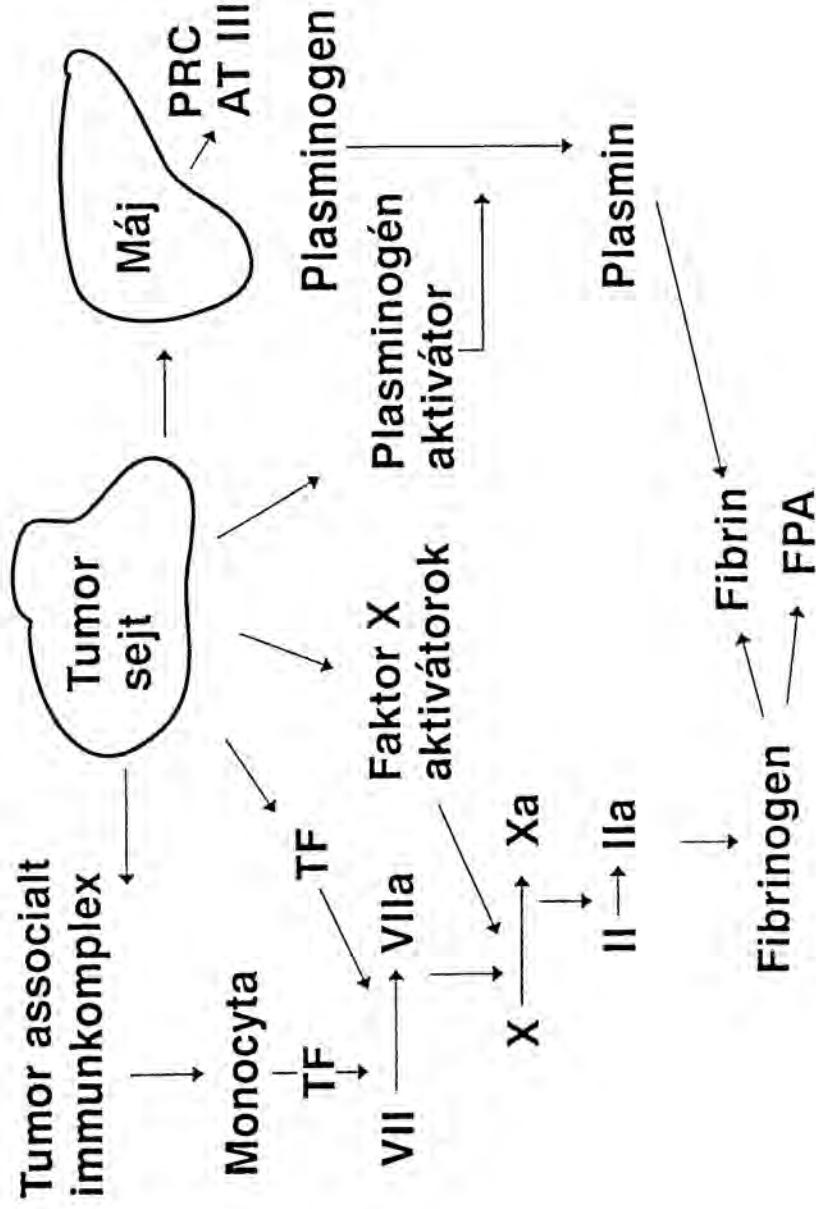
A laboratóriumi eltérések alapján a malignus betegségek kb. 50 %-ában, disseminált metastasis esetén több mint 95 %-ában figyelhetők meg a véralvadás zavarai (89).

A DAGANATSEJT OKOZTA HAEMOSTASIS VÁLASZ PATHOPHYSIOLOGIÁJA

A véralvadási rendszer és a daganatsejtek közti kapcsolat komplex.

A haemostasis zavarai négy fő csoportba sorolhatók:

- I. Fokozott thrombocyta aktiváció és aggregáció
- II. A véralvadási kaskád kóros aktivációja
- III. Plasminogén aktivátor fokozott felszabadulása
- IV. A véralvadás májban képződő természetes inhibitorainak (antithrombin, protein C) csökkent szintézise (1. ábra)



1. ábra

A daganatsejt okozta haemostasis válasz Nand és Messmore szerint

I. Fokozott thrombocyta aktiváció és aggregáció

A daganatos betegek 30-60 %-ában észlelhető thrombocytosis, mely azt jelzi, hogy a thrombocyták és a daganatos folyamat valamilyen módon összefügg egymással.

Schmidt már 1903-ban leírta, hogy a daganat környezetében a thrombocyták aggregációja jön létre.

A daganatsejtek thrombocyta aktiváló anyagát a plasmamembránban identifikálták, mely szialinsavat és az aktiválásához szükséges complementet tartalmazza. A szialinsav tartalom korrelál a daganat metastatizáló képességével.

Emlőrákos betegekben mutatták ki, hogy a keringő glycolipidek, - melyek a szialinsavat hordozzák - a daganat sebészi eltávolítását követően eltűnnek a keringésből, ilyen módon tumormarker szerepét tölthetik be.

A thrombocyta aggregáló képesség species specificus. Míg állati tumormodellekben az aggregáló képesség complementet igényelt, addig humán adenocarcinomás betegekben az aggregációhoz complementre nem, de thrombin jelenlétére szükség volt.

A tumorsejtek az aggregáción kívül direkt módon is képesek aktiválni a thrombocytákat, fokozni az ADP-release-t és a thrombin generációt. Ennek ellenére a thrombocyták szerepe a daganatos betegségekben, illetve azok metastatizálódásában még napjainkban sem tisztázott.

Egyik lehetséges mechanizmus: a thrombocytákból származó növekedési faktorok elősegítik a tumorsejt túlélését a tumor-emboluson belül. Így felmerül a PDGF szerepe. Állatkísérleti modellekben igazolást nyert, hogy a thrombocyta aggregációt gátló gyógyszerek adása gátolta a daganat metastatizáló képességét.

A thrombocyták érintettsége tehát nem kétséges a malignus kórképekben.

A gazdaszervezet thrombocytáit a tumorsejtek tehát mind aktiválni, mind aggregálni képesek. Ez hozzájárul egyrészt a fokozott thrombosis hajlamhoz, másrészt a metastatizáló képességet fokozza. Állatkísérletekben a daganat thrombocyta aggregáló aktivitása és a tumor metastasisokat okozó hatása összefügg. Ennek klinikai aspectusai azonban napjainkban még nem tisztázottak, részleteiben további elemzésre szorulnak.

II. A véralvadási kaszkád kóros aktivációja

A tumorsejtekből három különböző mediátor szabadul fel, melyek a véralvadási kaszkádra hatnak:

1. Procoaguláns aktivitás (PCA)
2. Plasminogén aktivátor
3. Vascularis permeabilitást fokozó anyag

A tumorsejt PCA további három alcsoportra osztható:

- a. Szöveti faktor-szerű procoagulánsok (TF)
- b. X faktor aktivátorok
- c. Egyéb procoagulánsok

A szöveti faktort 1972-ben Grainick és Abrell identifikálta acut promyelocytás leukaemiában (51,52). Később a promyelocytás leukaemián kívül egyéb leukaemiákban, malignus lymphomákban, osteogén sarcomában, adenocarcinomában is sikerült kimutatni.

Fontos körülmény, hogy TF-szerű procoagulánsokat a normális granulocyták és monocyták is képesek termelni, de ezeknél sokkal hatékonyabb a daganatsejtek TF aktivitása.

A szöveti faktor aktivitás fokozódás legfontosabb következménye a véralvadási kaszkád "extrinsic" útjának az aktivációja, mely a VII-es faktor aktiválódásán keresztül a X-es faktor aktiválódását eredményezi.

A X-es faktor aktivátorok egyláncú cysteine-proteázék, melyeket nemcsak állati eredetű tumorsejtekből, hanem különböző humán daganatokból is sikerült izolálni, így: emlő, vastagbél, vese, leukaemia (38).

A kórosan fokozott véralvadási folyamat végeredménye a klinikai vagy szubklinikai tünetekkel megjelenő DIC, a fokozott fibrinolysis, vagy mindkettő. (11,21,99,114)

A leggyakrabban észlelt eltérések a fibrin/fibrinogén hasítási termékek fokozódása, thrombocytosis, emelkedett fibrinogén szint. A betegek jelentős részében megnyúlik az aktivált partiális thromboplastin idő (aPTI), prothrombin idő.

Amikor a fibrinogén és más faktorok szintje emelkedett, a DIC "túlkompenzált". A fibrinopeptid A (FPA) a thrombin hatására a fibrinogén molekulából hasad le. A thrombin fokozott aktivációja következtében ennek a szintje is fokozott lehet.

Rickles és mtsai szerint a tartósan emelkedett fibrinopeptid A szint a daganatos betegség progressiójának és kedvezőtlen prognózisának az indikátora (109).

Az anti-thrombin szint csökkenése ugyancsak a DIC következménye. Annak ellenére, hogy a tumorsejtek plasminogén aktivátorok termelésére képesek, a fibrinolysis systemás fokozódása csak igen ritkán figyelhető meg a daganatos betegségekben. A fibrinolysis fokozódását az alacsony fibrinogén szint, emelkedett FDP, megrövidült euglobulin lysis idő és standard thrombocytaszám jelezheti. Sokkal gyakoribb a DIC és fokozott fibrinolysis társulása.

III. Plasminogén aktivátor fokozott felszabadulása

A daganatsejtek további fontos jellemzője, hogy felületükön plasmin/ogén/ és plasminogén aktivátor receptorokkal bírnak és egyben képesek plasminogén aktivátorok termelésére.

A plasminogén aktivátorok a tumorsejtek által secretált serine proteasák, melyek lehetővé teszik, hogy a daganatsejtek könnyen átjussanak a vascularis basalmembránon és disseminálódjanak.

Feltehetően ez a localis, proteolyticus folyamat az alábbi módon megy végbe:

A plasminogén a daganatsejtek felületén elhelyezkedő specificus receptorokhoz kötődik, majd aktiválódik a sejthez kötött plasminogén aktivátorok által, annak ellenére, hogy a gazdaszervezet SERPIN-jei (PAI-1, PAI-2), jelen vannak. A képződő plasmin ugyancsak képes lesz a tumorsejt felületi plasmin/ogén receptorához hozzákötődni, feloldani az extracellularis matrixot és a vascularis basalmembránt (89). A folyamatban a plasmin hatására aktiválódó matrix metalloproteasak, valamint az extracellularis matrix proteinek hasítása játszik fő szerepet. A folyamat végeredménye a daganatsejt disseminálódása. A plasminogén aktiválódás legfontosabb feltétele a fibrin kiválás. A fibrinnek közel 90 %-a képes gyorsan, a fibrinolysis által hasadni. A fibrin hasításában a daganatsejtek által termelt cathepsin ugyancsak szerepet játszik.

Emberi daganatos szövetekben, ill. az acut myeloid leukaemiában kimutatott plasminogén aktivátorok nagyrésze az urokinase típus sajátosságait mutatja, de kimutatták szöveti típusú plasminogén aktivátorok jelenlétét is.

Az 1970-es évek közepétől vált ismertté, hogy a humán leukocytákból felszabaduló proteasák is képesek a fibrinogén hasítására és ezek a proteasák jelen vannak a leukaemiás betegek plasmájában. Ezek egyike az elastase (75).

A plasmin vagy elastase közvetítette proteolysis jelentős lehet a fibrinolysis fokozódásában. Ezt a teóriát támogatná különösen promyelocytás leukaemia esetében észlelt magas elastase aktivitás. Ugyanakkor ezzel az elmélettel nem magyarázható meg az acut lymphoid leukaemiákban előforduló fibrinolysis fokozódás, ugyanis a lymphoblastokban nem mutatható ki elastase aktivitás. Primér fibrinolysis fokozódás akut lymphoid leukaemiában ritkán fordul elő. Leginkább sekunder jelenség, DIC következménye. Így mint mechanizmussal kevésbé kell számolni.

IV. Az antithrombin (AT), a protein C és protein S legfontosabb természetes anticoaguláns rendszerek

Az AT egy 58 000 KD molekulatömegű glycoprotein, melyet a májsejtek szintetizálnak. Az alvadási kaszkád szinte valamennyi aktivált alvadási faktort képes inaktiválni, így a thrombint, az aFX-t, az aFIX-t, az aFVII-t, az aFXII. Hatását a heparin és az endothelsejtek felszínén lévő heparin-szerű molekulák (glycosaminoglycan) nagyságrendekkel fokozzák (67).

Az AT veleszületett hiányállapotai jellegzetes klinikai kép kialakulásához vezetnek, melyet a recurráló mélyvénás thrombosisok, vagy szokatlan localisatióban jelentkező vénás (agyi vénák, mesenterialis vénák), esetenként artériás thrombosisok jellemeznek. Az AT különböző hiányállapotainak gyakoriságát a lakosság körében 1:600-hoz becsülik, a thrombophilias betegek 2-4 százalékáa AT hiányos.

A protein C szintézise - hasonlóan az antithrombinhoz - a májsejtekben történik. 63 kD molekulatömegű, K-vitamin dependens, túlnyomórészt inaktív formában keringő proteáz.

Az endothelsejtek felszínén lévő thrombomodulin molekulához kapcsolódott thrombin aktiválja. Az aktivált protein C (APC) a véralvadás természetes inhibitora, azáltal, hogy az aktivált V-ös és VIII-as faktorhoz kapcsolódik és azokat hasítás (proteolysis) révén inaktiválja.

Ezen kívül inaktiválja a plasminogén aktivátor inhibitorát, így fibrinolysist fokozó hatással is bír. A protein C hatását kofaktora, a protein S jelentősen fokozza.

A protein S egy 89 kD molekulatömegű, a máj és az endothel sejtek által szintetizált glycoprotein. A protein S legfontosabb hatása az, hogy kofaktorként fokozza az aktivált protein C hatását. A protein C közel 60 százaléka komplexet alkotva kering a complement 4 b faktort kötő fehérjével. A protein S kofaktor hatását a nem kötött, fennmaradó 40 % fejtí ki. A természetes anticoagulánsok szintjének csökkenése thrombosis kialakulásának lehetőségét teremti meg.

Dahlback és mtsai 1993-ban írták le az aktivált protein C (APC) resistenciát egy 41 éves többszöri mélyvénás thrombosisban szenvedő férfiban. Ennek lényege, hogy az aktivált V-ös faktor rezisztens ACP-re (31). Ez a resistencia vezet a fokozott alvadási készséghez.

1994-ben Bertina és mtsai (16) ismerték fel, hogy az APC resistencia fenotípusának a háttérében az esetek 90 %-ában az V-ös faktor génjének pontmutatioja áll, vagy homozygota, vagy heterozygota formában. Ennek során az 1691-es positionban lévő guanin adeninre cserélődik (Leiden mutatio, vagy FV Q 506).

A familiáris mélyvénás thrombosisos betegek mitegy 20-40 %-ában mutatható ki az APC resistencia (31).

Klinikai fontosságát az is alátámasztja, hogy incidenciája közel tízszerese az eddig ismert természetes inhibitor defectusoknak

(antithrombin, protein C, protein S). Az APC rezisztencia gyakoriságát a Kaukázusi populációban 5 % körülire becsülik.

A heterozygotákban elsősorban akkor lépnek fel a thromboticus szövödmények, ha facilitáló tényezők vannak jelen: műtét, immobilisatio, anticoncipiens szerek, terhesség, gyermekágy.

Míg heterozygotákban a thrombosis kialakulásának kockázata az egészséges populációhoz viszonyítva 10x nagyobb, addig homozygotákban a kockázatot 50-100-szorosra becsülik.

A polychemotherápia inductios szakaszában alkalmazott cytostaticumok közül különös jelentőséggel bír az L-asparaginase.

Az L-asparaginase az inductios chemotherápia egyik legfontosabb, haematologiai remissiot indukálni képes szere. Tumorölő hatása 1953 óta ismert.

A gyermekkori acut lymphoid leukaemia gyógykezelésében a komplet haematologiai remissio elérése után, a gyógykezelés egy későbbi un. reinductios szakaszában is alkalmazzuk(28,56,70,43,128).

A szer hatását az alábbi módon fejtí ki: a normál sejtektől eltérően az acut lymphoid leukaemia és a T-sejtes lymphoma blastsejteit az asparagin - synthetase hiány jellemzi. Ennek következtében képtelenek L-asparagint termelni az asparaginsavból, így fehérjeszintézisük teljes mértékben az exogén L-asparagin készlettől függ.

A daganatellenes enzimtherápia során az L-asparaginase az L-asparagint asparaginsavvá hydrolizálja és így csökken a keringő L-asparagin készlet, a blastok fehérjeszintézise és növekedése leáll, majd bekövetkezik a sejthalál.

A szer a leukaemiás sejtek fehérjeszintézisének gátlása mellett gátolja számos más plasma protein szintézisét is.

A szakirodalom számos, az L-asparaginase kezeléssel kapcsolatos haemostasis zavarról számol be. Hatására csökken a véralvadás természetes inhibitoraként ismert antithrombin, protein C, protein S, továbbá a plasminogén és fibrinogén szintézis. Megnyúlik a

prothrombin idő, az aktivált partialis thromboplastin idő és thrombin idő (12,14,17,22,24,25,30,60,97,104,105,106,107,112,131,132). Bár az L-asparaginase kezelés következményeként fellépő gátolt protein szintézis az egyik legfontosabb mechanizmus a gyermekkori akut lymphoid leukaemiák kezelése során megfigyelt haemostasis zavarokban, jelenleg nem kellőképpen tisztázott, hogy bizonyos véralvadási fehérjék szintézise miért gátolt kifejezettebben, másoké miért csak kevésbé.

E kellőképpen még meg nem válaszolt kérdés mellett ugyanakkor tény, hogy a gyermekkori akut lymphoid leukaemiában is több, az L-asparaginase kezeléssel összefüggésbe hozható központi idegrendszeri vérzés ill. thrombosis ismert(13,23,26,34,119,121,126). A központi idegrendszeri szövődmények kialakulása elsősorban a chemotherápia kezdeti szakaszát jellemzi, de nem ritka a haematologiai remissio bekövetkezése után sem (29,39,40,41,42,49,61,74, 85,87,93,94,95,100,115,134).

Fontos, hogy az L-asparaginase kezeléssel kapcsolatos haemostasis eltérések majdnem minden betegben megfigyelhetők, de a szövődmények gyakorisága csak 1-11 % (69,102) .

A daganatos betegségek és a thrombo-emboliás szövődmények társulása mind felnőttkori, mind gyermekkori megbetegedésekben ismert(120,129,135). Ugyanakkor a thrombo-embolia kialakulásának pathomechanizmusa még napjainkban sem tisztázott. A szerzők többsége multifaktoriális eredetet valószínűsítenek. Oki tényezőként felferült a véralvadás veleszületett, természetes inhibitorainak szerzett, vagy genetikus hiánya, melyet néhány felnőtt- és gyermekkori daganatos betegben sikerült is igazolni.

Dahlbäck (1993) és Bertina (1994) felfedezése óta az V-ös faktor Leiden mutatioja szerepeltethető mint a legfontosabb thrombosit előidéző tényező (16,31).

1996-ban Sifontes és mtsai a gyermekkorban előforduló thrombosisok 23 %-ában tudták kimutatni az V-ös faktor Leiden mutatioját, mint a thrombosis rizikófaktorát(118).

A haemostasis zavar okozta vérzéses - thromboticus komplikációk elméletileg minden daganatos betegségben létrejöhetnek, mégis leggyakoribb előfordulással a leukaemiás és lymphomás betegségekben várhatók (1).

A tumorsejttömeg, melyet az abszolút blastszám jelenít meg, leukaemiában különös jelentőséggel bírhat.

A cytostaticus therápia bevezetése ugyancsak hozzájárul a hemostasis egyensúlyának a megbomlásához, azáltal, hogy sejtdestructiot eredményez, mely révén a véralvadást befolyásoló trigger mechanizmust indít el.

Az endogén thrombin generáció folyamatát különböző érzékeny és specifikus markerekkel lehet kimutatni:

- prothrombin fragment (F1+2)
- thrombin-antithrombin komplex (TAT)
- fibrinopeptid (FPA)
- aktivált protein C inhibitor komplex (19,33,59,72,77,85,96,111)

Az ethanol gelatio (21), ill. fibrinogén hasítási termék (81) vizsgálata napjainkban nem, vagy csak kevésbé jelentős.

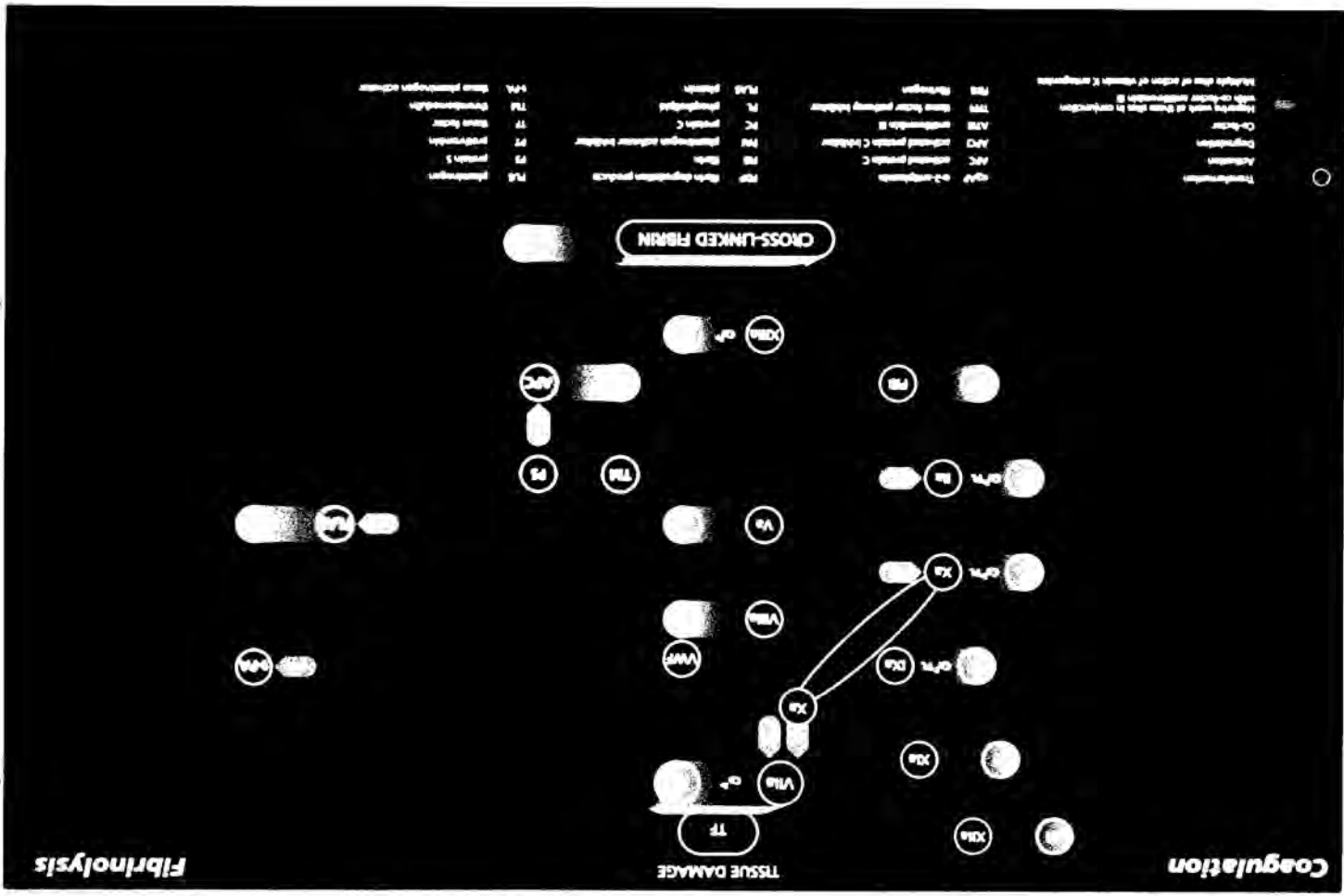
A véralvadás folyamatában ezek a markerek komplex kapcsolatban vannak egymással:

A véralvadási folyamat egyik legfontosabb láncszeme az aktivált X faktor létrejötte, mely a Ca^{++} -al, a phospholipiddel és az aktivált V-ös faktoral a prothrombinase komplexet hozza létre, mely a prothrombint thrombinná alakítja.

A prothrombin thrombinná való alakulásakor egy intermedier alvadási termék a 34 000 dalton molsúlyú, inaktív rész a prothrombin fragment (F1+2) szakad le és nagy specificitással jelzi az alvadási folyamatot. Mivel in vivo féléletideje rövid (90 perc), ezért a véralvadási rendszer aktuális állapotát tükrözi.

A thrombin hatására a fibrinogén molekula középső domain-jéről lehasad a fibrinopeptid A és a fibrinopeptid B, a visszamaradt monomer spontán polymerizálódik. A képződött thrombin ezenkívül természetes inhibitorokhoz az antithrombinhoz, ill. az endothel sejtek

felszínén lévő receptorhoz, a thrombomodulinhoz kötődik, és aktiválja a vérplasmában keringő protein C-t (APC) (2 ábra).



2. ábra

Több tanulmány számol be arról, hogy az endogén thrombin generációs markerek plasma koncentrációja szignifikánsan emelkedett volt azokban a betegekben, ahol veleszületett, vagy szerzett thromboticus elváltozás állt fenn (15,19,33,59,72). Jellegzetes, hogy a vérzéses és thromboticus szövődmények változatos formában és súlyosságban léphetnek fel. Nemcsak a beteg életminőségét döntően meghatározó maradványtünetekkel gyógyulhatnak, de potenciális életveszélyt is jelentenek. Megelőzésük így tovább javíthatja a leukaemiás gyermekek túlélését és kedvezően befolyásolhatja a gyógyult gyermekek életminőségét.

A thrombo-emboliás szövődmények kezelését, ill. a hypercoagulabilitás jeleinek észlelésekor teendő therápiás lépéseket illetően azonban nem egységes az irodalom állásfoglalása(36,50,53,55,63,66,79,86,91,98).

Célkitűzések

A bevezetőben már említettek szerint az akut leukaemiákhoz társuló haemostasis zavar etiológiáját illetően komplex, nem egyszer ellentmondásos és minden részletét illetően még napjainkban sem tisztázott.

Ugyanakkor a leukaemiák kezelése során kialakuló véralvadási eltérések sajátosságának megismerése és a klinikai tünetekkel való összevetése hozzájárulhat az aequat kezelés megtervezéséhez, és ezen keresztül a korai halálozás csökkentéséhez. Ezt tekintve 1988-1997. között a POTE Gyermekklinika Regionális Onkohaematologiai Központjában 67 (21 leány, 46 fiú) akut lymphoid leukaemiában újonnan megbetegedett gyermekekben vizsgáltuk a haemostasis változását a chemotherápia inductios szakaszában. A betegek átlagos életkora 6,1 év volt (az életkor szélső határa: 10 hónap, ill. 16 év).

Munkánk egyik célja a diagnosztikusan és prognosztikusan felhasználható véralvadási paraméterek alkalmazhatóságának az elemzése volt akut lymphoid leukaemiás gyermekek gyógykezelésének korai szakaszában fellépő haemostasis változások kapcsán.

Prospectiv jellegű vizsgálatainkban a következő kérdésekre kívántunk választ kapni:

1. Kezeletlen, akut lymphoid leukaemiás gyermekekben a diagnosis felállításakor észlelhetők-e eltérések a haemostasisban?
2. Változik-e és ha igen mi módon a haemostasis a chemotherápia korai, inductios szakaszában?

3. A haemostasis zavarának laboratóriumi jelei társulnak-e klinikai tünetekkel?
4. Milyen összefüggés van a coagulatio zavar laboratóriumi jelei és az acut lymphoid leukaemiát jellemző klinikai tünetek között?
5. Szerepet játszanak-e örökletes tényezők a coagulopathiás jelek és/vagy tünetek manifesztálódásában?
6. Van-e szerepe a F V Leiden mutationak a kezelés során észlelt thromboticus szövődményekben?
7. Therápiásan befolyásolhatók-e az inductios chemotherapyt kísérő haemostasis eltérések?

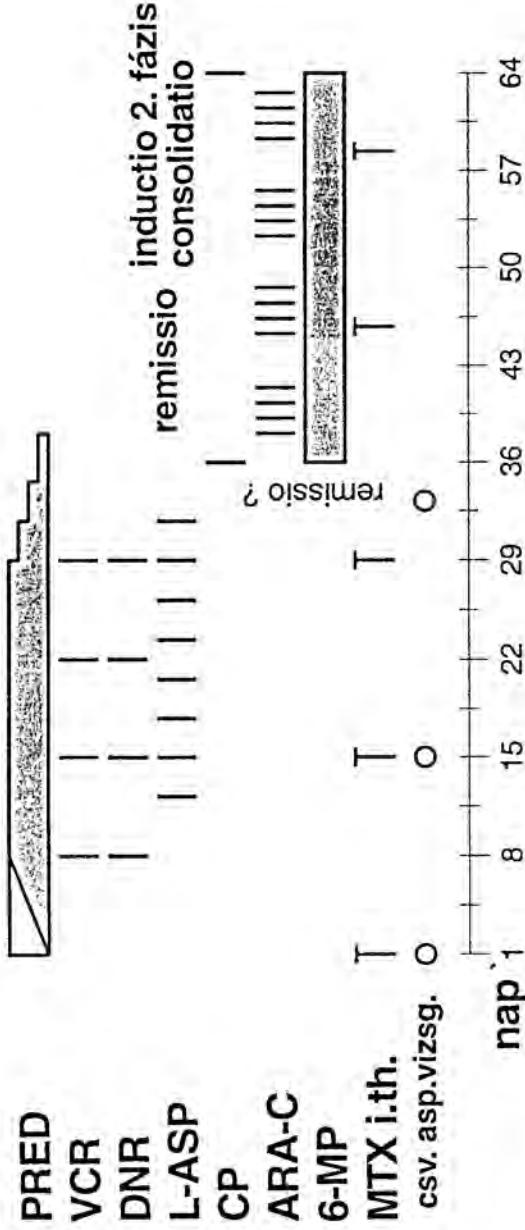
Beteganyag, módszer:

1988.01.01.-1997.01.01. között 67 acut lymphoid leukaemiában újonnan megbetegedett gyermekben az inductios chemotherapy különböző szakaszában vizsgáltuk a véralvadási folyamatokban és az antithrombin-ban bekövetkezett változásokat.

Vizsgálataink a thrombocyta- és fibrinolyticus rendszer változására nem terjedtek ki. A gyermekek gyógykezelése a Magyar Gyermekonkológiai Munkacsoport által elfogadott, nemzetközi therápiás protokollok, az ALL- BFM 88, ill. ALL- BFM 90 protokoll szerint történt (3,4 ábra).

3. ábra

ALL-BFM 90 Protokoll I inductio 1. fázis



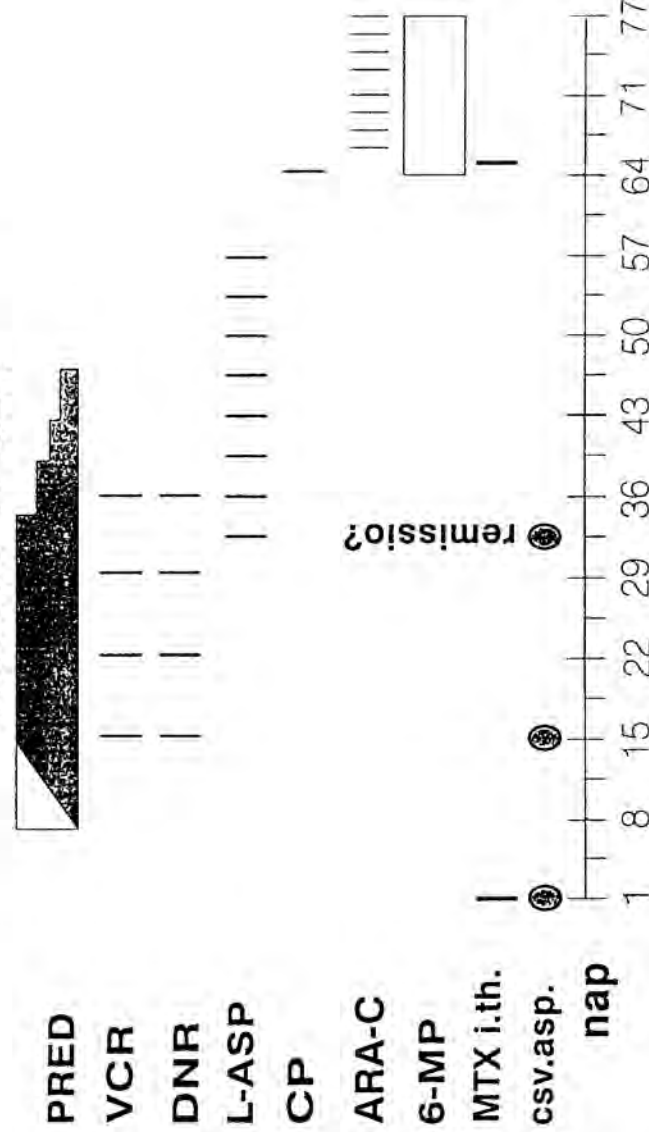
PRED p.o. 60 mg/m²/die
 VCR i.v. 1,5 mg/m²/die
 DNR p.i. (th) 30 mg/m²/die
 L-ASP p.i. (th) 10000 E/m²/die
 CP p.i. (th) 1000 mg/m²/die (MESNA-val)
 ARA-C i.v. 75 mg/m²/die
 6-MP p.o. 60 mg/m²/die (36-63. napon)

(1-28. napon, utána reductio 3x3 napig)
 (maximális egyszeri adag: 2mg)

MTX i.th. kor szerint:
 <1 év: 6 mg
 1-2 év: 8 mg
 2-3 év: 10 mg
 >3 év: 12 mg
 Kezdeti KIR-i érintettség esetén
 MTX i.th. 8. és 22. napon

ALL-BFM 88 Protokoll I.

inductio 1. fázis



4. ábra

Az inductios terápia részeként a gyermekek Prednisolon, Vincristin, Daunorubicin, L-asparaginase és i. th. profilacticus MTX terápiában részesültek (3,4).

A két terápiás protokoll csupán az L-asparaginase kezelés bevezetésének időpontjában különbözőt egymástól, nevezetesen az ALL-BFM 88 protokoll szerint kezelt 18 gyermek az L-asparaginase kezelést csak a terápia 3. hetét követően kezdte el, így az L-asparaginase kezelésük elnyújtott volt.

A véralvadási folyamatokban, ill. az antithrombin-ban bekövetkezett változásokat rutin, a mindennapi klinikai gyakorlat számára hozzáférhető véralvadási módszerekkel kívántuk megközelíteni.

A véralvadási vizsgálatokat az inductios chemotherápia különböző szakaszaiban végeztük, egybekötte a cytostaticumok máj- és vesefunctiora, ill. vérképzésre gyakorolt ellenőrző vizsgálatával. Ily módon a vizsgálatok a gyermekek számára külön megterhelést nem jelentettek, elvégzésük etikai normákat és előírásokat nem sértett.

A véralvadási vizsgálatok pangatásmentes, vénás, 1,00 M trinátriumcitráttal alvadásgátolt vérből, 6000 fordulat/perc centrifugálással nyert plasmából történtek. A plasma egy részét azonnal felhasználtuk, más részét felhasználásig -20°C-on tároltuk. A plasmavételhez, készítéshez és tároláshoz műanyag eszközöket alkalmaztunk. A vizsgálatban résztvevő gyermekek a vizsgálat időpontjában lázas betegségben nem szenvedtek, fertőző betegsége, ill. gyulladós folyamat fennállására utaló tünetük nem volt. A leukaemia diagnózisának felállítása előtt hepatocelluláris laesio jelei nem álltak fenn, ill. nem részesültek olyan gyógyszeres kezelésben, mely májkárosító, ill. véralvadási folyamatokat befolyásoló effectussal bírt. Azon gyermekeket, ahol a thrombocytaszám 25.000/ul-nél kevesebb volt, kizártuk az értékelésből.

A véralvadási vizsgálatok a következő időpontban történtek:

1. Az akut lymphoid leukaemia diagnosísának időpontjában, közvetlenül a chemotherápia megkezdése előtt.
2. 1 hetes Prednisonon előkezelést követően
3. Majd az indukció alatt hetente két alkalommal, mindig a protokoll szerint esedékes chemotherápia megkezdése előtt, továbbá az indukció befejezése után 1 héttel.
A BFM- ALL-88 protokollban az L-asparaginase kezelése alatt a vizsgálatok ugyancsak heti két alkalommal, az L-asparaginase adása előtt, ill. annak elhagyása után 7- és 14 nappal történtek.

A véralvadási vizsgálatokoz az alábbi tesztekot használtuk:

- prothrombin komplex aktivitás Quick szerint (Simplastin Gödecke, Freiburg NSZK) normál: 80-100 %
- antithrombin aktivitás/amidolyticus módszerrel (Immunochrom AT, Immuno, Bécs Ausztria) normál: 80-120 %.
- antithrombin antigen koncentratio (radial immundiffusios technika, M-Partigén lemezen Behringwerke, Marburg, Németország) normál: 80-120 %.
- prothrombin aktivacios fragment 1+2 (microelisa módszer) Organon technika, Durham, N.C. USA) normál: 0,2-1,2 nM/l (gyártó által megadva)
- D-dimer (latex agglutinatos módszer) STAGO Diagnosztika Franciaország. normál: negatív agglutinatio <0,5 ug/ml
 ++agglutinatio ≥ 1,0 < 2,0 ug/ml
 +++agglutinatio ≥2,0 <4,0 ug/ml

++++agglutinatio $\geq 4,0$ <8,0 ug/ml
 ++++agglutinatio $\geq 8,0$ ug/ml

- fibrinogén-fibrin degradációs termékek, (latex gyorsteszt) Thrombo-Wellcotest, Wellcome, Bechenham, Anglia) normál: <5 ug/ml

- fibrinogén (Turbox Fibrinogen assay). Orion diagnosztika Budapest. normál: 200-400 mg%

- aktivált partiális thromboplastin idő (aPTI) (Diagnosztikai reagens készlet). Reanal Budapest. normál: 35-40 sec.

- thrombin idő normál: 15-20 sec.

- fibrin monomerek: ethanol gelatinos teszt (csak 1988-1989. között) normál: negatív

- FVIII C: reagens Platelin-Plus Aktivátor (Gödecke, Greiburg, NSZK, a szubstrát VIII-as faktor hiányplasma (General Diagnostics). New Jersey, USA) normál: 80-120 %

A véralvadási vizsgálatok végzéséhez Schnitger, Gross coagulometert (H. Amellung GMBH, D-4920 LEMBGO1, Typ: 210 A28) használtunk.

Az értekezés a prothrombin aktivitás mérésére ma megkövetelt INR értéket nem tartalmazza. A prothrombin aktivitást százalékban adjuk meg, hogy az 1988-tól végzett vizsgálati eredményeinket egységesen tudjuk kifejezni.

Az eredmények statisztikai elemzése Student-t teszt, illetve multivariancia analysis segítségével történt.

Szignifikánsnak tekintettük a változásokat, ha $p < 0,05$.

Az eredmények ábrázolására diagrammot és táblázatot alkalmaztunk.

A diagrammokon az $\text{átlag} \pm \text{SD}$ -t tüntetjük fel.

EREDMÉNYEK

I. Kezeletlen acut lymphoid leukaemiás gyermekek haemostasisának jellemzői

A prospectiv tanulmányban résztvevő valamennyi 67 ALL-s gyermek vizsgált véralvadási paramétereit értékelni tudtuk. 59 betegben haemostasis zavar laboratoriumi vagy klinikai jeleit nem lehetett dokumentálni.

Nyolc gyermekben azonban fokozott alvadéskésztségre jellemző laboratoriumi eltérések voltak megfigyelhetők. Ezek részletes elemzése a IV. fejezetben történik. A nyolc gyermek közül egy betegben a hypercoagulabilitás laboratoriumi jelei klinikai tünetekkel is társultak: az acut leukaemia bevezető tünete központi idegrendszeri thrombosis volt (14. ábra).

A statisztikai analysis szerint a kezeletlen 67 ALL gyermekekben a porthrombin aktivitás (átlag \pm SD): $92,7\pm 3,8$ %. aPTI: $30,2\pm 1$ sec, thrombin idő: $20,2\pm 0,8$ sec, fibrinogén: $362,7\pm 3,7$ mg%, AT: $115,3\pm 2$ % (5,6,7,8 ábra)

II.A. A haemostasis változása az inductios chemotherápia különböző szakaszaiban

1. Az aPTI változása az inductios chemotherápia során

Az inductios cheomotherápia 1 hetes Prednisolon kezelését követően, a therápia 8. napján történt vizsgálatok szerint az aPTI megrövidült: $21,7\pm 2,6$ sec. A therápia megkezdése előtti értékhez ($30,2\pm 31$ sec) viszonyítva ez szignifikáns változás ($p:<0,01$). A véralvadás intravascularis aktiválódását jelezte az emelkedett intermedier aktivációs termék a F1+2, melyet 1996-97-ben 50 ALL-s gyermek tárolt vérmintáiból végeztünk el. A Prednisolon therápia

utáni átlag a gyártó által megadott normális értéknél szignifikánsan magasabb volt ($2,09 \pm 0,45$ nM/l vs: $0,2-1,2$ nM/l).

A fibrinolysis fokozódását jelezte a pozitív D -dimer teszt, melyet a vizsgált 67 gyermek közül 47 esetben észleltük.

Az inductios therápia 2. hetétől kezdve az aPTI fokozatos negnyúlását találtuk: Therápia 15.nap: $37,8 \pm 2,1$ sec, 18. nap: $48,1 \pm 2,4$ sec, 22.nap: $53,5 \pm 2,8$ sec, 25. nap: $56,1 \pm 2,5$ sec, 29.nap: 65 gyermekben történt mérés alaján a PTI: $50,8 \pm 1,7$ sec.

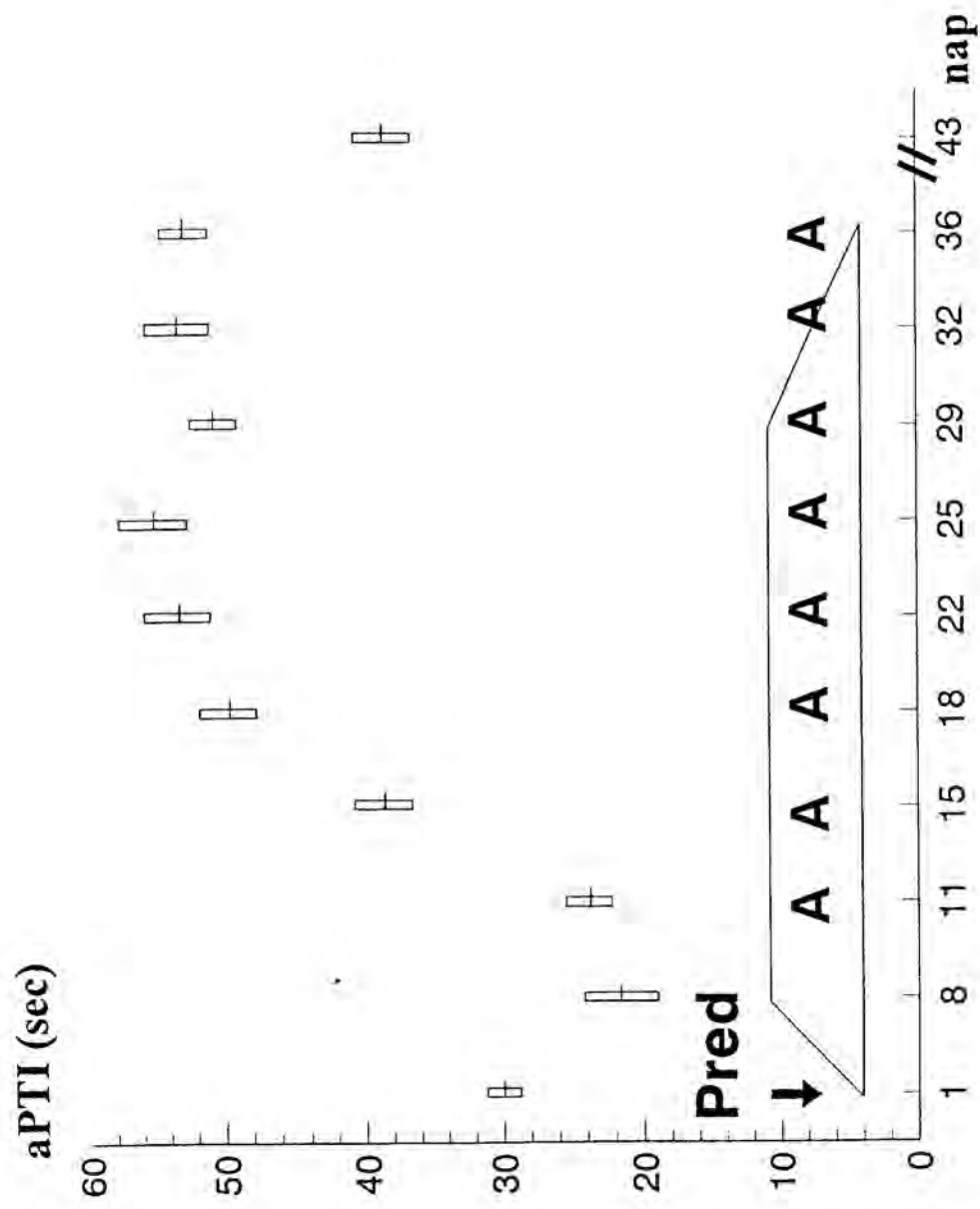
Az inductios chemotherápia első 4 hete után az aPTI még mindig megnyúlt: therápia 36. nap: $53 \pm 1,7$ sec. Statiztikailag az inductos chemotherápia második hetétől észlelt aPTI megnyúlás a diagnosis időpontjában talált értékhez viszonyítva (aPTI: $30,2 \pm 1$ sec) szignifikáns ($p < 0,001$). A 15.18.22.25.29.32.36. napon talált értékek egymástól szignifikánsan nem különböznek (p: NS) (5. ábra).

Megjegyzés:

Az ábrák vízszintes részén a haemostasis vizsgálatok időpontjai, a függőleges szakaszon az inductios chemotherápia során végzett különböző véralvadási tesztek szerepelnek.

Rövidítések: Prednisolon: Pred, L-asparaginase(A) adás.

aPTI normál értéke: 35-40 sec.



5. ábra

Az aPTI változása gyermekkori ALL inductios
chemotherápiája során.

2. Prothrombin aktivitás változása az inductios chemotherápia során

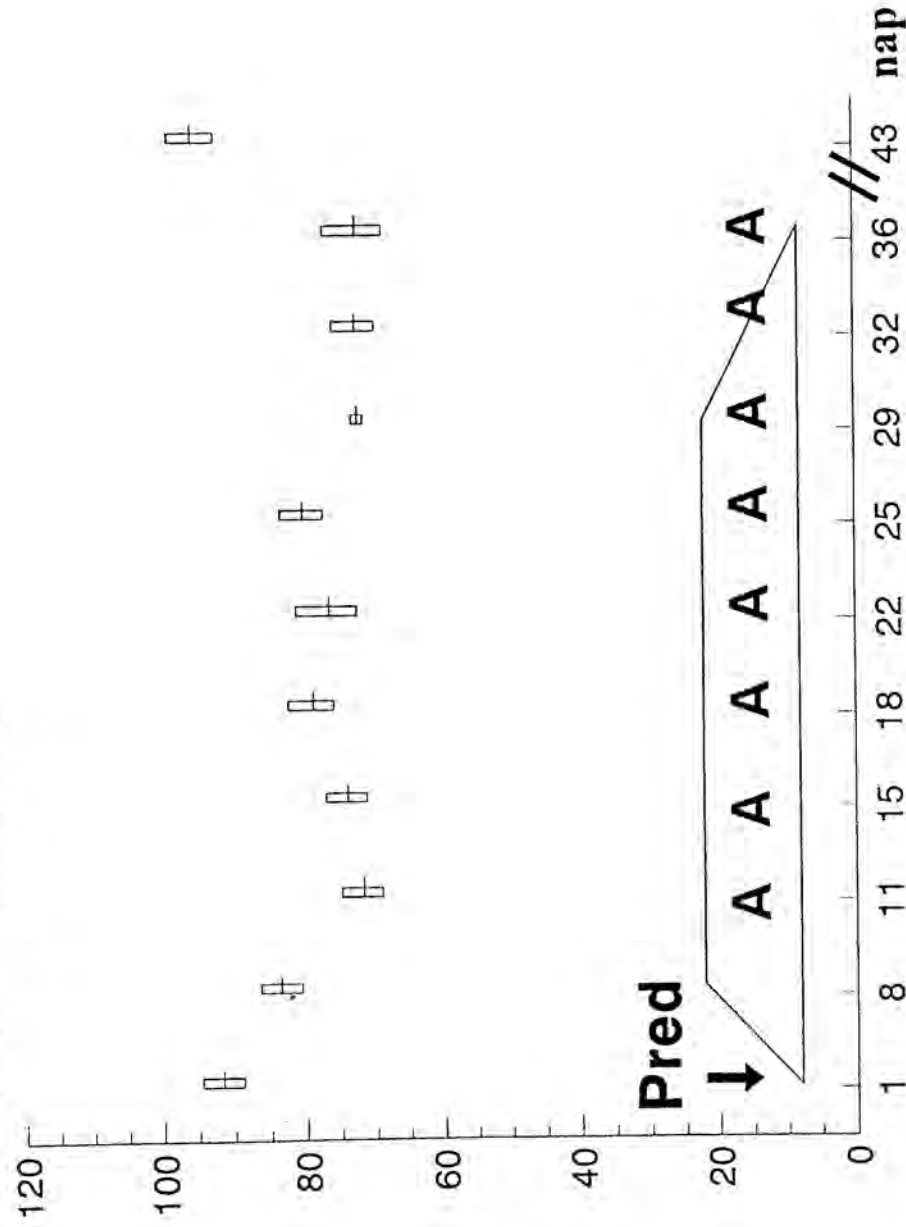
Az 1 hetes Prednisolon terápiát követően a prothrombin aktivitás fokozatosan csökken. Terápia: 8. nap: $85,3 \pm 2,6$ %, 11. nap: $73,9 \pm 3,2$ %, 15. nap: $76,4 \pm 4,4$ %, 18. nap: $80,8 \pm 3,2$ %, 22. nap: $76,3 \pm 4,2$ %, 25. nap: $81,9 \pm 1,0$ %, 29. nap: $71,4 \pm 1,4$ %, 32. nap: $71,5 \pm 4,1$ %, 36. nap: $72,1 \pm 4,6$ %.

A betegség kezdetén talált prothrombin aktivitáshoz ($92,7 \pm 3,6$ %) viszonyítva, az aktivitás csökkenése szignifikáns ($p < 0,01$) mindegyik időpontban. A vizsgálat 11.-36. napja közötti eltérések egymáshoz viszonyítva nem szignifikánsak.

A prothrombin aktivitás normalizálódása az inductios therápia befejezése után 1 héttel a 43. therápiás napon volt észlelhető ($100 \pm 6\%$) (6. ábra).

Prothrombin aktivitás normál értéke: 80-100 %.

Prothrombin aktivitás (%)



6. ábra

A prothrombin aktivitás változása
gyermekkori ALL induktios chemoterápiája során

3. A fibrinogén szint változása az inductios chemotherápia során

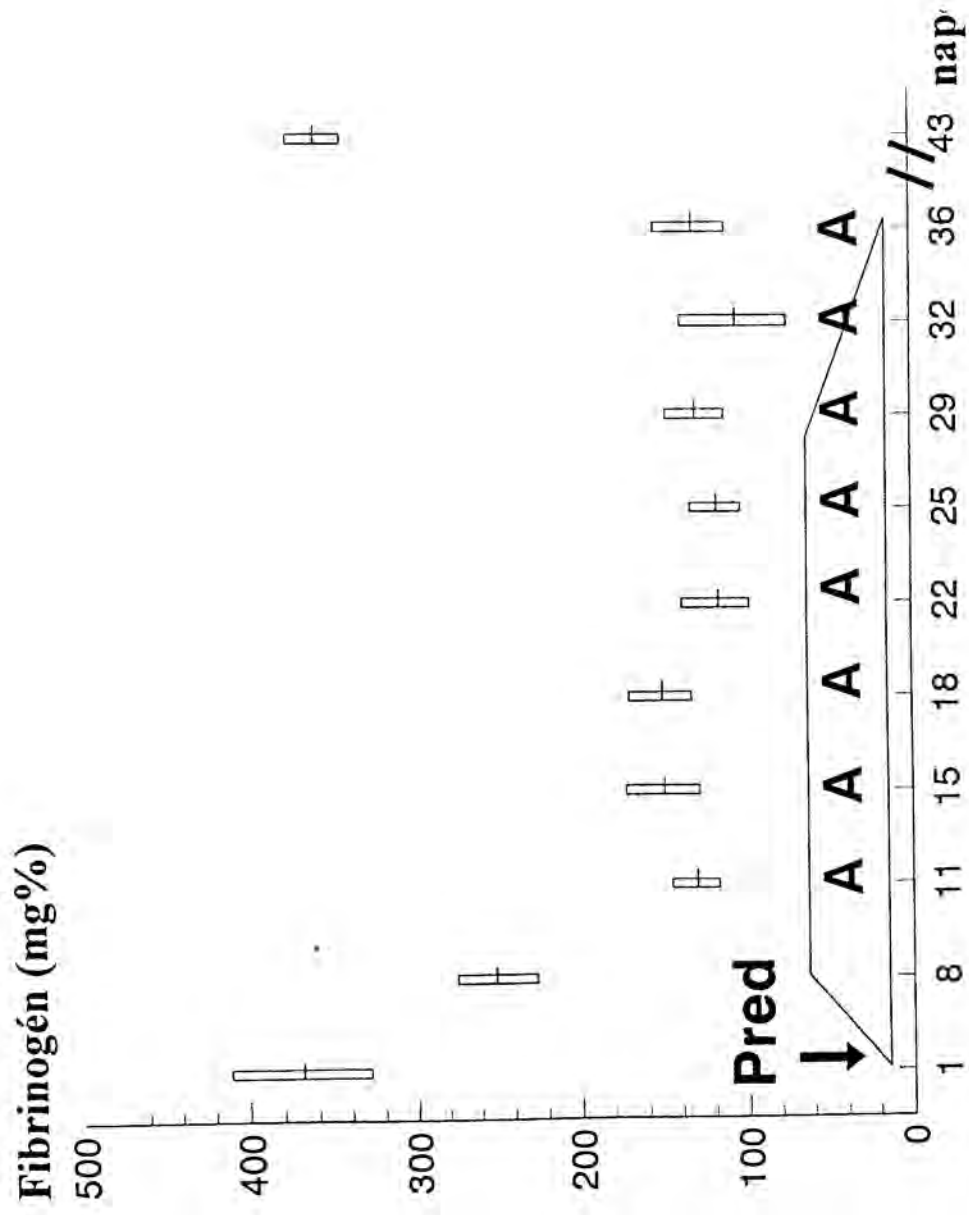
Míg a diagnosis időpontjában a kezeletlen ALL-s gyermekekben a fibrinogén szint normális volt ($362,7 \pm 3,7$ %), az 1 hetes Prednisolon therapia után, a 8. napon már a fibrinogén szignifikáns csökkenése következett be: $251,4 \pm 24,5$ %, $p < 0.001$ még a normál határon belül.

A chemotherápia további szakaszait vizsgálva ez a csökkenés tovább fokozódott, ill. végig 150 mg%-os érték körül stagnált.

További vizsgálatok: 11.nap: $138,8 \pm 19,4$ %, 15.nap: $150,7 \pm 21,7$ %, 18.nap: $150,6 \pm 19,4$ %, 22.nap: $130,7 \pm 17,5$ %, 25.nap: $134,3 \pm 16,7$ %, 29.nap: $138,7 \pm 20,4$ mg%, 32.nap: $110,5 \pm 30,1$ mg%, 36.nap:

$137 \pm 24,2$ mg%. A 11.-36.nap közötti fibrinogen szint a normálisnál lényegesen alacsonyabb szinten stagnált. 1 héttel az inductio után a fibrinogén szint ismét a normális tartományban volt $364 \pm 19,6$ % (7.ábra).

Fibrinogén normál értéke: $200-400$ mg%



7. ábra

A fibrinogén változása gyermekkori ALL indukciós chemotherapy során

4. A thrombin idő változása az inductios chemotherápia során

A kezeletlen ALL-s gyermekekben a thrombin idő nem különbözött az egészséges gyermekekben találtakhoz. A diagnosis időpontjában átlaga: $20,2 \pm 0,8$ sec volt. 1 hetes Prednisolon adást követően sem találtunk szignifikáns változást, a therapia 8. napján mért érték: $21,5 \pm 1,2$ sec. Ezt követően az inductios chemotherápia alatt a thrombin idő fokozatosan megnyúlt: a 11.nap: $25,8 \text{ sec} \pm 0,8 \text{ sec}$, 15.nap: $26,8 \pm 0,8 \text{ sec}$, 18.nap: $30,1 \pm 0,7 \text{ sec}$, 25.nap: $30,2 \pm 0,7 \text{ sec}$, 29.naptól: 64 gyermekben történt mérés alapján $32,7 \pm 2,1 \text{ sec}$, 32.nap: $33,8 \pm 2,1 \text{ sec}$, 36.nap: $32,2 \pm 3,4 \text{ sec}$. A therapia megkezdésekor mért értékek ($20,2 \pm 0,8 \text{ sec}$.) ill. a therapia 15. napján és ezt követően mért értékek szignifikánsan ($p < 0,01$) különböznek egymástól. Hasonlóan a fibrinogénhez, a thrombin idő is a therapia befejezése után 1 héttel tér vissza a normális tartományba ($18,6 \pm 0,9 \text{ sec}$.)

Thrombin idő normális értéke: 15-20 sec.

5. Az AT aktivitás változása az inductios chemotherápia során

Az AT változásait vizsgálva kezeletlen ALL-s gyermekekben és 1 hetes Prednisolon therápiát követően - az egészséges gyermekekhez viszonyítva - változást nem találtunk. Az inductios kezelés első két hetében kórjelző eltérést nem figyeltünk meg, az AT aktivitás a normális tartományban volt.

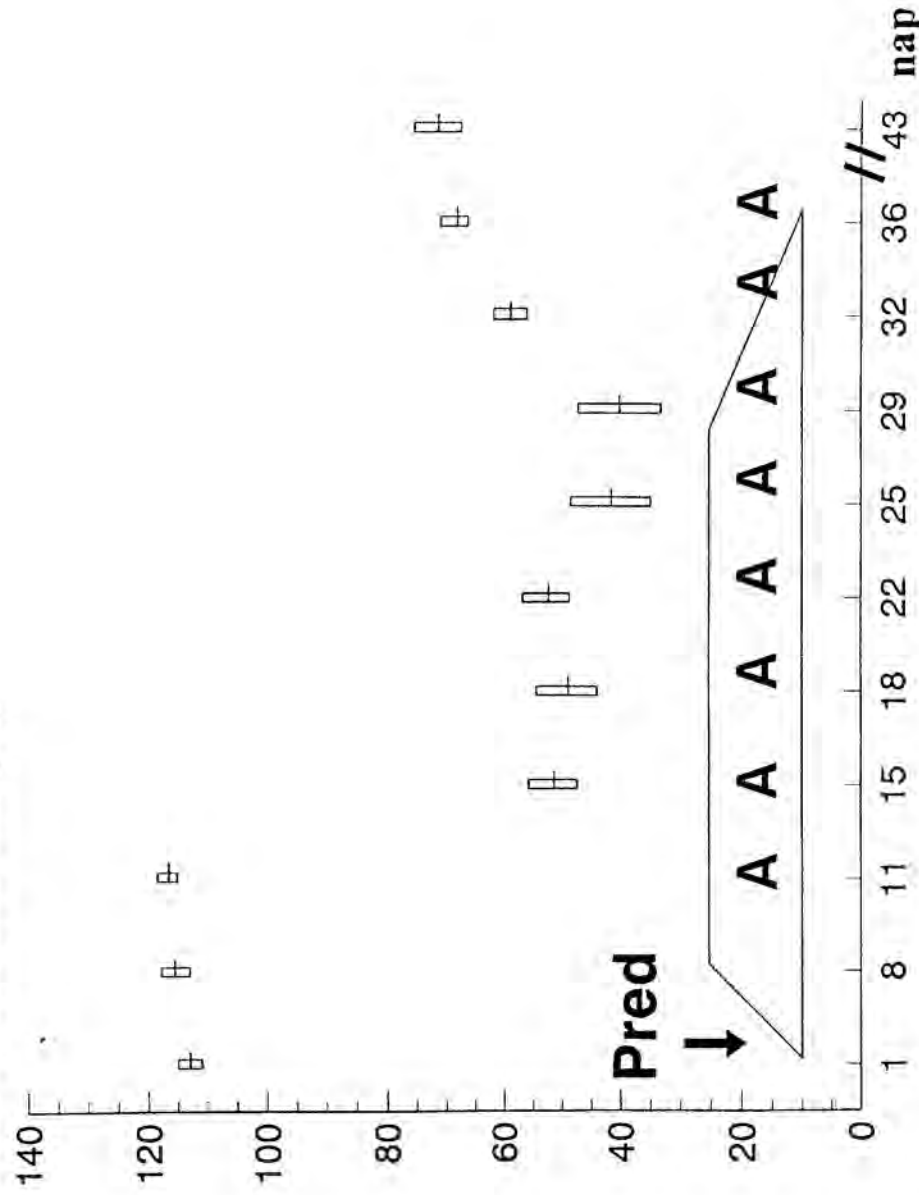
Az AT aktivitás kezeletlen gyermekekben $115,3 \pm 2,3 \%$, a therapia 8. napján $115,6 \pm 6,4 \%$, a 11 napon $116 \pm 5 \%$ volt.

Az L-asparaginase kezelés megkezdése után az inductios chemotherápia további részében VCR ill. DNR adása mellett, azonban az AT gyors és jelentős mértékű csökkenés következett be.

Az AT aktivitás a kezelés 15. napján $53,5 \pm 4,5$ %, a 18. napon: $50,1 \pm 5,2$ %, a 22. napon: $55,1 \pm 4,5$ %, a 25. napon: $43,1 \pm 6,1$ %, a 29. napon: $42,0 \pm 5,9$ %, a 32. napon: $61,8 \pm 2,7$ %, a 36. napon: $71,0 \pm 2,1$ % volt. Az induktio befejezése után 1 héttel mért érték: $76,1 \pm 5,4$ %. (8. ábra)

AT aktivitás normális értéke: 80-120 %.

Antithrombin aktivitás (%)



8. ábra

Az AT aktivitás változása gyermekkori ALL induktios chemotherápiája során

II.B. A gyermekkori ALL L-asparaginase terápiája során (BFM-ALL 88) észlelt haemostasis változások

Az inductios chemotherápia során alkalmazott L-asparaginase szerepét a véralvadási folyamatban bekövetkezett változásban csak részben lehet megítélni, miután a jelenleg használt terápiás protokollokban az L-asparaginase terapia további, haematologiai remissiot indukáló cytotostaticumokkal (VCR, DNR) egyidőben, vagy közel egyidőben történik.

Tekintettel arra, hogy a véralvadási folyamatokban bekövetkezett változást nemcsak a lymphoblastok eredményezhetik hanem az egyes cytotostaticumoknak a véralvadási fehérjék szintézisére gyakorolt gátló hatása is. Így fontos lehet az e szempontból különös jelentőséggel bíró L-asparaginase haemostasis hatásának a vizsgálata. A "Beteganyag, módszer" fejezetben már leírtak szerint a BFM - ALL-88 thrapiás protokoll anyiban különbözött a későbbiek során használt BFM ALL-90 protokolltól, hogy az inductios chemotherápia során az L-asparaginase később, csak az inductio 4. hete után került bevezetésre (4. ábra). az L-asparaginase kezelés így elnyújtottabb volt és a 21 napos időtartamban a gyermekek az L-asparaginase kezelés mellett más cytotostaticumok adásában nem részesültek.

Ilyenmód lehetőségünk nyílt az L-asparaginase kezelés "önálló" hatásának a vizsgálatára abban a 18 (7 leány, 11 fiú, átlag életkor 5,9 év) gyermekben, akik gyógykezelésüket e protokoll szerint kapták.

A véralvadási vizsgálatok eredményeit oszlop diagramm szemlélteti. A vizszintes részen a haemostasis vizsgálatok időpontja van feltüntetve. A "therápia előtt" megjelölés a 18 ALL-s gyermek chemotherápiájának megkezdése előtti, a diagnosis időpontjában mért értékeket representálja.

Az "L-asparaginase kezelés alatti" értéket a 3 hetes intervallumban, hetente 2 alkalommal - az i.v. adott cytostaticum előtt mért véralvadási paramétereket jelzik. Az L-asparaginase terapia után 7 ill. 14 nappal végzett méréseinkkel arra kívántunk választ kapni, hogy időtartamát illetően mikorra várható a megfigyelt haemostasis zavar megszűnte.

1. A prothrombin aktivitás változása L-asparaginase kezelés során

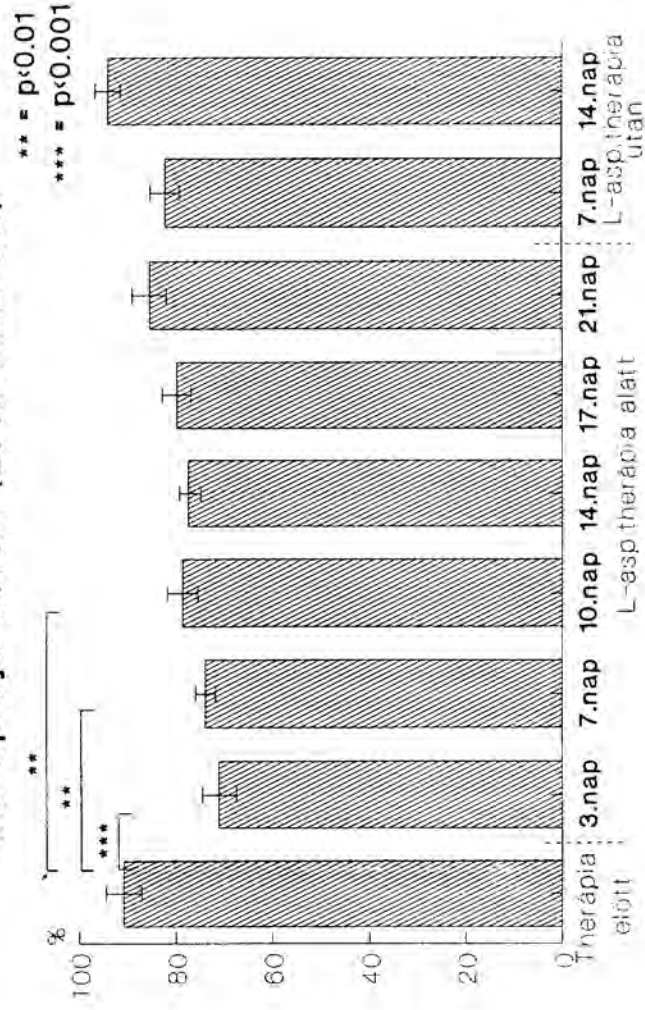
A chemotherapy megkezdése előtti értékhez viszonyítva az L-asparaginase adás megkezdésekor a prothrombin aktivitást már csökkentnek találtuk: $90,9 \pm 3,7$ vs. $71,0 \pm 3,5$ %, $p < 0,001$.

Az L-asparaginase terapia során a prothrombin aktivitás további csökkenését nem találtuk. Megjegyezzük: az aktivitás csökkenés csak matematikailag minősül csökkenésnek, ez minden esetben a normális prothrombin aktivitás alsó (80%) határát jelenti.

Prothrombin aktivitás: L-asparaginase 3. nap: $71,0 \pm 3,5$ %, 7. nap: $73,8 \pm 2,1$ %, 10. nap: $78,7 \pm 3,2$ %, 14. nap: $77,4 \pm 2,5$ %, 17. nap: $79,9 \pm 3,0$ %, 21. nap: $88,5 \pm 2,5$ %.

Az L-asparaginase terapia befejezése után 7. ill. 14 nappal a prothrombin aktivitás a normális tartományba esett. ($82,3 \pm 3,0$ %, ill. $95,2 \pm 3,2$ %). (9 ábra)

A prothrombin activitás változása gyermekkori ALL L-asparaginase therápiája során (BFM-ALL-88)



9. ábra

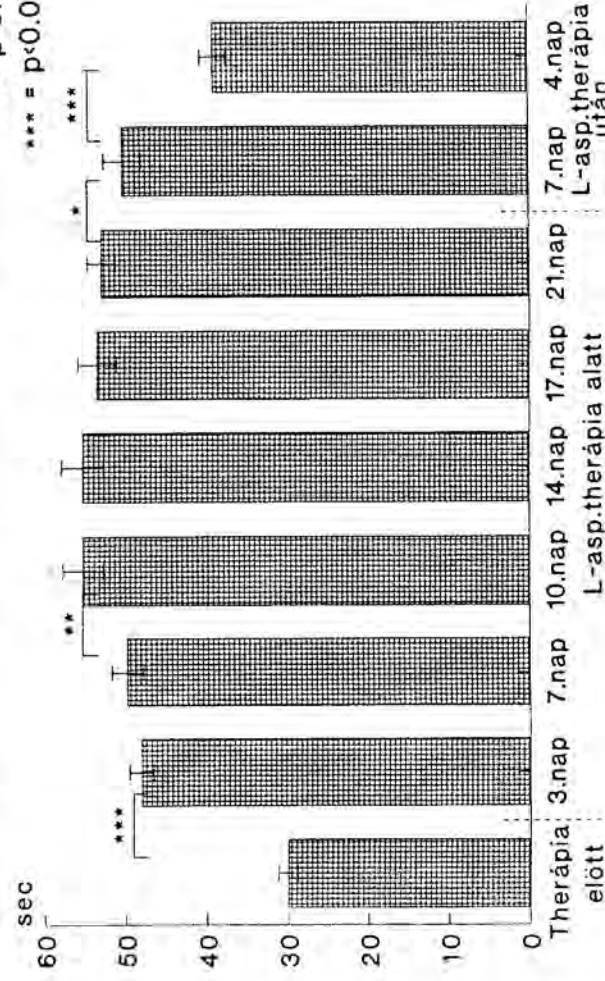
2. Az aPTI változása L-asparaginase kezelés során

Az ALL diagnosísának felállításakor az aPTI közel a normális tartományban volt ($30,0 \pm 1,2$ sec). Az L-asparaginase adás megkezdésekor viszont már szignifikánsan megnövekedett aPTI-t találtunk, $48,1 \pm 1,5$ %, mely a további L-asparaginase kezelések hatására fokozódott: L-asparaginase kezelés 7.nap: $49,8 \pm 2$ sec, 10.nap: $55,3 \pm 2,5$ sec, 14. nap: $55,3 \pm 2,6$ sec, 17.nap: $53,5 \pm 2,4$ sec, 21.nap: $53,0 \pm 1,7$ sec.

A kórosan megnövekedett aPTI az L-asparaginase elhagyása után 2 héttel tért vissza a normális tartományba. L-asparaginase elhagyása után 7 nappal: $50,8 \pm 1,7$ sec, 14.nappal $38,7 \pm 2$ sec. (10.ábra)

Az aPTI változása gyermekkori ALL L-asparaginase terápiája során (BFM-ALL-88)

* = $p < 0,05$
** = $p < 0,01$
*** = $p < 0,001$



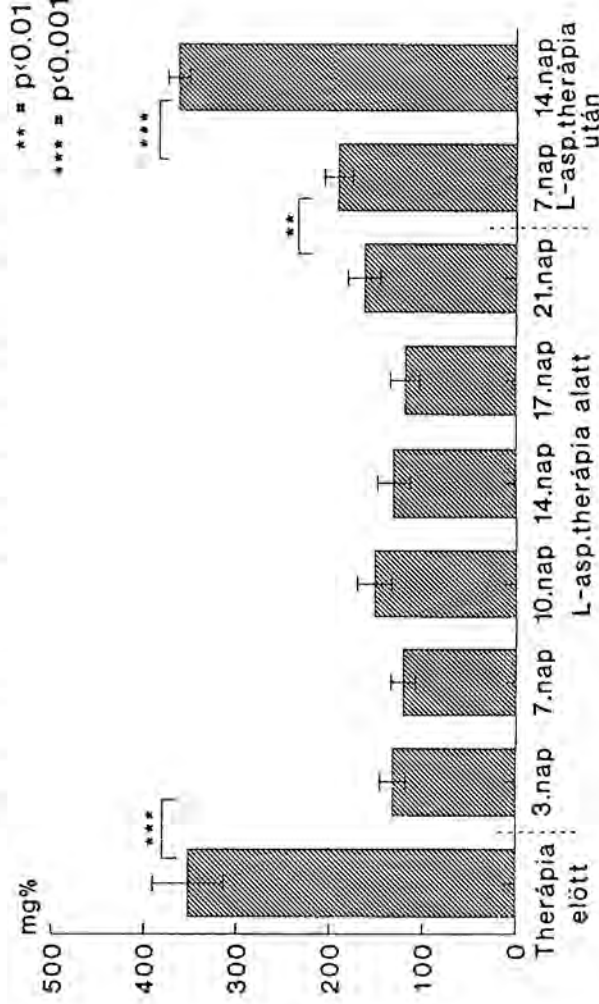
10. ábra

3. A fibrinogén szint változása L-asparaginase kezelés során

A kezeletlen ALL-s gyermekek normális tartományban lévő fibrinogén szintjéhez viszonyítva az első L-asparaginase adásakor már szignifikánsan alacsonyabb fibrinogén értéket találtunk ($351,7 \pm 38,6$ mg%, vs: $131,9 \pm 14$ mg%, $p < 0,01$). Az L-asparaginase kezelések alatt a fibrinogén szint tartósan a normális érték alsó határa alatt maradt. Fibrinogén szint az L-asparaginase kezelés 7. napján: $120,7 \pm 13,2$ mg%, 10. napján: $152,3 \pm 18,8$ mg%, 14. napján: $130,9 \pm 17,5$ mg%, 17. napján: $119,0 \pm 15,4$ mg%, 21. napján: $163,8 \pm 17,9$ mg%.

Az L-asparaginase kezelés befejezése után 7 nappal a fibrinogén szint mindig alacsony volt, $190,8 \pm 15$ mg%, és csupán 14 nappal a cytostaticum elhagyása után tért vissza normális tartományba, $359,7 \pm 16$ mg%. (11. ábra)

A fibrinogén szint változása gyermekkori ALL L-asparaginase terápiája során (BFM-ALL-88)



11. ábra

4. Az antithrombin aktivitás változása L-asparaginase kezelés során

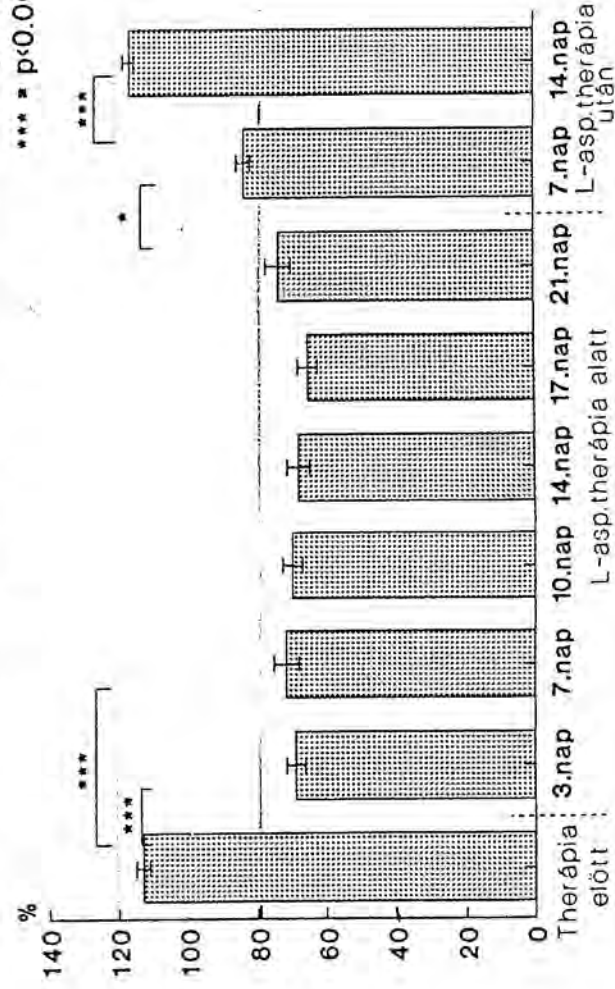
Az L-asparaginase terápia alatt az AT aktivitás tartós csökkenését észleltük. Míg kezeletlen leukaemiás gyermekekben az AT normális volt, addig mind az L-asparaginase kezelés megkezdésekor, mind az alatt végig a normálisnál szignifikánsan alacsonyabb értékeket találtunk.

A terápia megkezdése előtt: AT: $113,0 \pm 2$ %, az L-asparaginase adás 3. napján: $68,8 \pm 2,7$ %, 7. napján: $71,6 \pm 3,7$ %, 10. napján: $69,7 \pm 2,9$ %, 14. napján: $66,0 \pm 3,2$ %, 17. napján: $65,2 \pm 3,7$ %, 21. napján: $73,5 \pm 3,7$ %.

A terápia elhagyása után 7 nappal: AT $81,5 \pm 5,2$ % és 14 nappal az AT normális $116,4 \pm 1,4$ %. (12. ábra)

Az AT aktivitás változása gyermekkori ALL L-asparaginase terápiaja során (BFM-ALL-88)

** = $p < 0,05$
*** = $p < 0,001$



12. ábra

5. A thrombin idő változása L-asparaginase kezelés során

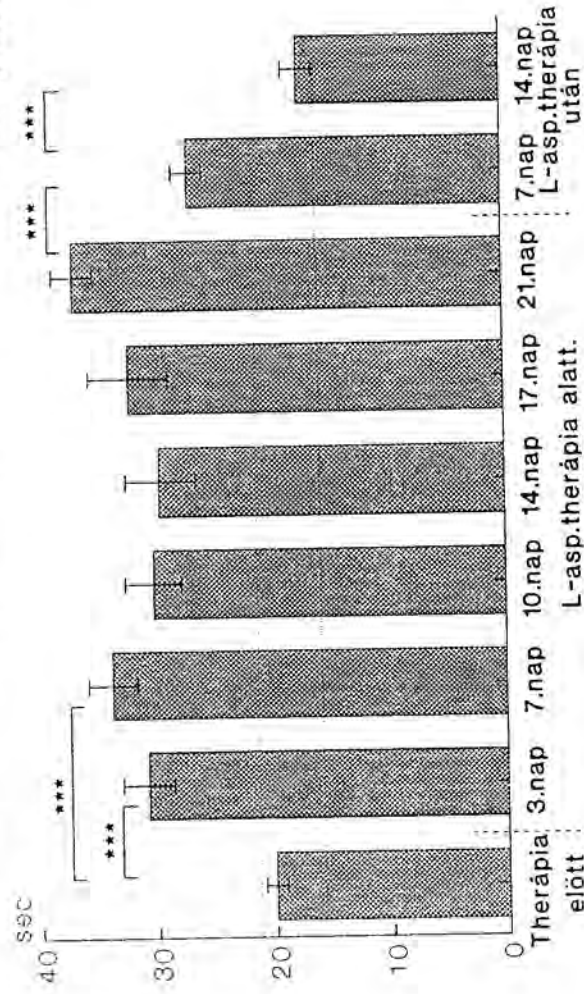
A kezeletlen leukaemiás gyermekekben észlelt, kóros eltérést nem mutató thrombin idő az L-asparaginase kezelése alatt signifikáns megnyúlást mutatott és csak a kezelés megszűnte után két héttel tért vissza a normális tartományba.

Thrombin idő: kezeletlen ALL gyermekekben $20,0 \pm 0,9$ sec, az L-asparaginase terapia 3. napján: $30,8 \pm 2,2$ sec ($p < 0,001$). a terapia 7. napján: $33,8 \pm 2,1$ sec, 10. napján: $30,2 \pm 2,4$ sec, 14. napján: $29,6 \pm 2,9$ sec, 17. napján: $32,2 \pm 3,4$ sec, 21. napján: $36,9 \pm 1,8$ sec.

A cytostaticum elhagyása után 7 nappal: $26,9 \pm 1,3$ sec, 14. nappal: $17,4$ sec. (13. ábra).

A thrombin idő változása gyermekkori ALL L-asparaginase kezelése során (BFM-ALL-88)

*** = $p < 0,001$



13. ábra

III. Haemostasis-zavar okozta thrombo-embóliás és vérzéses szövődmények

klinikai megfigyelések 1988-1997 között

A haemostasis- zavar következtében fellépő tromboticus és/vagy vérzéses szövődmények predilectios helye a központi idegrendszer.

A szövődmények kialakulása már az inductios chemotherápia korai szakaszában várható. Acut leukaemiás betegekben is az inductios chemotherápia harmadik-negyedik hete között észleltük felléptüket.

A 10 éves követéses periódusban a vizsgált 67 gyermek közül 10 esetben alakult ki klinikai tüneteket is okozó thrombo-embóliás komplikáció.

A 10 eset közül egy betegben alsóvégtagi thrombosis, további egy esetben pulmonális embolisatio és vérzés lépett fel.

Nyolc esetben a központi idegrendszerben észleltünk különböző súlyosságú vérzést, ill. thrombosit, mely két esetben fatális kimenetelű volt. Egy betegünkben központi idegrendszeri thrombosis okozta progresszív agyi atrophia következményeit észleltük a mentális teljesítőképesség romlásával és secunder epilepsziával.

A további öt betegben a kóros neurológiai tünetek teljes regressioja következett be, durva maradványtünetek nélkül.

Bár a leukaemiás gyermekekben fellépő bőr- és nyálkahártyavérzések jelentős része a thrombocytopeniára vezethető vissza, azonban kialakulásukban - különösen a betegség korai szakaszában - számolni kell a sokszor szubklinikailag zajló DIC oki szerepével is.

Gyakran a DIC, ill. thrombocytopenia okozta vérzések megtekintéssel nem különíthetők el és a vérzés valódi okának a tisztázása csakis a véralvadási vizsgálatok elvégzésétől várható.

PhD értekezésem ezen fejezetében a haemostasis-zavar következtében fellépő legjellegzetesebb szövődeményeket ismertetem, az érintett gyermekek kórtörténetéből, azon fontos részletek kiemelésével, melyek alátámasztják a rendszeres haemostasis vizsgálatok végzésének fontosságát az inductios chemotherápia során.

1. Köztudottan a haemostasis-zavar okozta vérzések, és thromboemboliák számos daganatos betegségben előfordulhatnak, kialakulásuk mégis leggyakrabban a leukaemiás és lymphomás betegségekben várhatók.

Nem ritka, hogy magának a haematologiai kórképnek a kezdeti tünete éppen a központi idegrendszeri thrombosis, vagy vérzés.

B.L. 15 éves fiút a Nagyatádi Kórházban két hétig tartó magas láz (39-40°C), görcsös hasi fájdalmak, étvágytalanság, fogyás, cervicalis lymphadenopathia, hepatosplenomegalia miatt vizsgálták. Betegségét mononucleosis infectiosának tartották. Néhány napos kezelés után testszerte bőrvérzések (haematoma, suffusio, petechia), szájnyálkahártya ulcerációk jelentek meg. A beteg látásromlásról panaszkodott, majd hirtelen grand mal típusú convulsiók léptek fel jobb oldali túlsúllyal. Eszméletét elveszítette, comatosus állapotban került felvételre.

A klinikai felvételi statust a comatosus tudatállapot, anisocoria, jobb oldali alsó- és felsővégtagi haemiparesis, fokozott mélyreflexek és pozitív piramisjelek jellemezték.

A laboratoriumi vizsgálatok gyorsult vvt süllyedést, leukocytosist (fvs: 43.000/ul) thrombocytopeniát (thr: 17.000/ul), megnyúlt vérzési és alvadási időt (20 percen túli) mutattak.

A haemostasis vizsgálata DIC fennállására utalt:

prothrombin aktivitás: 26 %

aPTI: 89 sec (ko: 35 sec)

fibrinogén: 120 mg% (n: 200-400 mg)

thrombin idő: 35 sec (ko: 15 sec)

AT aktivitás: 39 %

D-dimer: pozitív (+++, $\geq 2,0 < 4,0$ ug/ml)

A súlyos neurológiai tünetek miatt acut koponya CT vizsgálat történt. bal oldalon az arteria cerebri media és posterior ellátási területén nagykiterjedésű hypodensitás, valamint a bal oldalkamra hátsó szarva mellett 3x1 cm-es állományi vérzés látszott.

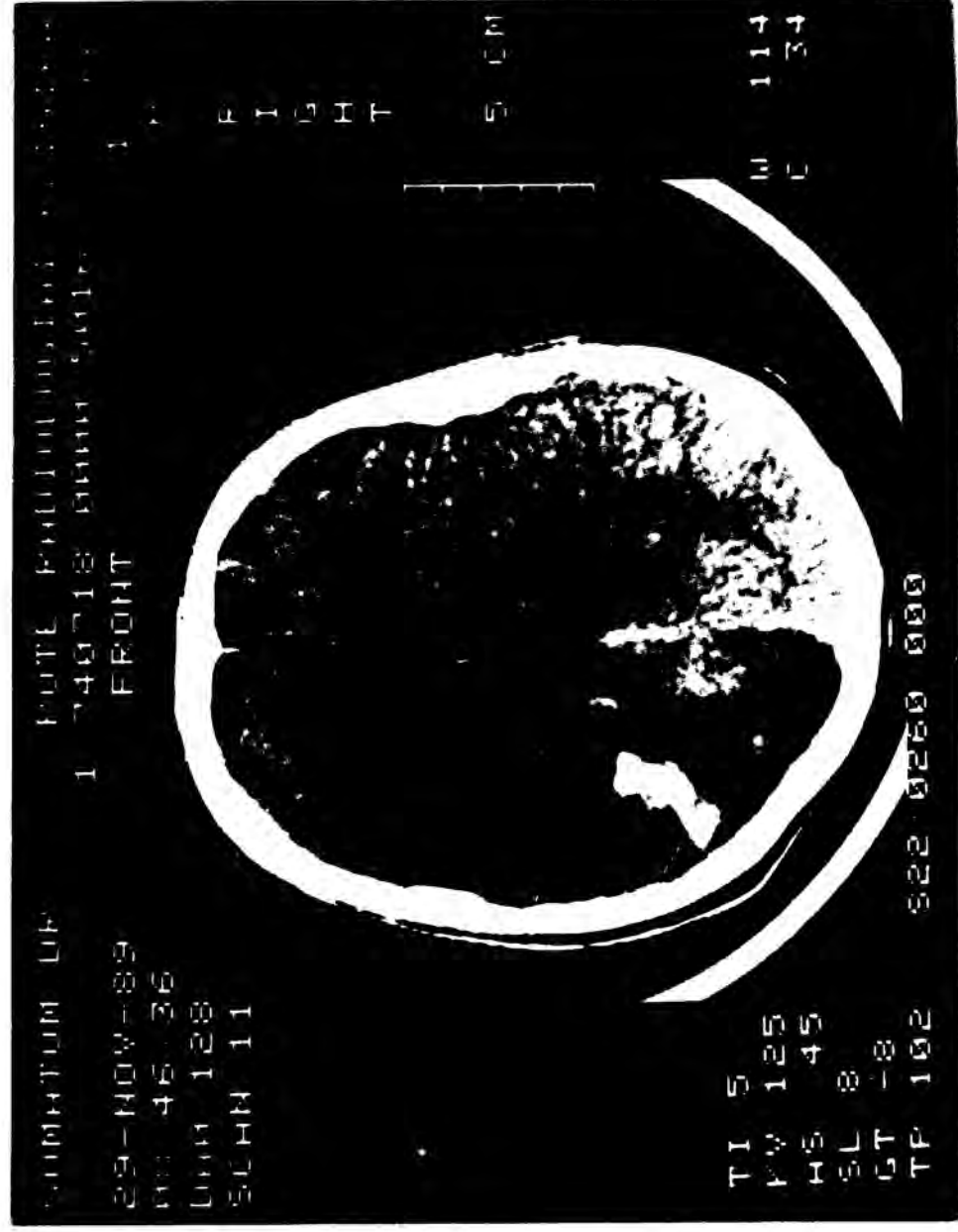
A csontvelő vizsgálata az AML FAB M2 fennálltát igazolta.

A beteg állapotát a DIC tünetei és a halmozott convulsiók jellemezték.

Therápia: friss fagyasztott plasma, thrombocyta transfusio, Prothromplex complex koncentrátum, mely a beteg állapotát nem befolyásolta. Cytostaticus kezelésre nem került sor, mert a felvételeit követő második napon exitus lépett fel.

Kórbonctani diagnosis:

- a.carotis interna thrombosis
- thromboembolia a.cerebri mediae
- encephalomalacia hemispherii sinistri cerebri
- infarctus anaemicus lienis et renis
- pulmorrhagia loborum inferiorum
- infiltratio leukaemica medullae osseum, lienis et hepatis purpura cutis et suffusiones peri-et myocardii



14. ábra

B.L. (1974.07.18.) Koponya CT vizsgálata 1989.11.29.

Kiterjedt encephalomalacia, bal oldalon az a.cerebri media és a.cerebri posterior ellátási területein, 3x1 cm-es állományi vérzéssel a bal oldalkamra hátsó szarva mellett.

2. A központi idegrendszeri vérzések kialakulásában szerepe van a nagymennyiségű, keringő leukaemiás sejtömegnek, a hyperleucocytosisnak. A hyperleucocytosis a vérviszkózitás fokozása és a leukostasis révén vezet gyakran fatális kimenetelű szövődményekhez.

Az óriási blasttömegből felszabaduló procoagulánsok az intravascularis coagulopathia és az agyi erek proliferatioja révén fokozzák a központi idegrendszeri vérzés veszélyét. (41)

K.Sz. 12 éves fiú 2-3 hétig tartó fejfájás, fáradékonyság, étvágytalanság miatt került vizsgálatra. A laboratoriumi vizsgálatok mérsékelt anaemiát, thrombocytopeniát (thr: 35.000) és extrem fokú leucocytosist (fvs: 286.000/ul) mutattak. Perifériás kenetében 90 %-ban lymphoblastok voltak láthatók. A csontvelővizsgálat T-sejtes ALL fennállását igazolta. Gyógykezelése a BFM-ALL- 90 protokoll inductios chemotherápiája szerint kezdődött. 1 hetes p.os Prednisolon therápiára "slow responder" volt, leukocytaszáma a therápia 8. napján még mindig 70.000/ul, melynek 90 %-a lymphoblast. Az inductio 3. hetében, a 5. L-asparaginase adást követően halmozott convulsiókkal járó jobb oldali hemiparesis lépett fel, melynek a háttérében a koponya CT vizsgálat a bal agyfélteke kiterjedt állományi vérzését igazolta. (15.ábra).

Véralvadási vizsgálateink csökkent prothrombin aktivitást (20 %), megnyúlt aPTI-t (aPTI: 67 sec, ko: 36 sec), alacsony fibrinogén szintet: 100 mg% és az antithrombin aktivitás csökkenését (35 %) jelezték.

A központi idegrendszeri vérzést és a neurologicali tüneteket részben a kezdeti hyperleukocytosis, részben az L-asparaginase okozta haemostasis zavar következményének tartottuk.

Ismételt FFP, thrombocyta- és vértransfusio eredménytelen volt. Az inductios chemotherápiára haematologiai remissio nem következett

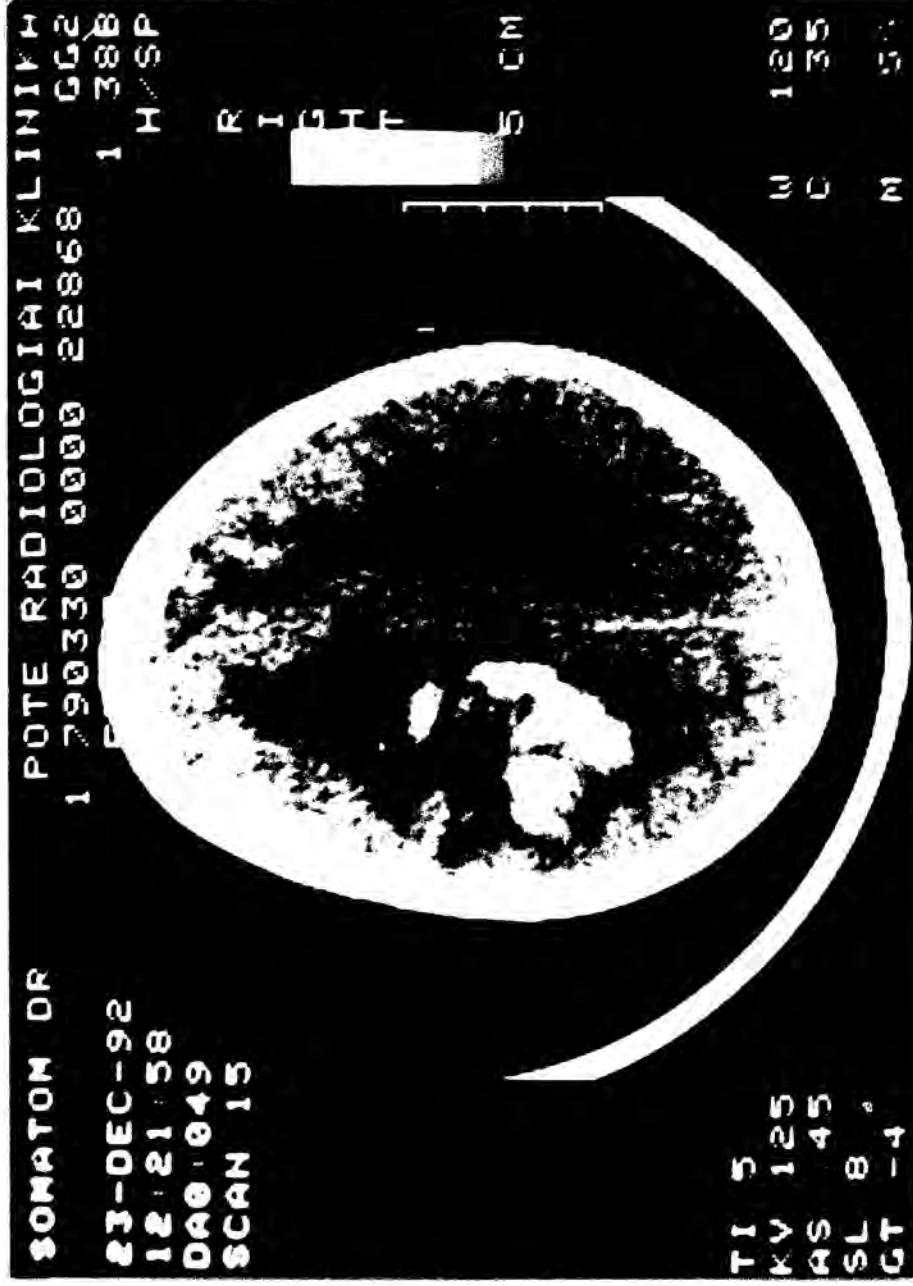
be. Gyógykezelésének további szakaszát is a vérzékenység jellemezte, melyhez később infectious jelek társultak.

A beteg cardio-pulmonalis elégtelenségben exitált, de a klinikai képet mindvégig a súlyos központi idegrendszeri károsodás uralta.

Kórbonctani diagnosis:

- Haemorrhagia multiplex cerebri
- Thrombosis partialis ad arteria pulmonum l.u.
- Suffusiones et petechyae cutis

A halál oka: roncsoló agyállományi vérzés.(16.17.ábra)



15. ábra

K.Sz. (79.03.30.) Koponya CT vizsgálat 1992.12.23.

Nagykiterjedésű, roncsoló állományi vérzés a bal oldalon



16. ábra

K.Sz. (79.03.30.) Kórbonctani lelet

Az agyállományban bal oldalon a felszín alatt, a frontális lebenyben pontszerű petechyák látszanak, amelyek diónyi terület a parietális lebeny fele haladva összefolyóvá válnak. A parietális és occipitalis lebenyben összességében gyermekökönnyi vérzés látszik. Jobb oldalon a frontális és parietális lebenyekben egy szabálytalan alakú állományi vérzés látszik.



17. ábra

K.Sz. (79.03.30.) Kórbonctani lelet
Masszív capsula internába törő vérzés.

3. A gyermekkori acut lymphoid leukaemiában alkalmazott cytosztatikumok között megkülönböztetett jelentőségű az L-asparaginase. Alkalmazása mellett csökken az antithrombin, melynek következménye a fokozott thrombosis hajlam.

F.A. 10 éves leány fél éve tartó fáradékonyág, étvágytalanság, 10 kg-os fogyás és visszatérő lázak miatt került vizsgálatra. Perifériás kenetében 78 %-ban közel homogén blastsejtes infiltratio látszott.

Diagnosis: acut lymphoid lukaemia FAB L-1

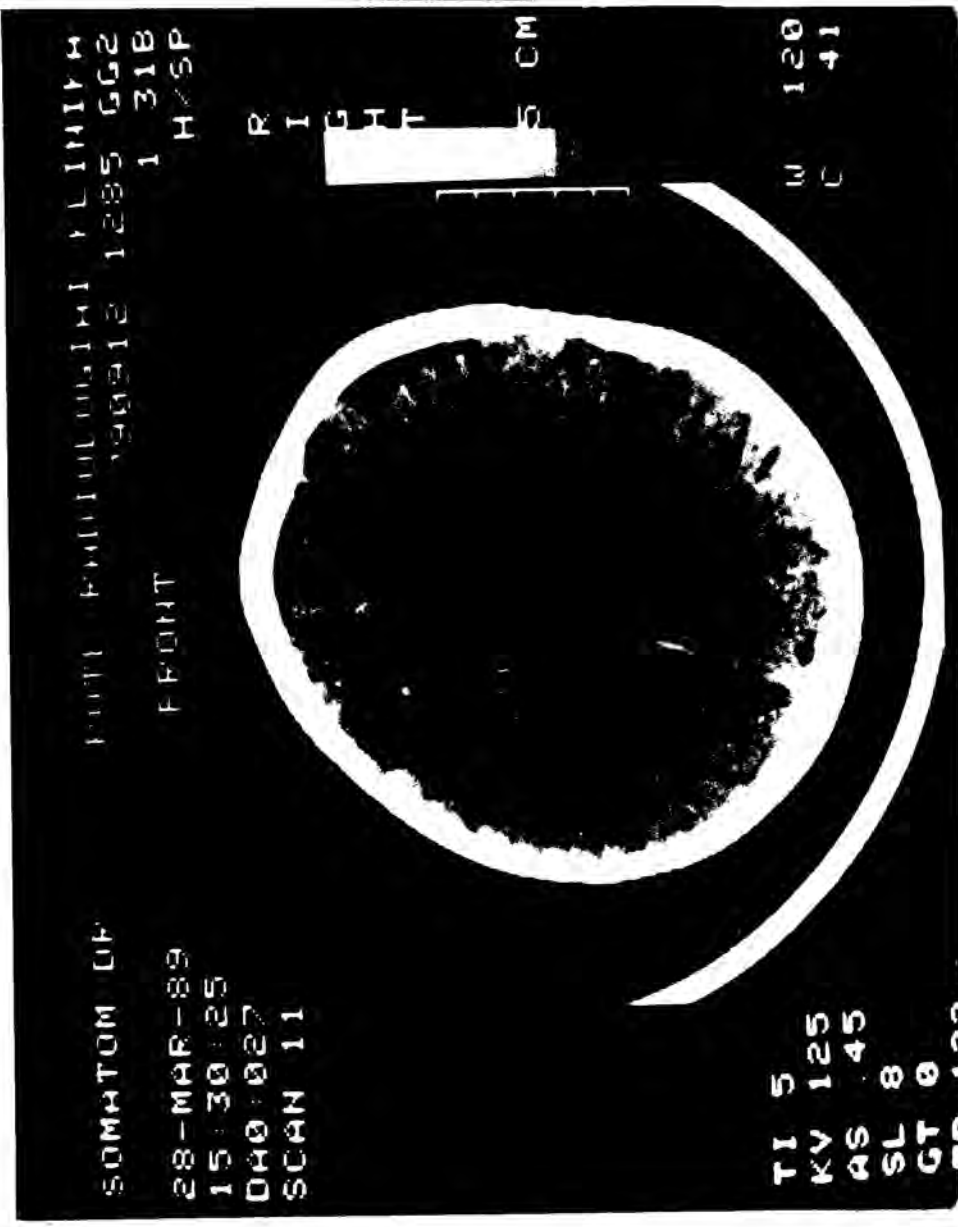
Az induktios cheomotherápia 4. hetében a 6. L-asparaginase adás után fejfájás, aluszékonyág, látászavar majd jobb oldali túlsúlyal clonusos görcsök jelentkeztek. Jobb oldalon faciális parésis, jobb oldali haemiparesis, ill. motoros aphasia alakult ki. A neurological tünetek háttérében meningeális infiltratio, központi idegrendszeri gyulladás nem állt. Koponya CT vizsgálata kórjelző nélküli volt (koponya MR vizsgálatra a tünetek kialakulásának idején nem volt mód). (18. ábra)

Véralvadási vizsgálattal az antithrombin igen jelentősen csökkent (30 %). Thrombocytaszám: 112.000/ul

Feltételezett diagnosis: Antithrombin csökkenés okozta bal féltelkei thromboembolia, mely az L-asparaginase kezelés következménye.

Indirekt módon ezt támogatta a későbbi koponya CT vizsgálatok során nyilvánvalóvá váló bal oldali agyi atrophia, ill. az a.cerebri media ellátási területének megfelelően észlelhető malacia. (19. ábra)
A acut központi idegrendszeri tünetek az első észleléstől számított 72 órán belül fokozatosan megszűntek.

Görccstevékenysége azonban 1/2 éves latencia után visszatért és halmozottan jelentkezett. Az EEG vizsgálat convulsiv encephalopathia és diffus kérgi laesio jeleit mutatta. A symptomás, secunder epilepsia miatt azóta is tartós naticonulsiv kezelést (Tegretol CR) igényel, mentális teljesítőképessége, verbális kifejezőkészsége csökkent.



18. ábra

F.A. (79.09.12.) koponya CT vizsgálat 1989.03.28.

Normál tágasságú kamrarendszer

SUMMITUM UF

POTE RHIOLOGIHI KLIN

2 790912 12855172

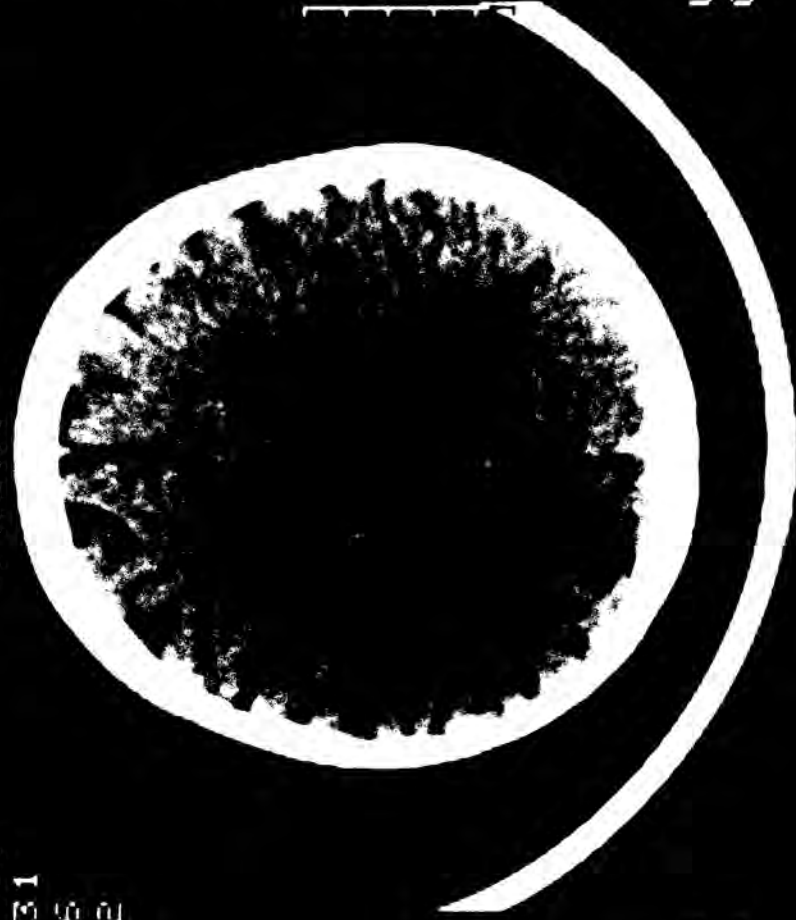
07-DEC-89

FRONT

16 31

UM 126

SCHN 12

TI 5
PW 125
HS 45
SL 8
GT 13

W C

I H
R I G H T
S

19. ábra

F.A. (79.09.12.) Koponya CT vizsgálata 1989.12.07.

Progresszív bal oldali agyi atrophia, az a.cerebri media területének megfelelően 1 cm-es hypodens területtel (malacia)

Sz.R. 8 éves leánynál persistáló jobb oldali inguinalis és bal oldali cervicalis lymphadenopathia, és a perifériás vérkenetben észlelt lymphocytosis (90 %) miatt történt a csontvelő vizsgálat.

Klinikai diagnosis: Acut lymphoid leukaemia FAB L-2

Gyógykezelése a BFM ALL-90 protokoll inductios chomotherápia első három hetéig zavartalan. A 4. L-asparaginase adását követően azonban epés hányás, hasi és vesetáji fájdalom, micro- majd macroscopos haematuria jelentkezett. Veseműködése fokozatosan romlott, oliguriássá vált. Dopamin és Furosemid adást követően veseműködése fokozatosan javult, diuresise normalizálódott.

Már jó veseműködés mellett hirtelen a jobb szem látása romlott, majd tudata zavarttá vált. A tudatzavar okaként gyulladás, az alapbetegség okozta meningeális infiltratio kizárható volt. A tudatzavar miatt végzett koponya CT vizsgálat kezdetben kórosat nem jelzett, később mérsékelt agyi atrophia fennállására utalt. (20. ábra)

Véralvadási vizsgálata szerint az aPTI megrövidült (20,9 sec ko: 37 sec). AT csökkent (41 %), F1+2: 3,09 nM/l. Thrombocytaszám: 98.000/ul.

FFP és ismételt Biseko adás mellett neurologiai tünetei nem progrediáltak. Állapota 1 héten belül stabilizálódott.

Koponya CT vizsgálattal nyomonkövetve agyi atrophiaja stagnál.

Jelenleg gimnazista, jeles tanuló. Központi idegrendszeri tüneteit AT csökkenés okozta agyi embolizatioval magyaráztuk, mely az L-asparaginase therápia következménye.

SOMATOM DR

POTE RÁDIOLÓGIAI KLINIKA
780528 2444 926304-OCT-90
07:56:42
DA0:010
SCAN 10

FRONT

1 33E
H/SP

R I G H T

S C A N

TI 5
TV 125
HS 45
SL 8
GT 5
TF 113 FILE 02L4 100W 120
C 35

20. ábra

Sz.R. (78.05.28.) koponya CT vizsgálata 1990. 10.04.

Tágultabb liquorterek, mérsékelt agyi atrophia

4. Thrombocytopenia vagy coagulopathia okozta vérzés?

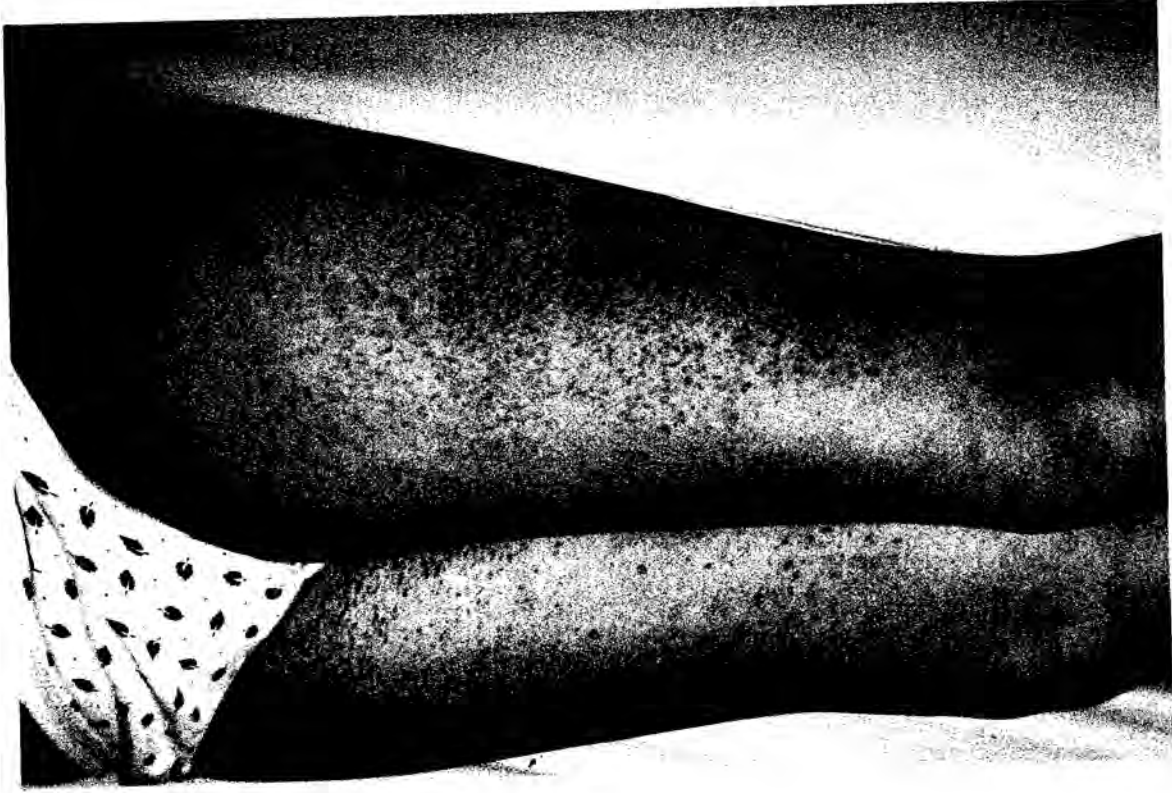
S.L. 7 éves kisfiú. Klinikai felvétele előtt néhány nappal fokozódó homloktáji- és szemkörüli vérzések jelentek meg. Később hátán, hasán, könyökhajlataiban pontszerű beverzések alakultak ki, melyek helyenként összefolytak (21. ábra). Nyakán apró nyirokcsomókat lehetett tapintani, mája, lépe köldöig ért. Csontvelő vizsgálat: Acut lymphoid leukaemia FAB L-2. Első megtekintésre a bőrvérzés thrombocytopeniás eredetűnek tűnt, de a haemostasis vizsgálata DIC fennállása mellett szólt: prothrombin aktivitás 40 %, aPTT: 60 sec (ko: 35 sec), fibrinogén: 50 mg%, AT: 34 %. Thrombocytaszám: 76 000/ul. F1+2: 2,6 nM//l. Hasonló jellegű bőrvérzéseket észleltünk további két leukaemiás leányban a betegség kezdetén, az inductios chemotherápia megkezdése előtt, és egy leukaemiás fiúban a therapia 2. hetében (22.,23.,24. ábra)



21. ábra

S.L. (87.09.14.)

DIC okozta bőrvérzések az arcon, szem körül, mellkason az ALL
diagnosztizálásakor (1994. február)



22. ábra

N.K. (82.08.28.)

Generalizált bőrvérzések DIC talaján a diagnosis időpontjába
(1994. október)



23. ábra

V.J. (93.08.23.)

DIC okozta bőrvérzések az inductios chemotherapy első
hetében (1998. január)



24. ábra

CS.N. (77.05.17.)

Bőrvérzések DIC következtében az inductios chemotherapy második hetében (1992. április)

Megjegyzés:

A fényképek elkészítése az arckarakter takarása nélkül a gyermekek szüleinek a hozzájárulásával történt, a bőrvérzések jellegzetességeinek a szemléltetésére

IV. Örökletes tényezők szerepe a gyermekkori acut lymphoid leukaemia kezdeti szakában észlelt haemostasis zavarokban

A gyermekkori daganatos megbetegedések és a genetikai tényezők közötti kapcsolat vizsgálata napjainkban az érdeklődés előterében áll. Kétségtelen, hogy a malignitásra való hajlam tisztázásában a döntő felismerések a molekuláris genetikai kutatásoktól várhatók, de különösen a gyermekkori leukaemiákban jelentős lehet a rosszindulatú folyamatokhoz társult familiáris betegségek, szokatlan állapotok vizsgálata is. (80). Így saját anyagunkban is fény derült egyes kis fejlődési anomáliák (127) és a csontrendszer variánsainak (133) családi halmozódására. Ez közvetve a leukaemia praenatalis eredetére és a hajlam recesszív vagy polygénis öröklődésére utalhat. Az is ismert, hogy a gyermekkorban fellelhető véralvadási zavarok egy részének a hátterében is nyilvánvaló az örökletes tényezők kórosi szerepe.

Ezek többsége autosomalis domináns öröklődésű (familialis AT-hiány, Protein C, Protein S hiány). Más részük, mint pl. a haemophilíák, X-kromoszómához kötött génektől függenek.

Acut lymphoid leukaemiában megbetegedett gyermek haemostasis vizsgálata során azt találtuk, hogy a betegség lefolyása során, ill. a chemotherapy egyes fázisaiban más- és másmirányú eltérések jelenhetnek meg. A betegség felfedezésekor, ill. az inductio első hetében a gyermekek döntő többségében haemostasis zavar nem állt fenn.

Ugyanakkor a betegek egy részében a fokozott alvadékonyság laboratoriumi, ill. klinikai jeleit lehetett megfigyelni.

Mindezek alapján indokoltnak tartottuk annak a problémakörnek a vizsgálatát, hogy vajon a fokozott alvadékszűrés magának az alapbetegségnek a következménye-e, vagy az egyes gyermekekben megfigyelt változások a gyermekek szüleiében is fellelhetők és az észlelt haemostasis zavarok hereditér tényezőkkel hozhatók összefüggésbe?

Vizsgálataink 1988.01.01.-1992.12.31. között történtek.

A vizsgálatban a jelzett időszakban 34 acut lymphoid leukaemiás gyermek vett részt a munkám elején megfogalmazott prospectiv vizsgálat részeként.

A gyermekek nemek szerinti megoszlása ebben a vizsgálati sorozatban 11 leány, ill. 23 fiú. Az átlagos életkor 6,3 év volt, a legfiatalabb beteg életkora 6 hónap, a legidősebbé 16 év volt.

A családvizsgálatok elvégzésére annak a 8 gyermeknek a szüleiben került sor, akikben az ALL diagnózisának felállításakor - még therapiás beavatkozás nélkül - a véralvadás zavarára utaló laboratoriumi jelek, vagy klinikai tünetek álltak fenn.

Az érintett 8 anyát és 8 apát a vizsgálatok céljáról informáltuk, azok elvégzése beleegyezésükkel történt.

A véralvadási vizsgálatokhoz a vérvételek, ill. a vérminták tárolása a "Beteganyag, módszer" fejezetben részletezettek szerint történt.

A leukaemiában megbetegedett gyermekekhez hasonlóan szüleikben is az alábbi, a mindennapos klinikai gyakorlat számára hozzáférhető véralvadási tesztek végeztük el: prothrombin aktivitás, aPTI, fibrinogén, thrombin idő, AT aktivitás, ethanol teszt (csak 1989-ig), ill. D-dimer teszt, VIII-as faktor coagulatos aktivitás (FVIII:C).

Azoknak a gyermekeknek a haemostasisát tekintettük kórosnak, ahol laboratoriumi vizsgálatokkal a következő kritériumok közül legalább négyet ki lehetett mutatni:

1. prothrombin aktivitás kisebb, mint 60 %
2. aPTI rövidebb, mint 29 sec, ill. hosszabb, mint 45 sec
3. AT aktivitás kisebb, mint 70 %
4. FVIII:C kisebb, mint 70 %, ill. nagyobb, mint 120 %
5. FDP nagyobb, mint 10 ug/ml
6. pozitív D-dimer teszt
7. fibrinogén szint kisebb, mint 150 mg, ill. nagyobb, mint 400 mg%

Eredmények

A vizsgált 34 ALL-s gyermek többségében (26 fő) a diagnosis felállításának időpontjában haemostasis zavar jeleit nem észleltük. 8 betegben azonban az aPTI megrövidült és a D-dimer teszt pozitív volt. Később, 1996-ban ezen betegek tárolt plasmáiból lehetőség nyílt a prothrombin aktivációs fragment (F 1+2) vizsgálatára, mely hét esetben a gyártó által megadott értékhez viszonyítva emelkedett volt ($3,08 \pm 0,65$ nM/l).

Ezen laboratoriumi jelek fokozott véralvadási készség fennállta mellett szóltak. Klinikai tüneteket azonban csak 4 esetben észleltünk. 1 esetben központi idegrendszeri thrombosis (14 ábra) 3 esetben DIC okozta bőrvérzések (21,22,23 ábra).

6 betegben az aPTI megrövidüléshez pozitív D-dimer teszt, emelkedett fibrinogén és FVIII:C társult.

Az aPTI megrövidülése, pozitív D-dimer teszt, emelkedett F 1+2, emelkedett plasma fibrinogén és FDP szint együttesen 4 gyermekben volt megfigyelhető. (1. táblázat)

A haemostasis-zavar laboratoriumi (klinikai tüneteit mutató 8 gyermek mindkét szülőjében elvégzett véralvadási vizsgálatainkkal haemostasis zavarra utaló jeleket egyetlen esetben sem találtunk (1. táblázat)

Vizsgálati eredményeink alapján a feltett kérdésekre a következő választ adhatjuk:

Acut lymphoid leukaemiás gyermekekben észlelt haemostasis zavar manifesztálódásában a szokásos dominánsan öröklődő tényezők szerepét nem tudtuk igazolni.

A gyermekek szüleiben a haemostasis normális volt.

A testvérek vizsgálatára sajnos nem volt módunk, így az esetleges recesszív alvadási zavarokról nem nyilatkozhatunk. Ezek azonban - ahogy az előzőkben már említettem - ritkák, előfordulásukra kevésbé lehet számítani. Familiáris előfordulásukat egyetlen anamnesztikus adat sem vetette fel, vagy támasztotta alá.

Az észelt haemostasis-zavar ilymódon, magával az alapatetegséggel, és annak kezelésével hozható összefüggésbe.

Az egyes gyermekekben talált, kórosan emelkedett fibrinogén szint és VIII-as faktor coagulatio aktivitás acut fázisreakció eredményeként értékelendő.

Haemostasis zavarait mutató ALL-es gyermekek és szüleik véralvadási értékei

Név	prothrombin (80-100%)	APTI (35-40 sec)	fibrinogén (200-400 mg%)	F VIII.C (70-120%)	F+2 (0,2-1,2 mM)	AT (80-120%)	FDP <1 mg/l	D-dimer (negatív)
B.L.	90	26	626	140	2,41	100	100	poz.
anya:	100	37	363	80	-	100	100	neg.
apa:	98	38	298	78	-	110	110	neg.
M.N.	86	27	506	132	2,89	100	100	poz.
anya:	100	39	356	92	-	100	100	neg.
apa:	100	40	299	80	-	100	100	neg.
H.C.S.	80	28	402	100	0,65	98	100	poz.
anya:	100	36	398	88	-	100	100	neg.
apa:	98	38	299	92	-	100	100	neg.
K.P.	67	31	398	102	3,01	89	100	poz.
anya:	98	40	401	100	-	100	100	neg.
apa:	100	41	376	100	-	100	100	neg.
M.B.	76	29	476	138	2,98	98	100	poz.
anya:	89	40	356	89	-	110	100	neg.
apa:	100	41	361	93	-	100	100	neg.
T.G.	78	27	411	140	3,52	98	100	poz.
anya:	100	39	333	87	-	100	100	neg.
apa:	100	38	302	97	-	100	100	neg.
H.D.	68	26	500	142	3,01	100	100	poz.
anya:	100	40	345	91	-	110	100	neg.
apa:	100	39	301	90	-	100	100	neg.
F.A.	70	30	506	147	3,02	98	100	poz.
anya:	98	42	357	100	-	100	100	neg.
apa:	100	43	308	98	-	100	100	neg.

1. táblázat

V. A haemostasis eltérések és a klinikai jellemzők összefüggése gyermekkori acut lymphoid leukaemiában

A haemostasis zavarok laboratoriumi és/vagy klinikai tüneteinek társulása elsősorban acut myeloid leukaemiák promyelocytás és monocytás szubtipusában várható (2,27,35,65,99), de - ahogy prospectív jellegű haemostasis vizsgálataink is mutatták - a coagulopathia kialakulása nem ismeretlen a gyermekkori acut lymphoid leukaemiákban sem (5,20,43,123,124).

Fontos, hogy a gyermekek döntő többségében csupán a coagulopathia laboratoriumi jeleit lehet detectálni és csak kisebb részükben alakul ki klinikai tüneteket is okozó szövődmény (78). Annak jelzésére, hogy vajon kikben fejlődik ki manifeszt vérzés, vagy thrombosis és kikben maradt meg a haemostasis zavar csupán a hypercoagulabilitás szintjén, jelenleg egyértelmű markereink nincsenek (82). Ugyanakkor a nemegyszer lethalis kimenetelű szövődmények megelőzésében fontos lehet minden olyan faktornak az ismerete, melyek jelző szerepet tölthetnek be és mintegy előre jelezhetik a gyermekhaematologus számára, hogy melyek azok a risikótényezők, melyek megléte esetén gyakrabban kell coagulopathia kialakulásával számolni.

E célt tekintve 1988-1996 között gyógykezelésünk alatt állt ALL-s gyermekekben elemeztük, hogy melyek azok a klinikai entitások, melyek gyakrabban figyelhetők meg coagulopathiával, mint anélkül. A vizsgálatban 63 ALL-s gyermek (18 leány és 45 fiú) vett részt. Az átlagos életkor 6,5 év volt, legfiatalabb beteg 10 hónapos, a legidősebb 16 éves.

A "Beteganyag, módszer" fejezetben leírtak szerint történt prospectiv haemostasis vizsgálatok azon adatait használtuk fel, amelyek az ALL diagnosisának időpontjában és az inductios cheomotherápia első 10 napjában, még az L-asparaginase kezelés megkezdése előtt

történtek. Ez utóbbi megkötéssel az L-asparaginase kezelésnek a haemostasisra gyakorolt hatását kívántuk kiküszöbölni.

Coagulopathiának tekintettük, ha az alábbi laboratoriumi kritériumok közül legalább 4 együttesen észlelhető volt.

1. fibrinogén szint <150 mg%
2. FDP <10 ug/ml
3. prothrombin aktivitás <60 % (normál érték: 80-100 %)
4. aPTI > 46 sec, ill. aPTI <19 sec (normál érték: 35-40 sec)
5. pozitív D-dimer
6. F 1+2 érték nagyobb, mint a gyártó által megadott normál érték (0,2-1,2 nM/l)

Az ALL diagnosztizálásának idején és az inductios chemotherápia igen korai szakában a vizsgált 63 gyermek közül 21 gyermekben észleltünk coagulopathiára utaló jeleket.

A további 42 ALL-s gyermekben haemostasis-zavarra utaló jelek ebben a fázisban nem álltak fenn.

A coagulopathia laboratoriumi jelei egy betegben lethális kimenetelű központi idegrendszeri vérzés, 8 betegben diffúz bőrvérzés, egy-egy betegben retina vérzés és orrvérzés tüneteivel jártak. A vérzések háttérében thrombocytopenia nem állott.

Vizsgálatunk további részét az képezte, hogy elemezzük milyen összefüggés áll fenn a ALL klinikai jellemzői és a coagulopathia fennállta vagy hiánya között.

A klinikai jellemzők a kor, a nem, a lép- és májnagyság, a kezdeti fehérvérsejtszám, a kezdeti abszolút blastszám, a thrombocytaszám és haemoglobin szint vizsgálatát foglalták magukban.

A gyermekek életkorán belül 3 év alatti, 3-6 év közötti és 6 éven felüli csoportot különítettünk el. A lép- és májnagyságot illetően is különbséget tettünk a mérsékelt, vagy kifejezett organomegalia fennállta között.

A kezdeti fehérvérsejtszám, thrombocytaszám, ill. haemoglobin értékekből átlagot számítottunk, a SD feltüntetésével.

A klinikai jellemzők alakulását, a "coagulopathia jeleit mutató" és a coagulopathiás jeleket nem mutató gyermekekkel összevetve értékeljük.

Multivariancia analysis elvégzése nélkül, csupán a kapott numerikus értékek azt jelezték, hogy a coagulopathia gyakrabban fordult elő fiúkban, továbbá azokban a gyermekekben, ahol kifejezett hepatosplenomegalia, magas kezdeti leukocytaszám és abszolút blastszám volt.

Multivariancia analysisel a coagulopathia megléte vagy hiánya csupán az abszolút blastszámmal mutatott összefüggést (2. táblázat) Ez a tény további megerősítése annak, hogy tumorsejttömeget reprezentáló lymphoblastok procoaguláns hatással rendelkeznek és képesek a véralvadási kaskád kórosan fokozott aktivációjára. Így gyakrabban kell számolni coagulopathia kialakulására azokban a gyermekekben, ahol a betegség kezdetén az abszolút blastszám nagyobb.

Haemostasis eltérések és klinikai jellemzők összefüggése acut lymphoblastos leukaemia diagnózisakor gyermekekben

Klinikai jellemzők	Csoportok	Coagulopathiával (n=21)	Coagulopathia nélkül (n=42)	p érték (multivariancia analysis)
Kor (év)	<3	4	5	Nem szignifikáns (NS)
	3-6	11	33	
	>6	6	4	
Nem	fiúk	19	26	NS
	lányok	2	16	
Lép nagyság (cm)	<5	5	30	NS
	>5	16	12	
Máj nagyság (cm)	<5	4	28	NS
	>5	17	14	
Fehérvérsejtszám (x 10 ⁹ /µl)	Középérték	201.1	60.6	NS
	Standard deviatio (SD)	98.7	43.5	
	Szélő értékek	5.3-560.0	2.1-97.5	
Blast szám (x 10 ⁹ /µl)	Középérték	19.2	4.2	0.01
	SD	3.2	1.3	
	Szélő értékek	6.2-39.4	1.6-5.2	
Trombocitaszám (x 10 ⁹ /µl)	Középérték	52.9	95.8	NS
	SD	10.1	28.8	
	Szélő értékek	25.5-107.0	39.2-117.3	
Haemoglobin szint (g/dl)	Középérték	8.8	7.6	NS
	SD	3.9	2.7	
	Szélő értékek	3.4-10.1	3.8-12.6	

2. táblázat

VI. FV Leiden mutatio szerepe a gyermekkori ALL inductio chemotherapyájában és az észlelt haemostasis zavarokban

1994 óta ismert, hogy a APC resistencia kialakulásában az V-ös faktor Leiden (G 1.691) mutatioja játszik szerepet és ez a mutatio napjainkban a leggyakoribb, de önmagában gyenge risikótényező, mind a felnőttkori, mind a gyermekkori vénás thrombosisok kialakulásában (9,16,31,32,76).

Nowak-Göttl (1995) és Sifontes (1996) a vénás thrombosisban szenvedő gyermekek 23 %-ában tudta igazolni a FV Leiden mutatio etiologiai szerepét (90,118).

Az is ismert, hogy az L-asparaginase kezelés növeli a thromboticus szövödmények kialakulásának rizikóját (23,95,117).

Vizsgálatainkban az L-asparaginase legfontosabb hatását - az irodalmi adatokkal egyezően - a fibrinogén és AT szignifikáns csökkentésében tudjuk megjelölni. (7,8 ábra). Ezen változások az L-asparaginase adásban részesült valamennyi gyermekben laboratoriumi módszerekkel kimutathatók voltak, de thromboemboliás szövödmény csak betegeink egy részében alakultak ki.

Az L-asparaginase indukálta thrombosis hajlam mellett nem elhanyagolható a chemotherapy korai szakában megfigyelt coagulopathia sem, mely ugyancsak a betegek egy részében társul klinikai tünetekkel.

Mindezek alapján fontosnak tartottuk annak a vizsgálatát, hogy mennyiben játszhat szerepet ezekben a haemostasis eltérésekben egy geneticus predispositio, melyben a chemotherapy (különösen az L-asparaginase) - már klinikai tünetek (thrombosis) felléptére - hajlamosító tényező lenne.

Mindezek figyelembevételével abban a 21 betegben (7 leány, 11 fiú) átlag életkor: 10,7 év), ahol vagy az indukció korai szakában coagulopathia klinikai és/vagy laboratoriumi jelei álltak fenn, vagy az inductio későbbi szakaszában elsősorban az L-asparaginase adással

összefüggésbe hozható szövődmények alakultak ki, vizsgáltuk az V-ös faktor Leiden mutatio előfordulási gyakoriságát.

A 21 ALL-s gyermek közül - a korábban már részletezettek szerint - 6 gyermekben központi idegrendszeri, egy gyermekben alsóvégtagi thrombosis, egy további esetben pulmonalis embolia alakult ki. A korábbi két fatális kimenetelű központi-idegrendszeri thrombosisban szenvedő betegünk vizsgálatára nem volt mód, miután mindketten a Leiden mutatio vizsgálatát megelőző időszakban elhunytak.

1996. április-1997.február között történt vizsgálatokban a kontroll csoportot olyan 24 acut lymphoid leukaemiás gyermek alkotta, akiknél a prospectiv haemostasis vizsgálatok során sem thrombosis fennállását, sem arra utaló laboratoriumi jeleket nem találtunk.

A kontroll csoportot képező ALL-s gyermekek nemük és életkoruk szerinti megoszlásban nem különböztek a thromboticus/vérzéses szövődmények szempontjából fokozottabb rizikójú csoportnál:(9 leány, 15 fiú, átlagéletkor a vizsgálat időpontjában 10,2 év).

Az V-ös faktor Leiden mutatio vizsgálata szűrőpapírra szárított vérmintákból, PCR methodikával Nagy és mtsai (1996) által közöltek szerint történt (88).

A kontroll csoportban egyetlen esetben sem lehetett az V-ös faktor Leiden mutatioját igazolni.

A 21 fokozott alvadási készséget mutató gyermek közül is csupán egy fiú volt heterozygota (25 ábra). Leiden mutatoria homozygota gyermeket nem észleltünk.



287 bp
157 bp
130 bp
93 bp

K N He Ho K

25. ábra

Leiden mutatio kimutatása PCR reakciót és Mnl I
restrictios endonuclease emésztést követően

K: kontroll N: normál

He: Heterozygota Ho: Homozygota

VII. Therápiásan befolyásolhatók-e az inductios chemotherápiát kísérő haemostasis eltérések?

Az acut lymphoid leukaemiában megbetegedett gyermekekben kialakuló haemostasis zavarok etiologiai tényezőinek és predisponáló rizikófaktorainak kutatása mellett a klinikai gyakorlat számára talán a legnagyobb jelentőséggel az bír, hogy vajon van-e lehetőség a thrombosisok és vérzések megelőzésére? (10,48,136)

Ahogy az acut leukaemiákhoz társuló haemostasis-zavar kiváltó mechanizmusát, rizikótényezőit (10,48,58) illetően sem egységes az irodalom állásfoglalása, úgy annak kezelési és megelőzési lehetősége sem tisztázott minden részletében. (73)

Igy beszámoltak a friss fagyasztott plasma kedvező hatásáról (63), ill. annak hatástalanságáról (55,91).

Mások az antithrombin koncentrátum (53,79,98), ill. alpha-macroglobulin adásakor (83) szereztek kedvező tapasztalatokat. A heparin adás mellett 36,50) és ellen (44), egyaránt találhatóak érvek és ellenérvek.

Napjainkban a kis molekulású heprinok szerepét hangsúlyozzák mind a megelőzésben, mind a thrombosisok kezelésében (66,86).

A daganatos gyermekek supportív therápiájában onkohaematologiai osztályunkon 1989 óta kedvező tapasztalatokat nyertünk a vírus inaktivált (122) albumin oldat (Biseko) használatával.

Miután az oldat egyéb kedvező tulajdonságai mellett serin protease inhibitorokat, antithrombint is tartalmaz, kézenfekvő volt annak a vizsgálata, hogy vajon preventív adásának van-e hatása az inductios chemotherápiá alatt észlelt haemostasis zavarokra.

Vizsgálataink 1993-1994 között 12 (7 fiú és 5 leány) újonnan diagnosztizált acut lymphoid leukaemiás gyermekben történtek. A gyermekek átlagos életkora 5,4 év volt (szélső életkor határok: 3 év - 10 év).

A vizsgálatban való részvétel kritériumai, a vérminták vétele és tárolása a PHD értekezés "Beteganyag és módszer" fejezetében leírtak szerint történt. A gyermek gyógykezeléséhez a BFM-ALL-90 terápiás protokollt használtuk (3. ábra).

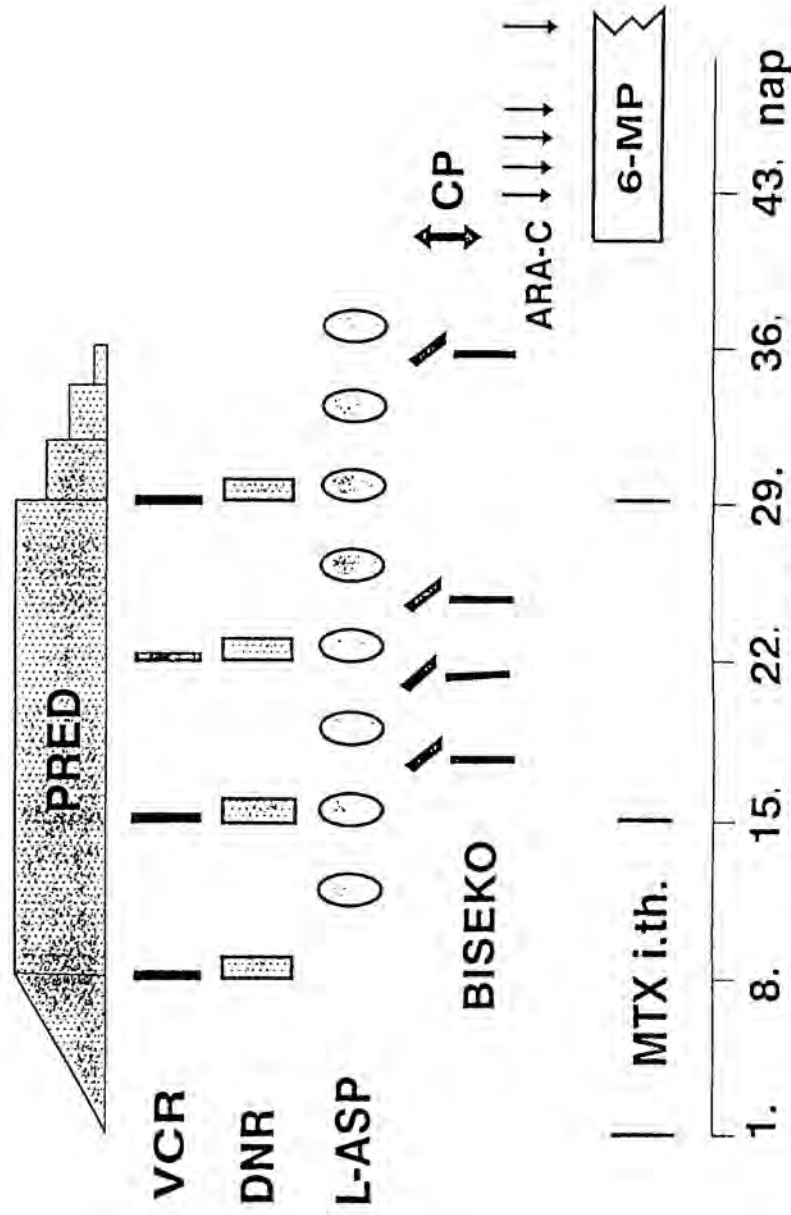
A protokollban feltüntetettek szerint a gyermekek Prednisolon 60 mg/m²/nap p.os 1-29 nap, VCR 1,5 mg/m² i.v. a 8.15.22.29. nap és L-asparaginase 10 000 u/m² i.v. 11.15.18.22.25.29.32.36. nap adásban részesültek.

A Biseko preventív szerepének a vizsgálatára a gyermekek négy alkalommal, az L-asparaginase kezelést megelőzően 20 ml/kg i.v. Biseko adásban részesültek (a therápia: 17. 21.24.35. napján) (26. ábra).

A Biseko kezelés hatását az antithrombin, a fibrinogén, az aPTI és a prothrombin aktivitás változását illetően értékeltük. Az eredmények értékelése Student t-teszt segítségével történt, p<0,05 értéket tekintettünk statisztiaailag szignifikánsnak.

ALL-BFM 90: Protokoll I.

BISEKO adásának időpontja

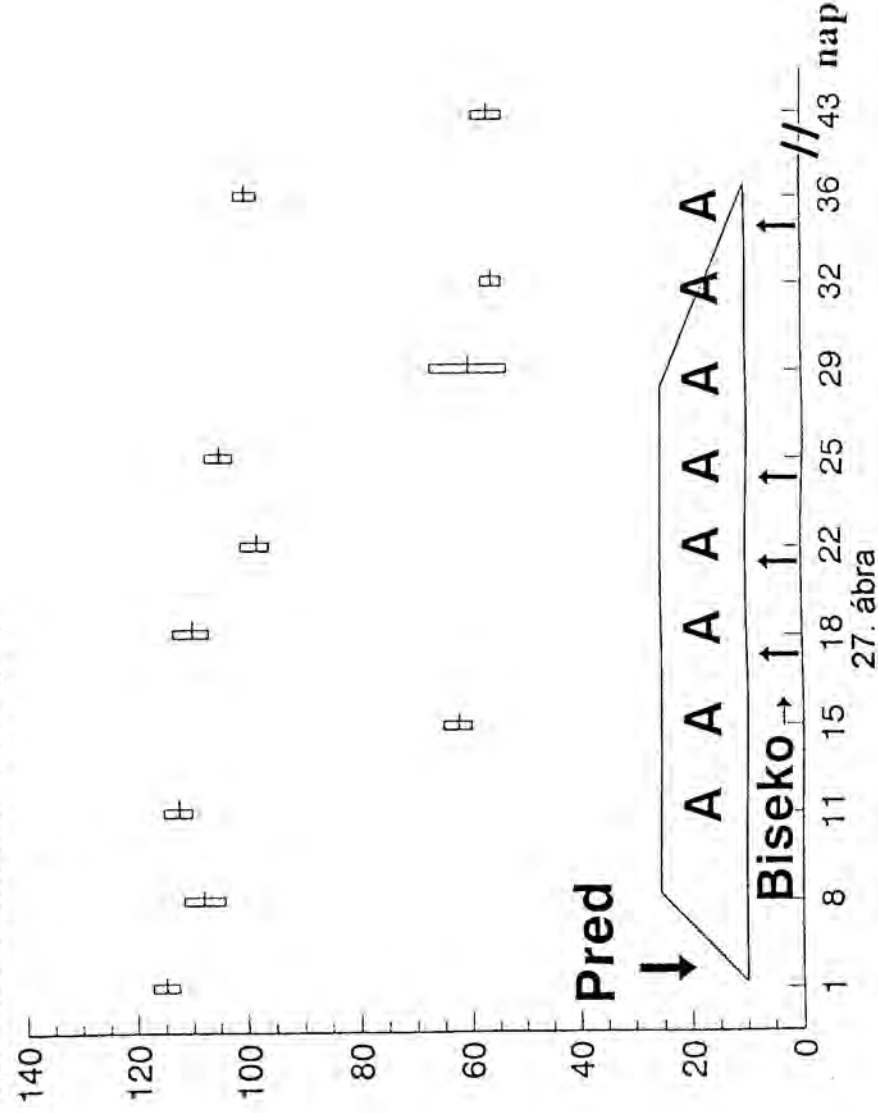


1. Az antithrombin változása

Az AT aktivitás az L-asparaginase kezelés megkezdése előtt normális volt, ($112,6 \pm 2,6$ %), majd az L-asparaginase adást követően egy szignifikáns csökkenés következett be a 15. napon ($62,2 \pm 2,5$ %, $p < 0,01$). Ehhez a csökkenéshez viszonyítva - előzetes Biseko terápia után - az AT nem csökkent a 18. napon: ($110,3 \pm 3,3$ %, $p < 0,01$), 22. napon: ($98,6 \pm 2,5$ %, $p < 0,01$), 25. napon: ($105,0 \pm 2,4$ %, $p < 0,01$), és a 36. napon: ($99,7 \pm 2,0$ %, $p < 0,05$).

Biseko adás nélkül a 29. 32. 43. napon antithrombin aktivitás szignifikánsan alacsonyabb volt ($60,8 \pm 6,3$ %, $55,9 \pm 1,8$ %, $56,4 \pm 2,6$ %, mint az L-asparaginase kezelés megkezdése előtt mért aktivitás ($112,6 \pm 2,6$ %, $p < 0,01$) (27. ábra).

Antithrombin aktivitás (%)



27. ábra

Az antithrombin aktivitás változása gyermekkori ALL inductios cheomoterápiája során, Biseko terápia mellett.

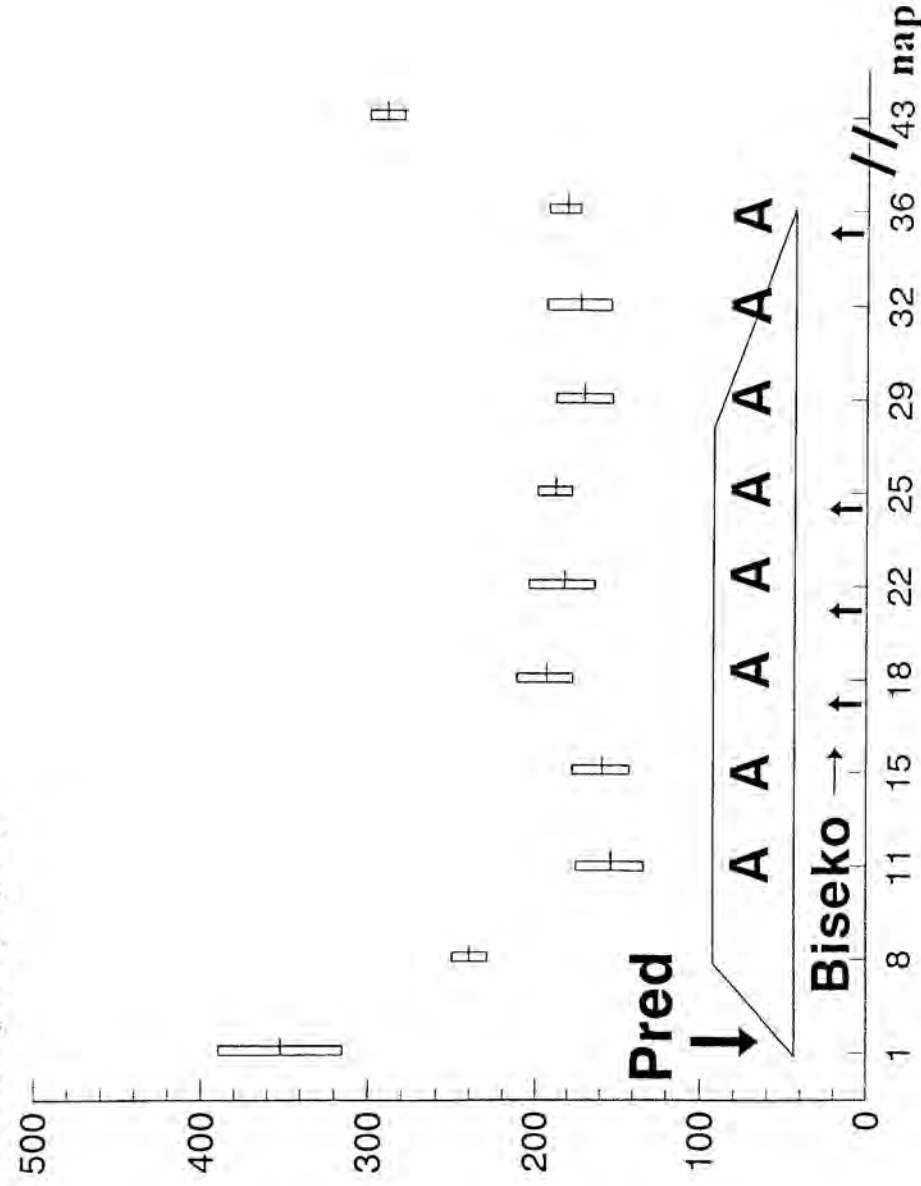
2. A fibrinogén változása

Az inductios cheomotherápia megkezdése előtt a fibrinogén a normális (200-400 mg%) tartományban volt. A Prednisolon terápiát követően viszont egy gyors csökkenés következett be ($352,7 \pm 37$ mg% vs. $154,3 \pm 28,3$ mg%, $p < 0,01$)

Az L-asparaginase kezelés alatt mindvégig a normálisnál alacsonyabb fibrinogén szintet mérjük. A Biseko adás nem volt hatással a csökkent fibrinogén szintre.

A fibrinogén szint normalizálódása csak az L-asparaginase kezelés befejezése után következett be (301 ± 12 mg%) (28. ábra).

Fibrinogén (mg%)



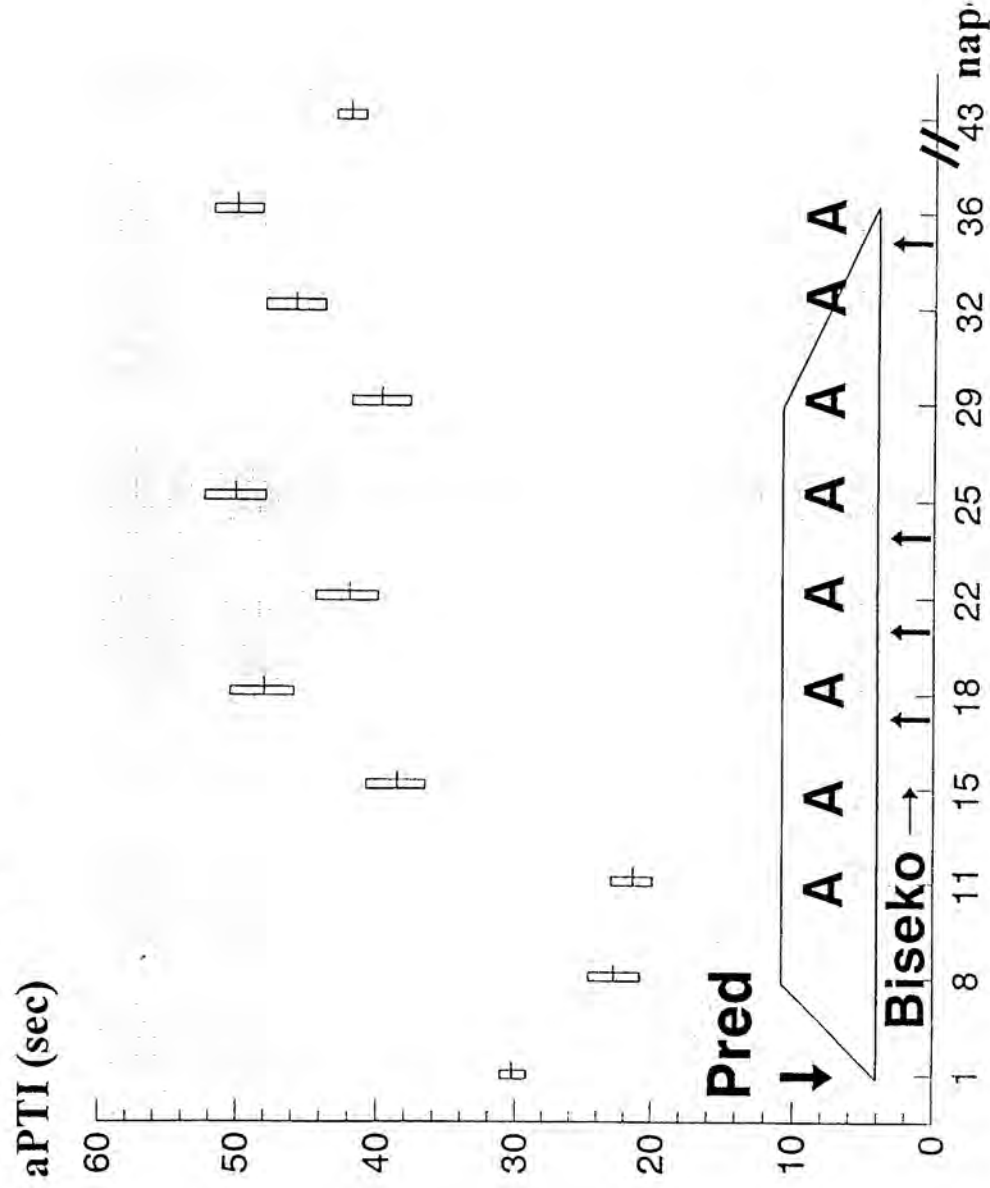
28. ábra.

A fibrinogén változása gyermekkori ALL inductios chemotherápiája során, Biseko terápia mellett.

3. Az aPTI változása

Az ALL diagnosísának időpontjában ebben a vizsgálati sorozatban is az aPTI közel a normális tartományban volt ($30,2 \pm 1,0$ sec, vs. $21,5 \pm 1,5$ sec, $p < 0,05$)

A chemotherápia 15. napjától kezdve az aPTI tartós megnyúlását találtuk, melyre a Biseko hatástalan volt ($30,2 \pm 1,0$ sec, vs. $48,3 \pm 2,3$ sec, $p < 0,01$) (29. ábra).



29. ábra.

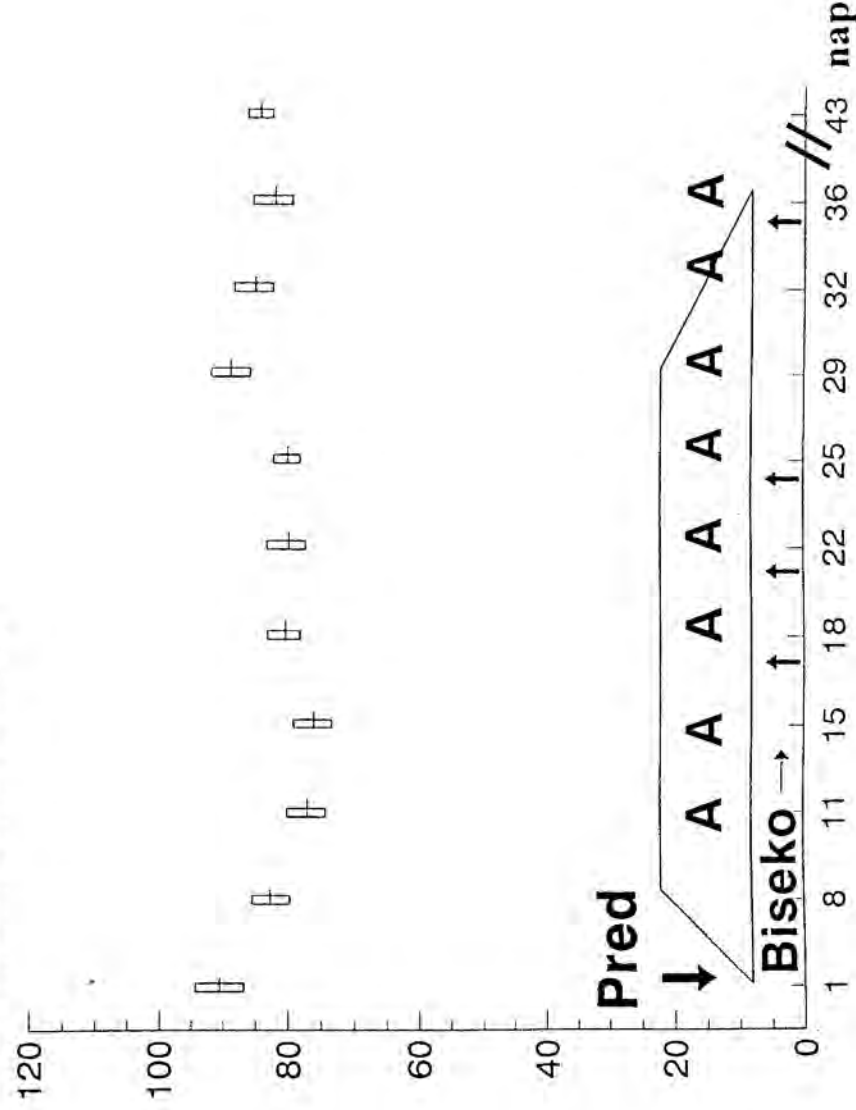
Az aPTI változása gyermekkori ALL inductos chemotherápiája során, Biseko therapy mellett.

4. A prothrombin aktivitás változása

Az inductios chemotherápia alatt a kezeletlen ALL-s gyermekekben talált normális prothrombin aktivitás ($91,2 \pm 5\%$) csak igen kismértékű, általában a normális érték határát mindig megközelítő értékre csökkent.

A Biseko adása mellett e discrét aktivitás csökkentés nem változott. (30 ábra)

Prothrombin aktivitás (%)



30. ábra.

A prothrombin aktivitás változása gyermekkori ALL inductios chemotherápiája során. Biseko therápia mellett.

KÖVETKEZTETÉSEK, AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTHATÓSÁGA

Napjainkban a gyermekkori akut lymphoid leukaemiában megbetegedett gyermekek therápiás sikereit - a tumorsejtek elpusztításán túlmenően - az alapbetegség és a komplex polychemotherápia okozta haemostaseologiai változások is jelentősen meghatározzák.

Ugyanakkor az sem hagyható figyelmen kívül, hogy magának a haemostasisnak a változásai nagyon széles skálán mozognak és multifaktoriális tényezők által szabályozottak.

1988-1997 között végzett haemostasis vizsgálataink eredményei is azt jelzik, hogy ALL-s gyermekek inductios chemotherápiája során a haemostasisban bekövetkezett változásokat két fő tényező határozza meg.

Az egyik, magának a leukaemiának, mint tumornak a haemostasisra gyakorolt hatása, másrészt az antileukaemiás hatással bíró cysostaticumoknak közvetlenül a véralvadási folyamatokra kifejtett hatása. E két tényező által létrehozott eltérések gyakran csak teoretikusan, esetleg laboratoriumi módszerek révén különíthetők el. Sokkal általánosabb, hogy hatásuk nem választható szét, mert az komplex módon, nemegyszer egyidejűleg érvényesül.

Ennek ellenére az inductios chemotherápia során elkülöníthetők olyan periodusok, amikor a véralvadás más- és más irányú zavarával kell számolni.

A kezeletlen ALL-s gyermekek haemostasis vizsgálati eredményeinek az értékelésekor a legtöbb véralvadási paraméter a gyermekek életkorának megfelelő, normális tartományban volt.

Ugyanakkor a gyermekek 11,8 %-ában (8/67 fő) a haemostasis egyensúlya a fokozott alvadáskészség irányába tolódott el. Ezt jelezte az emelkedett F1+2, (3,09±0,65 nM/l) D-dimer teszt, emelkedett fibrinogén és FDP, fokozott FVIII:C. (1.táblázat) Ezek a

változások a lymphoblastoknak még a polychemotherápia megkezdése előtt a haemostasisra kifejített hatását tükrözik. (1,7,71,101).

Az irodalomban megjelent közlések alapján a különböző myeloproliferatív betegségekben a véralvadási kaszkád kórosan felfokozott aktivációját a szöveti faktor (TF) aktiváció (62), TF-VII-es faktor aktiválódás (68), valamint a cancer procoaguláns (CP) aktivitás (38,62,116) eredményezheti. ALL-ban ezek közül a tényezők közül csak a CP jelenlétét tudták igazolni (3,116).

Kezeletlen leukaemiás gyermekek haemostasisának hasonló eltéréseiről számol be a hazai szerzők Goldschmidt és Koós (45,46,47) mellett több külföldi munkacsoport (1,7,8,71,101,102,103). Ez utóbbiak az általunk is leírtakon túl az alpha-2 macroglobulin és von Willebrand faktor szintet is emelkedettnek találták.

A chemotherápia első hetében (1 hetes Prednisolon adás után) a haemostasis vizsgálatok még mindig a fokozott alvadékkézség irányába mutattak. Ezt jelezte a pozitív D-dimer teszt, az emelkedett F1+2 ($2,09 \pm 0,45$ nM/l), a szignifikánsan megrövidült aPTI. Matematikailag mind a prothrombin aktivitás, mind a fibrinogén csökkent, de mindkét paraméter elérte a normális érték alsó szintjét.

A hypercoagulabilitás jelei-hasonlóan a kezeletlen ALL-s gyermekekben találtakhoz -elsősorban a leukaemiás folyamat következményeként értelmezhetők. Ugyakakor addicionális tényezőként hozzájárulhat a steroid therápia is (4,64,43,125).

Mindezek alapján azt kell hangsúlyozni, a gyermekkori ALL induktív chemotherápiája alatt - a véralvadási zavar kialakulása szempontjából - már a kezelés első napjai is különösen veszélyesek lehetnek.

Miután a haemostasist ekkor a hypercoagulabilitásra való hajlam jellemzi, a beteget a kezelésnek ebben a stadiumában, már a diagnosis felállításától kezdve, nagyon szoros megfigyelés alatt kell tartani.

Az inductios chemotherápia második hetétől kezdve az ALL-s gyermekek haemostasisa a consumptios coagulopathia laborjeleivel jellemezhető: az aPTI fokozatosan megnyúlik, a fibrinogén és AT jelentősen csökken, csökken a prothrombin aktivitás is.

Az AT csökkenésben részben a szubklinikailag zajló consumptio, részben az L-asparaginase okozta szintézis gátlás játszik szerepet.

A L-asparaginaséről már hosszú idő óta jól ismert, hogy antileukaemiás és "nem - haemostaticus" hatása (18) mellett számos, a véralvadásban szerepet játszó protein szintézisét is gátolja.

Miután a legtöbb therápiás protokoll - így az általunk használt BFM-ALL-90 is - az L-asparaginasét a kombinált polychemotherápia részeként alkalmazza, jogosan felmerült az a kérdés, hogy vajon az észlelt haemostasis eltérések mennyiben magának az L-asparaginase adás-nak közvetkemenyei, ill. mennyiben játszanak szerepet az egyéb cytotaticumok, ill. az alapbetegség. Ennek a problémának a vizsgálatára, ill. jobb megközelítésére alkalmas volt a BFM-ALL-88 protokoll.

Vizsgálatainkban azt találtuk, hogy az L-asparaginase önmagában történő alkalmazáskor hasonló irányú változások figyelhetők meg a haemostasisban mint a cytotaticum kombinált polychemotherápia részeként történő használatakor: jelentősen megnyúlik az aPTI, mérsékelten csökken a prothrombin aktivitás és kifejezetten csökken az AT és a fibrinogén (9,10,11,12 ábra)

Ha összehasonlítjuk az önmagában alkalmazott L-asparaginase indukálta AT csökkenést a kombinációban adott L-asparaginase mellett bekövetkezett AT csökkenéssel, azt találjuk, hogy az önállóan adott L-asparaginase kisebb mértékű AT csökkenést eredményez.

Ennek magyarázatául azt feltételezzük, hogy a kombinált polychemotherápia részeként fellépő AT csökkenést a szintézis gátlás és a consumptios coagulopathia együttesen eredményezi, hiszen az L-asparaginase kezelés az inductionnak már egy jóval

korábbi időpontjában bevezetésre kerül, amikor is a keringésben lévő még jelentős számú lymphoblastot aktiválhatja az alvadási rendszert.

A BFM-ALL-88 protokollban önállóan alkalmazott L-asparaginase adás viszont már abban a periódusban történt, ahol a gyermekek döntő része haematologiai remissióba került, és így a keringő lymphoblastoknak a haemostasisra gyakorolt hatásával nem, vagy csak kismértékben kell számolni.

Az inductio második hetétől észlelt fibrinogén csökkenést részben a subacutan zajló consumptioval (43,51,84), részben Sutor és mtsai nyomán a Prednisolon terápiával hoztuk összefüggésbe (125).

Az inductio chemotherápia második hetétől tehát a haemostasisban bekövetkezett változás irányát a rendszer procoagulánsaiban és inhibitoráiban létrejött egyensúlyzavar éppen aktuális arányai határozzák meg. Ezért vérzés és thrombosis egyaránt létrejöhet. Külön hangsúlyozni kell, hogy a véralvadás egyik legfontosabb természetes inhibitorának a csökkenése miatt csökken a thrombin inaktiválás és így az alvadási folyamatok főként a thrombosis készség irányába tolódhatnak el. Ez a potenciális veszély az L-asparaginase terapia elhagyása (befejezése) után is még 7-10 napon keresztül fennállhat, mivel vizsgálataink szerint az antithrombin csak 10-14 nappal a terapia ehagyása után normalizálódik (12 ábra).

A haemostasis zavar klinikai megnyilvánulásai

Az inductio chemotherápia alatt fellépő haemostasis eltérések nemcsak laboratoriumi eltérésekben, hanem különböző súlyosságú és kimenetelű thrombosisok, thromboemboliák és vérzések képében is manifesztálódtak.

A szövődmények kialakulásának predilectios helye a központi idegrendszer, ahol 8 betegben lépett fel thrombosis és vérzés.

Általában a gyermekkori ALL inductios chemotherápiája során előforduló thromboticus szövődményének gyakoriságát 1-11 % közöttinek vélik (69,102).

1988-1997 között végzett vizsgálatainkban a thrombosisok előfordulási gyakorisága 13,4 %. A thrombosisok - egy betegől eltekintve - általában az inductios chemoterápia harmadik-negyedik etiductios hetében manifesztálódtak.

A különböző súlyosságú DIC okozta vérzések (elsősorban bőrvérzések) is korán, a chemoterápia első két hetében, vagy már a diagnosis időpontjában is megjelentek. A központi idegrendszeri thromboemboliák diagnosztizálására az érintett betegekben a koponya CT vizsgálatot használtuk. A CT vizsgálat korlátai miatt azonban csak a masszív, nagy localisatiojú thrombosisokat és vérzéseket tudtunk kimutatni. Az acut központi idegrendszeri embolisatio - mely többször előfordult - csak később, a közvetkezmenyesen kialakuló malacia és agyi atrophia révén nyert igazolást. Az acut központi idegrendszeri thromboemboliák kimutatása koponya MR vizsgálattal lehetséges, ennek elvégzésére a betegekben fellépő szövődmények idején technikai feltételek hiányában még nem volt lehetőség.

Az alsóvégtagi thrombosit Doppler UH, a pulmonális embolisatiót és vérzést mellkas CT segítségével igazoltuk.

A thrombo-emboliás szövődmények észlelésekor betegeinkben FFP-t - melynek hatékonyságáról az irodalmi adatok megoszlanak (55,69,91), ill. ismételt - AT és serin protease inhibitorokat tartalmazó Biseko therápiát alkalmaztunk. Heparin, ill. kismolekulasúlyú heparin adására ebben a vizsgálati periodusban nem került sor.

Az inductios chemotherápia korai szakában fellépő haemostasis zavarok és az acut lymphoid leukaemiát jellemző paraméterek kapcsolata

A gyermekkori acut lymphoid leukaemiához társuló haemostasis zavar kiváltó okának és potenciális rizikófaktorainak a jobb megközelítése céljából elemeztük, hogy melyek azok a klinikai sajátosságok, melyek valamilyen összefüggést mutatnak az inductios chemotherápia első 10 napja alatt, még az L-asparaginase kezelés bevezetése előtt megnyilvánuló coagulopathiával.

Bár - klinikai tünetekkel is társuló, vagy csak laboratoriumi jelekben megnyilvánuló - coagulopathia gyakrabban fordult elő fiúkban, kifejezett (5 cm-nél nagyobb) hepatosplenomegalia és emelkedett leukocytaszám esetén, matematikailag szignifikáns összefüggést - csak az abszolút blastszámmal találtunk. Ez az összefüggés a lymphoblastoknak a véralvadási folyamatra gyakorolt hatását jelezheti. Erre utalnak azok az irodalmi közlések melyben az endogén thrombin generatio fokozódása összefüggött a lymphoblastok jelenlétével (85), ill. a fibrinopeptid-A szint emelkedésével (71).

A ALL-s gyermekek gyógykezelése szempontjából az abszolút blastszám a coagulopathia közötti kapcsolat arra kell, hogy felhívja a figyelmet, hogy minden olyan leukaemiás gyermek, ahol a betegség kezdetén az abszolút blastszám magas, jelölt coagulopathia kialakulására, mely symphthomás vagy asymphthomás lehet.

Acut myeloid- és lymphoid leukaemiás gyermekek coagulopathiáját illetően, korábban, - az általunk észleltekhöz - hasonló következtetésre jutott Ribeiro és Pui (108).

A gyermekkori ALL inductios chemotherápiája során észlelt haemostasis zavar és a genetikai/molekular genetikai tényezők kapcsolata

Az 1980-as évek közepétől a genetikai/molekular genetikai tényezők és a gyermekkori daganatos megbetegedések (így az ALL-s) közötti kapcsolat egyre inkább az érdeklődés előterében áll, melynek célja a malignitásra való hajlam minél pontosabb tisztázása, a rosszindulatú folyamatokhoz társuló vagy azokat kísérelő állapotok vizsgálata.

Miután ismert, hogy a gyermekkorban előforduló véralvadási zavarok egyrészt a háttérben is nyilvánvaló az örökletes tényezők szerepe (familialis AT hiány, Protein C, Protein S hiány, haemophiliák) megvizsgáltuk, hogy az inductios chemotherápia megkezdése előtt, a kezeletlen ALL-s gyermekekben észlelt véralvadási zavarnak van-e familiaris aspectusa.

Családvizsgálataink során a gyermekben észlelt haemostasis zavar manifesztálódásában a szokásos dominánsan öröklődő tényező szerepét nem tudtuk igazolni.

1994 óta az is ismertté vált, hogy a felnőttkori thrombosisokhoz hasonlóan, a gyermekkori thromboemboliák kialakulásában az egyik legfontosabb tényező az V-ös faktor Leiden mutatioja.

Régióinkban az V-ös faktor Leiden mutatio carrier gyakorisága 6,4 % (Stankovics, nem közölt adat). Ezen szempontokat tekintve vizsgáltuk, hogy Leiden mutatiót illetően milyen előfordulásra lehet számítani, a thromboticus szövődményeket elszenvedett és/vagy csupán a coagulopathia laborjeleit mutató ALL-s gyermekekben ill. azokban ahol az inductio során haemostasis zavar nem alakult ki.

A fokozott alvadási készséget mutató leukaemiások között csupán 1 beteg volt Leiden mutatióra heterozygota. Homozygotát nem észleltünk. A kontroll csoportban egyetlen esetben sem lehetett Leiden mutatio fennálltát igazolni. A genetikai- és molekular genetikai tényezők szerepét vizsgálva összefoglalóan azt állapíthatjuk meg, hogy ALL-s gyermekekben az inductio alatt fellépő haemostasis

zavarokban sem dominánsan öröklődő tényezők, sem a thrombosis szempontjából legfontosabb rizikó tényező, az V-ös faktor Leiden mutatioja nem áll.

Ilymódon az a feltételezésünk, hogy Leiden mutatio heterozygóta gyermekekben a chemotherápia, mindenekeiőtt az L-asparaginase, thrombosis kiváltó tényező lenne, elvethető. Tehát a haemostasis zavar kialakulását, manifesztálódását - a korábbiakban már részleteztettek szerint - az alapbetegség, ill. az L-asparaginase kezelés következményének kell tartanunk.

Therapiás lehetőségek az inductios chemotherápiát kísérő haemostasis zavarok prevenciójában

PhD értekezésem korábbi fejezeteiben már szóltam, arról, hogy az inductios chemotherápia alatt fellépő véralvadási zavar etiológiájának és hajlamosító tényezőinek a kutatása döntő fontosságú. E komplex kérdések megoldására való törekvés mellett a mindennapi klinikai gyakorlat számára legalább ugyanilyen jelentős és izgalmas kérdés a megelőzésnek a lehetősége.

A therapiás lehetőséget illetően az irodalmi közlések a friss fagyasztott plasma ill. antihrombin pótlás kérdése köré csoportosulnak.

Saját vizsgálatainkban - elsősorban az L-asparaginase okozta haemostasis zavar megelőzésében eredményesnek találtuk a cytostaticus kezelést megelőző AT pótlást. Erre a nem nagylétszámú betegen végzett vizsgálataink szerint - alkalmas a serin protease inhibitorokat tartalmazó albumin oldat (Biseko)

E készítményt több kedvező tulajdonságánál fogva egyébként is gyakran alkalmazzuk daganatos gyermekek supportív therápiája során.

A preventio lehetősége között említi az irodalom az E.Coli Asparaginase (L-asparaginase) Erwinase chysanthemi Asparaginase (Erwinase)-ra történő cserélését (37). Emellett az AT csökkenés

kisebb, de túlérzékenység előfordulhat (18), sőt egy esetben az AT emelkedést észlelték (92).

Az Erwinase okozta haemostasis eltérések vonatkozásában saját adatunk nincs, mert a vizsgálati időszakban mindössze három betegben kellett alkalmaznunk súlyos, L-asparaginase indukálta túlérzékenységi reakció következtében.

Ugyanakkor az AT kifejezett csökkenése esetén mérlegelődnék tarjuk kis molekulásúlyú heparin terapia bevezetését és egyéni megítélés alapján AT koncentratum adását.

Munkám zárszavaként megjegyezném, hogy az általunk használt véralvadási paraméterek nem hasonlíthatók össze nagy véralvadási laboratoriumokban, ill. kutatóközpontokban használt módszerekkel, melyek a leukaemiás sejtek mediálta haemostasis zavart sokrétűbb, finomabb módszerek segítségével tudják megközelíteni. Ennek ellenére a 10 éven át végzett véralvadási vizsgálataink és a klinikai tünetek összevetése révén azt mondhatjuk, hogy ezeknek a bárhol, rutinszerűen elvégezhető és hozzáférhető véralvadási paramétereknek jelző szerepük van a gyermekhaematologus számára. A célkitűzések között megfogalmazott problémafelvetésre visszatérve, ezek a paraméterek diagnosztikusan és prognosztikusan is alkalmazhatók a haemostasis zavarok kimutatásában. A klinikai tünetekkel komplex módon értékelve támpontot adhatnak részben további diagnosztikus vizsgálatok végzéséhez, részben az adott gyermek esetében az adequat kezelés megtervezéséhez.

Míg 1988-ban, a vizsgálataink megkezdésekor a BFM-ALL protokoll még nem foglalkozott a haemostasis vizsgálatok kérdésével, addig ma, a legújabb BFM-ALL 95 már protokoll-szerűen előírja azok elvégzését.

Mindez fenti következtetéseink megalapozottságát erősíti.

Irodalomjegyzék

1. Abshire TC, Gold SH, Odom LF, Carson SD, Hathaway WE. (1990): The coagulopathy of childhood leukaemia. Thrombin activation or primary fibrinolysis? *Cancer* 66: 716-721.
2. Albarracin NS, Daria Haust M. (1971): Intravascular coagulation in promyelocytic leukemia: a case study including ultrastructure. *Am J Clin Pathol.* 55: 677.
3. Alessio MG, Falanga AA, Consonni R. et.al.(1990): Cancer procoagulant in acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Haematol* 45: 78 (abstract)
4. Al-Mondhiry H. (1975): Hypofibrinogenemia associated with vincristine and prednisolon therapy in lymphoblastic leukemia. *Cancer* 35: 144.
5. Al-Mondhiry H, Lawlor D, Sadula D. (1975): Fibrinogen survival and fibrinolysis in acute leukemia. *Cancer* 35: 432.
6. Andrew M, Schmidt B, Mitchell L, Paes B, Ofosu F. (1990): Thrombin generation in newborn plasma is critically dependent on the concentration of prothrombin. *Thromb Haemost* 63: 27-30.
7. Andrew M, Halton JM, Vegh P, Mitchell L. (1992): Coagulation proteins cycle in children on treatment for acute lymphoblastic leukaemia. *Pediatr Res* 31: 141 (abstract)

8. Andrew M, Vegh P, Johnston M, Bowker, Ofosu F, Mitchell L. (1992): Maturation of the haemostatic system during childhood. *Blood* 80: 1998-2005.
9. Andrew M, Vegh P, Johnston Andrew David M, Adams M, Ali K et al. (1994): Venous.Thromboembolic Complications (VTE) in children: First Analyses of the Canadian Registry of VTE. *Blood* 83: (5) 1251-1257
10. Arico M, Gamba G, Raiteri E, Montani N, DeAmici M, Burgio R. (1991): Clotting abnormalities in children during maintenance chemotherapy for acute lymphoblastic leukaemia. *Haematologica* 76: 472-474.
11. Bang NU, Beller FK, Duetsch E, Mammen EF. (1971): *Thrombosis and bleeding disorders. Theory and methods.* Thieme Verlag. Stuttgart
12. Barbui T, Finazzi G, Vigano S, Mannucci PM. (1984): L-asparaginase lowers protein C antigen. *Thromb Haemost* 52: 216.
13. Barbui T, Rodeghiero F, Meli S, Dini E. (1983): Fatal pulmonary embolism and antithrombin III deficiency in adult lymphoblastic leukaemia during L-asparaginase therapy. *Acta Haematol* 69: 188-191.
14. Bauer KA, Teitel JM, Roseberg RD. (1983): L-asparaginase induced antithrombin III. deficiency: evidence against the production of a hypercoagulable state. *Thromb Res* 29: 437-442.

15. Bauer KA, Goodman TL, Kass BL, Rosengerg RD. (1985): Elevated factor Xa activity in the blood of asymptomatic patients with congenital antithrombin deficiency. *J Clin Invest* 76: 826.
16. Bertina R, Koeleman, B.P.C, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, Rode H, Van der Velden, P.A.& Reitsma PH. (1994): Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature* 369: 64-67.
17. Bezeaud A, Drouet L, Leverger G, Griffin JH, Guillin MC. (1986): Effect of L-asparaginase therapy for acute lymphoblastic leukaemia on plasma vitamin K-dependent coagulation factors and inhibitors. *J Pediatr* 108: 698-701.
18. Billet AL, Carls A, Gelber RD, Sallan SE. (1992): Allergic reactions to Erwinia asparaginase in children with acute lymphoblastic leukaemia who had previous allergic reactions to Escherichia coli asparaginase. *Cancer* 70: 201-206
19. Borris LC, Chirstiansen HM, Lassen MR. et.al. (1989): The value of the enzygnost TAT test in the diagnosis of postoperative deep vein thrombosis after hip surgery. *Thromb Haemost* 54: 505-509.
20. Brakeman P, Snyder J, Henderson E, Astrup T. (1970): Blood coagulation and fibrinolysis in acute leukemia. *Brit J Haemat* 18: 135-143.
21. Breen FA, Tullis JL: (1968): Ethanol gelation: A rapid screening test for intravascular coagulation. *Ann Intern Med* 69: 1197-1199.
22. Buchanan GR, Holtkamp CA. 1980): Reduced Antithrombin III levels during L-asparaginase therapy. *Med Ped Oncol* 8: 7-14.

23. Cairo MS, Lazarus K, Gilmore RL, Baehner RL. (1980): Intracranial hemorrhage and focal seizures secondary to use of L-asparaginase during induction therapy of acute lymphocytic leukaemia. *J Pediatr* 97: 829-833.
24. Cappellato MG, Lazzaro A, Rosolen A, Zanesco L, Girolami A. (1986): Failure of L-asparaginase to decrease protein C-a possible rebound phenomenon. *Thromb Haemost* 50 (2): 238.
25. Cappellato MG, Rosolen A, Zanesco L, Girolami A. (1986): Clotting complications of L-asparaginase therapy in children with ALL. *Blut* 52: 377-378.
26. Castaman G, Rodeghiero F, Dini E. (1990): Thrombotic complications during L-asparaginase treatment for acute lymphocytic leukaemia. *Haematologica* 75: 567-569.
27. Chan KW, Steinherr PG, Miller DR. (1981): Acute promyelocytic leukemia in children. *Med Ped Oncol* 9: 5.
28. Clavell LA, Gelber RD, Cohen HJ. et.al. (1986): Four-agent induction and intensive asparaginase therapy for treatment of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *N Engl J Med* 315: 657-663.
29. Conard J, Cazenave B, Maury J, Horellou MH, Samama M. (1980): L-asparaginase, antithrombin III, and thrombosis. *Lancet* i. 1091.

30. Conard J, Horellou MH, Van Dreden P, Potevin F, Zittoun R, Samama M. (1985): Decrease in protein C in L-asparaginase treated patients. *Br J Haemol* 59: 725-728.
31. Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ. (1993): Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90: 1004-1008
32. David M, Andrew M. (1993): Venous thromboembolism complications in children: a critical review of the literature. *J Pediatr* 123: 337-346.
33. Demeres C, Ginsberg J, Johnston M, Brill-Edwards P, Panju A. (1992): D-dimer thrombin-antithrombin III complexes in patients with clinically suspected pulmonary emboli. *Thromb Haemostas* 67: 408-412 (abstract).
34. Di Vivo DC, Males D, Nelson JS. et.al. (1977): Leukoencephalopathy in childhood leukemia. *Neurology* 27: 609.
35. Didisheim P, Thrombold JS, Vandervoort RLE, Sougin Mibashan R. (1964): Acute promyelocytic leukemia with fibrinogen and factor V deficiencies. *Blood* 23: 717.
36. Drapkin RL, Gee TS, Dowling MD, Arlin Z, McKenzie S, Kem-Pin S, Clarkson B. (1978): Prophylactic heparin therapy in acute promyelocytic leukemia. *Cancer* 41: 2484.
37. Eden OB, Shaw MP, Lilleyman JS, Richards S. (1990): Non-randomized study comparing toxicity of *Escherichia coli* and *Erwinia asparaginase* in children with leukaemia. *Med Pediatr Oncol* 18: 497-502.

39. Feinberg WM, Swenson MR. (1988): Cerebrovascular complications of L-asparaginase therapy. *Neurology* 38: 127-133.
40. Foreman N, Mahmoud HH, Rivera GK, Crist WN. (1992): Recurrent cerebrovascular accident with L-asparaginase rechallenge. *Med Ped Ocol* 20: 532-534.
41. Fritz R. et al. (1959): The association of fatal intracranial hemorrhage and blast crisis in patients with acute leukemia. *N Engl J Med* 261: 59.
42. Ganick DJ, Robertson WC Jr, Viseskul C, Lubinsky MS. (1978): Dural sinus thrombosis in leukaemia. *Am J Dis Child* 132: 1040-1041.
43. Gardner H, Riehm H. (1977): Veränderungen der Hämostase während der Induktions-therapie akuter lymphoblastischer Leukämie im Kindesalter. In: Geöbel, U.(ed): *Erworbene Gerinnungsstörungen im Kindesalter*. Enke, Stuttgart. 130-139.
44. Goldberg MA, Ginsberg D, Antin JH, Moloney WC, Rosenthal DS. (1984): Treatment of acute promyelocytic leukemia (APL) without heparin. *Blood* 64: (suppl. 1): 164a.
45. Goldschmidt B, Koós R. (1980): A véralvadási rendszer gyermekkori akut lymphoid leukaemiában. *Orv Hetil* 121: 2635-2637.
46. Goldschmidt B, Koós R. (1985): Metabolism of fibrinogen in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Pediatr* 143: 140-144

46. Goldschmidt B, Koós R. (1985): Metabolism of fibrinogen in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Pediatr* 143: 140-144
47. Goldschmidt B, Koós R. (1986): VIII faktor komponensek gyermekkori akut lymphoblastos leukaemiában. *Orv Hetil* 127: 131-134.
48. Gralnack HR, Henderson E. (1970): Acquired coagulation factor deficiencies in leukemia. *Cancer* 26: 1097-1101.
49. Gralnack HR, Henderson E. (1971): Hypofibrinogenemia and coagulation factor deficiencies with L-asparaginase treatment. *Cancer* 27: 1313-1320.
50. Gralnack HR, Bagley J, Abrell E. (1972): Heparin treatment for the hemorrhagic diathesis of acute promyelocytic leukemia. *Am J Med* 52: 167
51. Gralnack HR, Marchesi S, Givelbar H. (1972): Intravascular coagulation in acute leukaemia: Clinical and subclinical abnormalities. *Blood* 40: 709-718.
52. Gralnack HR, Abrell E. (1973): Studies of procoagulant activity of promyelocytes in acute promyelocytic leukaemia. *Br J Haematol* 24: 89-99.
53. Gugliotta L, D'Angelo A, Mattioli Belmonte M. et al. (1990): Hypercoagulability during L-asparaginase treatment: the effect of antithrombin III supplementation in vivo. *Br J Haemol* 74: 465-470.

54. Haghbin M, Tan C, Clarkson BD. et.al. (1975): Treatment of acute lymphocytic leukemia in children with „prophylactic intrathecal methotrexate” and intensive systemic chemotherapy. *Cancer Res* 35: 807.
55. Halton JM, Michell LG, Vegh P, Eves M, Andrew ME. (1994.) Fresh frozen plasma has no beneficial effect on the haemostatic system in children receiving L-asparaginase. *Am J Hematol.* 47: (3) 157-161.
56. Haskell CM, Connellos GP, Leventhal BG, Carbos PP, Block JB, Serpick AA, Selawry OS. (1969): L-asparaginase therapeutic and toxic effects in patients with neoplastic disease. *N Engl J Med* 281: 1028.
57. Henze G, Langermann HJ, Ritter J, Schellong G, Riehm H. (1981): Treatment strategy for different risk groups in childhood acute lymphoblastic leukaemia: A report from the B.F.M. Study Group. In Neth, Gallo, Graf, Mannweiler, Winkler (eds): „Modern Trends in Human Leukaemia”. IV. Vol. 26. Berlin: Springer-Verlag. pp 87-93.
58. Hirsch J, Buchanan JG, De Gruchy GC, Baikie AG. (1967): Hypofibrinogenaemia without increased fibrinolysis in leukaemia. *Lancet* I. 418.
59. Hoek JA, Nurmohamed MT, ten Cate JW. et.al. (1989): Thrombin-antithrombin III complexes in the prediction of deep vein thrombosis following total hip replacement. *Thromb Haemost* 62: 1050-1052.
60. Homans AC, Rybak ME, Baglini RL, Tiarks C, Steiner ME, Forman EN. (1987): Effect of L-asparaginase administration on

coagulation and platelet function in children with leukaemia. *J Clin Oncol* 5: 811-817.

61. Horigome Y, Hanada T, Inudoh M, Takita H. (1989): Cerebral thrombosis in a child with acute lymphocytic leukaemia during L-asparaginase therapy. *Jpn J Clin Hematol* 30: 1284-1288.

62. Hudig D, Bajaj SP: (1982): Tissue factor-like activity of the human monocytic tumour cell line. *Thromb Res* 27: 321.

63. Ishii H, Oh H, Ishizuka N. et.al. (1992): Cerebral infarction in a patient with acute lymphoblastic leukaemia after fresh frozen plasma replacement during L-asparaginase therapy. *Am J Hematol* 41: 295-306.

64. Jorgensen KA, Sorensen P, Freund L. (1982): Effect of glucocorticosteroids on some coagulation tests. *Acta Haematol* 68: 39-42.

65. Kahlé LH, Lamping RJ, and Gerrits WB. (1983): Isolated acquired alpha-2-antiplasmin deficiency in acute promyelocytic leukemia. *Thromb Haematol* 50: 233.

66. Kakkar AK, Williamson RCN. (1997): Prevention of venous thromboembolism in cancer using low-molecular-weight heparins. *Haemostasis* 27: (suppl 1) 32-37.

67. Knot EAR, de Jong E, ten Cate JW. et.al. (1987): Antithrombin III: biodistribution in healthy volunteers. *Thromb Haemost* 58: 1008-1011.

68. Kubota T, Andoh K, Sadakata H, Tanaka H, Kobayashi N. (1991): Tissue factor released from leukaemic cells. *Thromb Haemost* 65: 59.
69. Kucuk O, Kwaan HC, Gunnar W, Vazquez RM. (1985): Thromboembolic complications associated with L-asparaginase therapy. Etiologic role of low antithrombin III and plasminogen levels and therapeutic correction by fresh frozen plasma. *Cancer* 55: 702-706.
70. Land VJ, Sutow WW, Fernbach DJ, Lane DM and Williams TE. (1972): Toxicity of L-asparaginase in children with advanced leukemia. *Cancer* 30: 339.
71. Legnani C, Palareti G, Pession A. et al. (1988): Intravascular coagulation phenomena associated with prevalent fall in fibrinogen and plasminogen during L-asparaginase treatment in leukaemic children. *Haemostasis* 18: 179-186.
72. Leroy-Matheron C, Gouault Heilmann M, Levent M. (1991): Prothrombin fragment 1-2 levels in patients with inherited deficiency in coagulation inhibitors. *Thromb Haemost* 65: 208a (abstract).
73. Levine M: (1997): Treatment of thrombotic disorders in cancer patients. *Haemostasis* 27 (suppl.1) 38-43.
74. Lockman LA, Mastro A, Priest JR, Nesbit M. (1980): Dural venous sinus thrombosis in acute lymphoblastic leukaemia. *Pediatrics* 66: 943-947.
75. Machovich R. et al. (1990): The elastase-mediated pathway of fibrinolysis. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 1: 79

76. Manco-Johnson MJ. (1997): Disorders of hemostasis in childhood: risk factors for venous thromboembolism. *Thromb Haemost* 78: (1) 710-714.
77. Mannucci PM. (1997): Markers of hypercoagulability in cancer patients. *Haemostasis* 27: (suppl.1) 25-31.
78. Marraro G, Uderzo C, Marchi P, Gastagnini G, Vaj PJ, Masera G. (1991): Acute respiratory failure and pulmonary thrombosis in leukaemic children. *Cancer* 3: 696-702.
79. Mazzucconi MG, Gugliotta L, Leon G, Dragoni F. et.al. (1994): Antithrombin III infusion suppresses the hypercoagulable state in adult acute lymphoblastic leukaemia patients treated with a low dose of Escherichia coli L-asparaginase A GIMEMA study. *Blood Coagul. Fibrinolysis* 5: (1) 23-28.
80. Méhes K, Signere E, Pluss HJ, Muller H, Stalder G. (1985): Increased presence of minor abnormalities in childhood malignancy. *Eur J Pediatr* 144: 243-249.
81. Merskey L, Kleiner GH, Johnson AJ. (1966): Quantitative estimation of split products of fibrinogen in human serum: Relation to diagnosis and treatment. *Blood* 28: 1-3.
82. Miller DR, Leiken S, Albo V, Sather H, Karon M, Hammond D. (1983): Prognostic Factors and therapy in acute lymphoblastic leukaemia. *Cancer* 51: 1041-1049.
83. Mitchell L, Pivella F, Ofosu F, Andrew M. (1991): Alpha-2-macroglobulin may provide protection from thromboembolic events in antithrombin III deficient children. *Blood* 78: 2299-2304.

84. Mitchell LG, Halton JM, Vegh PA. et.al. (1994): Effect of disease and chemotherapy on hemostasis in children with acute lymphoid leukaemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 16: (2) 2299-2304.
85. Mitchell L, Hoogendoorn H, Giles A, Vegh P, Andrew M. (1994): Increased endogenous thrombin generation in children with ALL: risk of thrombotic complications in asparaginase induced AT III deficiency. *Blood* 83: (2) 386-391
86. Monreal M, Alastrue A, Rull M, Mira X, Muxart J, Rosell R, Abad A. (1996): Upper extremity deep venous thrombosis in cancer patients with venous access devices - prophylaxis with a low molecular weight heparin (Fragmin). *Thromb Haemost* 75: (2) 251-253.
87. Muntean W. (1983): Hemorrhagic complications of L-asparaginase therapy (letter). *J. Pediatr.* 102: 483-484.
88. Nagy Á, Bock I, Stankovics J, Losonczy H, Melegh B. (1996): Egyszerű, új módszer a thrombophilia vizsgálatában. Aktivált protein C rezisztenciát okozó V-ös faktor Leiden (G 1.691) mutáció kimutatása beszárított vércseppből. *Klin Kísérl Lab Med* 23: (4) 185-187
89. Nand S, and Messmore H. (1990): Haemostasis in Malignancy. *Amer J Haematol* 35: 45-55.
90. Nowak Göttl U, Aschka I, Koch HG, Boos J, Dockhorn-Dworniczak B, Deufel T, Jorgens H, Kohlase B, Kuhn N, Laupert A. (1995): Resistance to activated protein C (APCR) in

children with acute lymphoblastic leukaemia- the need for a prospective multicentre study. *Blood-Coagul. Fibrinolysis.* 6: (8) 761-764.

91. Nowak Göttl U, Rath B, Binder M, Hassel JU, Wolf J, Husemann S, Ritter J. (1995): Inefficacy of fresh frozen plasma in the treatment of L-asparaginase induced coagulation factor deficiencies during ALL induction therapy. *Haematologica* 80: (5) 451-453.

92. O'Meara A, Daly M, Hallinan FH: (1988): Increased antithrombin III concentration in children with acute lymphatic leukaemia receiving L-asparaginase therapy. *Med Pediatr Oncol* 16: 169-174.

93. Ott N, Ramsay NKC, Priest JR. et.al. (1988): Sequelae of thrombotic or haemorrhagic complications following L-asparaginase therapy for childhood lymphoblastic leukaemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 10: 191-195.

94. Packer RJ, Rorke LB, Lange BJ, Siegel KR, Evens AE. (1985): Cerebrovascular accidents in children with cancer. *Pediatrics* 86: 194-201.

95. Pastore G, Miniero R, Saracco P, Lange M. (1983): Thrombosis and haemorrhage during L-asparaginase therapy. *J Pediatr* 102 (4): 639-640.

96. Pelzer H, Schwarz A, Stüber W. (1991): Determination of human prothrombin activation fragment 1+2 in plasma with an antibody against a synthetic peptide. *Thromb Haemost* 65: (2) 153-159.

97. Pitney WR, Pake KP, and Dean S. (1980): Antithrombin III. deficiency during asparaginase therapy. *Lancet* I. 493-494.

98. Pogliani EM, Parma M, Baragetti I, Mostarda G, Rivolta F, Maffe P, Corneo G. (1995): Asparaginase in acute lymphoblastic leukaemia treatment: the role of human antithrombin concentrates in regulating the prothrombotic state induced by therapy. *Acta Haematol* 93: (1) 5-8.
99. Polliack A. (1971): Acute promyelocytic leukemia with disseminated intravascular coagulation. *Am J Clin Pathol* 56: 155.
100. Priest JR, Ramsay NKC, Latchaw RE. et.al. (1980): Thrombotic and haemorrhagic strokes complicating early therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Cancer* 46: 1548-1554.
101. Priest JR, Ramsay NKC, Bennett AJ, Krivi W, Edson JR. (1982): The effect of L-asparaginase on antithrombin, plasminogen, and plasma coagulation during therapy for acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr.* 100: 990-995.
102. Priest JR, Ramsay KC, Steinherz PG. et.al. (1982): A syndrome of thrombosis and haemorrhage complicating L-asparaginase therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Pediatr.* 100: 984-899.
103. Pui CH, Chesney CM, Weed J, Kackson CW. (1985): Altered von Willebrand factor molecule in children with thrombosis following asparaginase-prednisone-vincristine therapy for leukaemia. *J. Pediatr.* 3: 1266-1272
104. Pui CH, Chesney CM, Bergum PW, Jackson CW, Rapaport SI. (1986): Lack of pathogenetic role of proteins C and S in thrombosis associated with asparaginase-prednisone-vincristine therapy for leukaemia. *Br J Haemol* 64: 283-290.

105. Pui CH, Jackson CW, Chesney CM, Abildgaard CF. (1987): Involvement of von Willebrand factor in thrombosis following asparaginase-prednisone-vincristine therapy for leukaemia. *Am J Hematol* 25: 291-298.
106. Pui CH, Jackson CW, Chesney C. et.al. (1993): Sequential changes in platelet and coagulation in leukaemic children treated with L-asparaginase, prednisone, and vincristine. *J Clin Oncol* 1: 380-385.
107. Ramsay NK, Coccia PF, Krivit W, Nesbit ME, and Edson JR. (1977): The effect of L-asparaginase on plasma coagulation factors in acute lymphoblastic leukaemia. *Cancer* 40. 1398-1401.
108. Rickles FR, Edwards RL, Barb C. et.al. (1983): Abnormalities of blood coagulation in patients with cancer. Fibrinopeptide A generation and tumor growth. *Cancer* 51: 301-307.
109. Ribeiro RC, Puio CH. (1986): The clinical and biological correlates of coagulopathy in children with acute leukemia. *J Clin Oncol* 4: 1212-1218.
110. Riehm H, Ebell W, Feickert HJ, Reiter A. (1992): Acute lymphoblastic leukaemia in Voûte AP, Barrett A, Lemerle J (eds): *Cancer in Children*. Springer Verlag
111. Rodeghiero F, Castaman G, Dini E. (1990): Fibrinopeptide A changes during remission induction treatment with L-asparaginase in acute lymphoblastic leukaemia: evidence for activation of blood coagulation. *Thromb Res* 57, 31-38.

112. Saito M, Asakura H, Jokaji M, Uotani C, Kumabashiri I, Ito K, Matsuda T. (1989): Changes in hemostatic and fibrinolytic proteins in patients receiving L-asparaginase therapy. *Am J Hematol* 32: 20-23.
113. Sallan SE, Hitchcock-Bryan S, Gelber R. et al. (1983): Influence of intensive asparaginase in the treatment of childhood non-T-cell acute lymphoblastic leukaemia. *Cancer Res* 43: 5601-5607.
114. Sandler RH, Kieban HA, Patch MJ, Teitelbaum A, Levine A, and Feinstein DL. (1983): Antithrombin III and anti-activated factor X activity in patients with acute promyelocytic leukemia and disseminated intravascular coagulation treated with heparin. *Cancer* 51: 681.
115. Schulz UG, Zoubek MA, Gardner H. (1994): Sinus venen thrombose unter L-asparaginase therapie. *Klin Padiatr* 206: 342-345.
116. Semeraro N, Montemurro P, Giodano P. et al. (1990): Unbalanced coagulation-fibrinolysis potential during L-asparaginase therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Thromb Haemost* 64: 38-40.
117. Shapiro AD, Clarke SL, Chirstian, MJ, Odom LF, Hathaway WE. (1993): Thrombosis in children receiving L-asparaginase-Determining patients at risk. *Amer J Pediat Hematol Oncol* 15: 400-405.
118. Sifonntes MT, Nuss R, Hunger SP, Wilimas J, Jacobson LJ, Manco-Johnson MJ. (1997): The factor V Leiden mutation in children with cancer and thrombosis. *Brit J Haematol* 96: 484-489.

119. Sills RH, Nelson DA, and Stockman JA. (1978): III. L-asparaginase coagulopathy during therapy for acute lymphocytic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 4: 311.
120. Soong B. and Miller SP. (1970): Coagulation disorders in cancer. II. Fibrinolysis and inhibitors. *Cancer* 25: 867-874.
121. Steinherz PG, Moller Lp, Ghavimi F, Allen JC, Miller DR. (1981): Dural sinus thrombosis in children with acute lymphoblastic leukaemia. *JAMA* 246: 2837-2839.
122. Stephan W. (1982): Fractionation of cold-sterilized plasma. A new concept in production of non infectious plasma proteins. *Arzneimittel-Forschung* 32: 799-801.
123. Sureda A, Frade LJG, Torrado MC, Larana JG, Avello AG. (1992): A continuous spectrum of hypercoagulability exists in acute nonlymphoblastic leukemia. *Acta Haemat* 88: 2-3.
124. Sutor AH, Wulff J, Ritter J, Pollmann H Schellong G. (1986): Hämostase und Fibrinolyse bei der acuten lymphoblastischen Leukämie (ALL) im Kindesalteranalyse von lebensbedrohlichen Blutungen. *Klin Padiat* 196: 166-173.
125. Sutor AH, Niemeyer C, Suter S. et.al. (1992): Alteration of haemostasis with the treatment protocols ALL-BFM 90 and NHL-BFM 90. *Klin Paediatr* 204: (4) 264-273.
126. Sutor AH, Ritter J. (1992): Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukaemia with special regard to asparaginase treatment. *Hemostaseologie* 12: 35-43.

127. Szijjártó L, Méhes K, Kajtár P. (1993): Informatív morphogenetikai variánsok acut lymphoid leukaemias gyermekben és családtagjaikban. *Orv Hetil* 134: 629-633.
128. Tallal L, Tan C, Oetthen H. et.al. (1970): E.coli L-asparaginase in the treatment of leukaemia and solid tumours in 131 children. *Cancer* 25: 306-320.
129. Törnebohm E, Blomback M, Lockner D, Egberg N, Paul C. (1992): Bleeding complications and coagulopathy in acute leukaemia. *Leuk Res* 16: 1041-1048.
130. Van der Does- van der Berg A. et.al. (1992): Minimal requirements for their diagnosis, classification, and evaluation of treatment of childhood acute lymphbastic leukaemia (ALL) in the „BFM family” cooperative group. *Med Ped Oncol* 20: 497-505.
131. Vellenga E, Kluft C, Mulder NH, Wijngaards G, Nieweg HO. (1984): The influence of L-asparaginase therapy on the fibrinolytic system. *Br J Haemol* 57: 247-254.
132. Vigano-D'Angelo S, Gugliotta L, Mattioli Belmonte M. et.al. (1990): L-asparaginase treatment reduces the anticoagulant potential of the protein C system without affecting vitamin K-dependent carboxylation. *Thromb Res* 59: 985-994.
133. Weisenbach J, Kajtár P, Keresztes M, Jeges S. (1989): Csontfejlődési rendellenességek, variánsok és a csontosodási kor lemaradása leukaemiás gyermekekben. *Orv Hetil* 130: 1817-1820.
134. White L, Fishman LS, Shore NA. (1981): Strokes and the neurotoxicity of L-asparaginase. *J Pediatr* 101: 168.

135. Wilde JT, Davies JM: (1990): Haemostatic problems in acute leukaemia. *Blood* 40: 245-251.
136. Zaunschirm A, Muntean W. (1986): Correction of haemostatic imbalances induced by L-asparaginase therapy in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Pediatr Hematol Oncol* 3: 19-25.

A témával kapcsolatos saját közlemények jegyzéke

1. Kardos M, Nagy I, Schultz K, Kiss I, Gastonyi V. (1988): Serious complications of congenital antithrombin III (AT III) deficiency in a 7-year-old girl
Folia Haematol, Leipzig 115: 297-300
2. Kardos M, Nagy I, Schultz K, Kiss I, Gastonyi V. (1989): Súlyos szövődéményekkel járó veleszületett I. típusú antithrombin III hiány 7 éves leányban. Orv Hetil 130: 629-632
3. Kardos M, Grexa E, Kajtár P, Matolcsy A. (1992): Arteria carotis interna thrombosis és disseminált intravascularis coagulopathia (DIC) előfordulása akut myeloid leukaemia kezdetén. Orv Hetil 133: 483-485.
4. Kardos M, Grexa E, Kajtár P. (1992): Központi idegrendszeri szövődémények akut lymphoid leukaemiás gyermekek chemotherápiás kezelése során. Orv Hetil 133: 1111-1115.
5. Kardos M, Kajtár P, Szücs R, Nagy I. (1992): Disturbances of coagulation following high-dose Methotrexate (HDMTX) administration in patients with acute lymphoblastic leukaemia (ALL). Med Pediat Oncol 20: 404.
6. Kajtár P, Kardos M, Szücs R, Molnár D. (1992): Alteration of lipid metabolism during chemotherapy of childhood lymphoblastic leukaemia. Med Pediat Oncol 20: 402.
7. Kardos M, Kajtár P. (1993): Örökletes tényezők szerepe a gyermekkori akut lymphoid leukaemia kezdeti szakaszában észlelt haemostasis zavarokban. Gyermekgyógyászat 44: 364-467.

8. Kardos M, Kajtár P. (1994): Effect of Biseko administration on L-asparaginase induced hemostasis disorders in acute lymphoblastic leukaemia (ALL) of children.
Series Coagulation vol.3. 67 (abstract)
Eds: F. Kornalik, Z. Vorlová, H. Vinazzer
9th Meeting of the Danubian League against Thrombosis and Haemorrhagic Disorders
9. Kardos M, Kajtár P. (1996): Relationship between clinical symptoms and coagulation disorders during the early phase of childhood lymphoblastic leukaemia (ALL)
Series Coagulation vol. 4, 45 (abstract)
Eds: K Zawilska, H Vinazzer
10th International Meeting of the Danubian League against Thrombosis and Haemorrhagic Disorders
10. Kardos M, Kövesi T, Kajtár P. (1996): Complications associated with indwelling central venous catheters. Med Ped Oncol 20: 306.
11. Kardos M, Kajtár P. (1996): Relationship between clinical symptoms and coagulation disorders during the early phase of childhood lymphoblastic leukaemia (ALL)
Series Coagulation vol 4, 45 (abstract)
Eds: K Zawilska, H Vinazzer
10th International Meeting of the Danubian League against Thrombosis and Haemorrhagic Disorders
12. Kardos M, Kövesi T. (1997): Durability of tunneled central venous catheters in children with malignant diseases. Pediatric Anesthesia 7: 353-356.

Könyvfejezet

1. Kardos M, Kajtár P. (1990): Effect of combined chemotherapy on haemostasis "Thrombosis and haemorrhagic disorders"
Eds: Nagy I, Losonczy H, Vinazzer H.
Proceedings of the 7th International Meeting of the Danubian League against Thrombosis and Haemorrhagic Disorders, Pécs, Oct. 9-13.
pp. 311-322.
2. Kardos M, Kajtár P. Effect of Biseko-administration on L-asparaginase induced haemostatic disorders in acute lymphoblastic leukaemia (ALL) in children
"Trends in Haemostasis 1995"
Eds: Losonczy H, Dávid M.
Akadémiai Kiadó Budapest pp. 120-127.

A témával kapcsolatos saját előadások jegyzéke

1. Gyermekleukaemia Therápiás Munkacsoport Tudományos Ülése

1990.04.19-21. Debrecen

Kardos M: HDMTX kezelés hatására bekövetkező haemostasis eltérések haemosblastosis és osteosarcoma miatt kezelt betegekben

2. Magyar Haematológiai Társaság XIII. kongresszusa

1990.09. 23-26. Szombathely

Kardos M: A hemostasis változása akut lymphoid leukaemiás gyermekek indukciós kezelés során

3. MGYOT Gyermekonkológiai Sectio Értekezlete

1991. VI. 20.22. Kaposvár

Kardos M: A Biseko terápia helye a gyermekonkológiában

4. Symposium "Paediatriche Onkologie"

1991.10. 22-25. Weimar

Kardos M: Das plasmatische Gerinnungssystem in verschiedenen Stadien der acuten lymphoblastischen Leukämie

5. A Magyar Thrombosis Haemostasis Társaság I. kongresszusa

1991.11. 21-23. Szirák

Kardos M, Nagy I, Kajtár P: Magas dózisu Methorexat (HDMTX) okozta véralvadási eltérések akut lymphoid leukaemiás gyermekekben

6. III. Pécs-Tübingen Wissenschaftliches Symposium
1992.04. 12-14. Pécs
Kardos M, Kajtár P: Veränderungen der Hämostase in verschiedenen Stadien der acuten lymphoblastischen Leukämie
7. MGYOT Gyermekonkológiai Sectio Értekezlete
1992.06. 18-21. Szeged
Kardos M: Haemostasis zavar okozta központi idegrendszeri vérzések a POTE Gyermekklinika anyagában
8. XXIVth Meeting of the International Society of Paediatric Oncology
1992.10. 12-16. Hannover
Kardos M, Kajtár P: Disturbances of coagulation following high dose Methotrexate (HDMTX) administration in patients with acute lymphoblastic leukaemia (ALL) (poster)
9. MGYOT 26.évi Kongresszusa 1993.06. 10-11. Szeged
Kardos M, Kajtár P: Véralkadási zavar okozta központi idegrendszeri szövődmények acut lymphoid leukaemiás gyermekek chemoterápiája során
10. A Magyar Thrombosis Haemostasis Társaság II. kongresszusa
1993.09. 24-26. Pécs
Kardos M, Losonczy H, Kajtár P: Biseko-kezelés hatása az L-asparaginase okozta véralkadási zavarra gyermekkori acut lymphoid leukaemia inductios chemoterápiája során
11. VII. Magyar Biotest-Symposium 1993.11.12. Budapest
"Supportív thérapia a haematológiában"
Kardos M: Biseko thérapia hatása az L-asparaginase okozta véralkadási zavarra

12. Baranya Woche in der Steiermark 1993.10. 11-15. Graz-Stainz
Kardos M, Kajtár P: Neurologische Komplikationen infolge von Hämostase-Störungen während der zytostatischen Behandlung bei der leukämischen Kindern
13. 9th Meeting of the Danubian League Against Thrombosis and Hemorrhagic Disorders 1994.09. 04-17. Prága
Kardos M, Kajtár P: L-asparaginase induced haemostasis disorders in acute lymphoblastic leukaemia of children
14. Trilateral Haematological Symposium 1997.05. 5-6. Pécs
Kardos M: Changes of haemostasis during intensive induction chemotherapy in children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL)

Köszönetnyilvánítás

Hálásan köszönöm dr. Nagy Ibolya egyetemi docensnek és dr. Losonczy Hajna Professor Asszonynak a támogatását, melyben PhD értekezésem témaválasztásától kezdve, egészen annak elkészültéig mindvégig részesültem.

Köszönöm, hogy munkám kezdetén lehetővé tették a POTE I. sz. Belgyógyászati Klinika Véralvadási Laboratóriumában dr. Storcz Béláné és dr. Temesi Lászlóné asszisztensek segítségével a véralvadási laboratóriumi módszerek elsajátítását.

Külön köszönettel tartozom dr. Losonczy Hajnának, téma- és alprogram vezetőmnek, hogy klinikai tudományos munkámmal dr. Sümegi Balázs egyetemi tanár accreditált PhD programjához csatlakozhattam, továbbá mindazért a szakmai útmutatásért, baráti tanácsért, melyet munkám során kaptam.

Köszönöm dr. Méhes Károly akadémikusnak, hogy vizsgálataimhoz 1988-ban - mint a POTE Gyermekklinika igazgatója - a laboratóriumi feltételeket megteremtette és, hogy osztályvezetőmmel, dr. Kajtár Pál egyetemi docenssel együtt mindig hangsúlyozták a témaválasztás fontosságát, aktualitását és bátorítottak annak végzésére.

Köszönöm a POTE Gyermekklinika volt és jelenlegi laborvezetőjének, dr. Klujber Lászlónak és dr. Melegh Bélának, illetve laborasszisztenseinek, Morvai Ágnesnek, Angsterné Tarján Ágnesnek, Takaró Jánosnének és Éger Orsolyának, a rendszeres vizsgálati lehetőség biztosítását, illetve azok elvégzését.

Köszönettel tartozom dr. Gudrun Wiedemann docensnek, az Erfurti Orvosi Akadémia Gyermeklinikája Laborvezetőjének is többértű szakmai segítségéért.

Köszönöm Kiss Zoltánné könyvtáros és Vass Annamária asszisztens áldozatos munkáját, mellyel PhD értekezésem formai

kivitelezésében segítettek, továbbá mindazon munkatársaimnak, akik a közel egy évtizedes munkában segítségemre voltak.

Végezetül köszönetet mondok Családomnak, szeretett Szüleimnek, Keresztényeimnek, Tamarának és Zsófinak, akiket mindig magam mellett tudhattam, akik mindig erőt adtak ahhoz, hogy tudományos értekezésemet elkészíthessem, még akkor is, ha nem egyszer Tőlük kellett az időt elrabolnom.