

Laste äge lümfoblastleukeemia – suur koostöö ravikvaliteedi parandamise nimel

Äge leukeemia, rahvasuus verevähk, on kõige levinum kasvajakrapp lastel, jäädes siiski harvaesinevaks haiguseks esinemissagedusega 1–4,7 juhtu 100 000 elaniku kohta (*WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, 2017). Ilma ravita on see väga kiire kulu ja surmaga lõppev haigus, kuid tänapäevaste teadmiste ja ravimite juures on tervistumistõenäosus enam kui 80% diagnoosi saanud lastest. Alati ei ole see nii olnud. Ravimitööstus areneb pidevalt ning selleks, et saada harvikaigustest head ülevaadet, mille alusel teha õigeid raviotsuseid, on vaja suuri uuringugruppe, eri valdkondade teadmisi ning hästi toimivat koostööd. Üheks taoliseks näiteks on Põhjamaade laste hematoloogia ja onkoloogia ühing NOPHO.

Kati Mädo
laborispetsialist/
voolutsütometrist
Põhja-Eesti
Regionaalhaigla

Maria Keernik
laboriarst
Tartu Ülikooli Kliinikum

Pille Tammur
vanemlaborispetsialist/
tsütogeneetik
Tartu Ülikooli Kliinikum

Eva Reinmaa
laborispetsialist/
voolutsütometrist
Tartu Ülikooli Kliinikum

Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO) on Põhjamaade (Norra, Rootsi, Taani, Island, Soome) laste hemato-onkoloogide koostööorganisatsioon, mille juured ulatuvad aastasse 1916, kui asutati Põhjamaade Pediaatrite ühing. Juba siis tegid Põhjamaad omavahel teadus-alast koostööd ja korraldasid ühiseid konverentse. 1960ndatel suurenes arstide huvi laste hematoloogia vastu ning loodi eraldi Põhjamaade pediaatrilise hematoloogia klubi. Klubi eesmärgiks oli luua sõbralikus mitteformaalses õhkkonnas sidemeid Põhjamaade pediaatrite vahel, jagada kogemusi ning

tutvuda üksteise teadustöödega. Kuna kõiki Põhjamaid iseloomustab väike rahvaarv hajutatuna suurele territooriumile, siis tekkis peatselt soov ühtlustada ravistrateegiaid nii, et kõik Põhjamaade leukeemiahaiged lapsed saaksid parimat teadaolevat arstiabi. Selleks oli vaja organiseeritud koostööd ja hästi dokumenteeritud andmeid. 1984. aastal asutati ametlikult NOPHO, mis on aja jooksul kasvanud ja hõlmab tänapäeval nii lapsea kasvajate erinevate alatüüpide ravi kui ka diagnostikaga tegelevaid töögrupe. (1)

Eesti oli 1980. aastatel veel teises informis, kuid ka siin hakkasid asjad muutuma. Pärast Eesti taasiseseisvu-

mist alustas Tallinna Lastehaigla (TLH) arst dr Karin Orgulas koostööd soomlastega, kelle kaudu avanes Eestilgi võimalus tutvuda NOPHO raviprotokollidega. Alguses vaadeldi ja õpiti kõrvalt ning kogemuste ja võimaluste avarudes kasvas ka meie arstide usaldatavus ja osalus NOPHO-s. Nagu mainitud, on äge leukeemia harva esinev haigus, ning selleks, et saada haigusest head ülevaadet, on vaja piisavat valimit, kus iga patsient on oluline. Aastal 2006, kui alustati uue ägeda lümfoblastleukeemia (ALL) raviprotokolliga, võeti kaasliikmetena kampa ka Eesti ja Leedu laste hematoloogid. Ametlikult on Eesti NOPHO täisliige alates aastast 2021.



Kati Mädo (PERH), Eva Reinmaa (TÜK), Maria Keernik (TÜK) ja Kersti Klaamas (PERH) 2022. aasta kevadel Kopenhaagenis toimunud NOPHO MRD koosolekul.

Eesti laboratoorsete valdkondade liitumise lood

Voolutsütomeetria

Aastaks 2008 oli NOPHO-s valmimas juba uus, parendatud ALL raviproto koll. Ka Eesti laborite võimekus oli kasvanud ning suutsime teha NOPHO kriteeriumidele vastavaid analüüse. Esimene osaleja NOPHO diagnostilises töögrupis, Põhja-Eesti Regionaalhaigla (PERH) voolutsütomeetria laborispetsialist Aili Lilleorg meenutab algust nii: „2008. aasta alguses helistas mulle TLH hematoloog dr Kaie Pruunsild ja teatas, et registreeris mind NOPHO ALL-FCM (voolutsütomeetria töögrupp) Eesti koordinaatoriks. Koosolek toimub märtsi alguses Kopenhaagenis, palun mine vaata. Muidugi olin nõr dinud, et mind tagasleja kusagile soku tati, tööd oli niigi palju ja reisiraha oli tol ajal vähe.“

Reisiraha siiski leiti ja Aili läks kohale. Istus, kuulas, kirjutas kõik üles ning hakkas kodulaboris muu datusi sisse viima. „Senini olime tei nud nii, nagu oskasime, kuid nüüd oli kindel protokoll, kõik tegid ühte-

moodi, andmed tuli sisestada ühtsesse andmebaasi.“ Veidi hiljem võttis proto kolli üle ka Tartu Ülikooli Kliinikumi (TÜK) ühendlabor.

NOPHO koosolekud osutusid Ailile väga kasulikuks. Tekkisid uued kontak tid. Õhkkond oli vaba, soe ja sõbralik. Kohtumised toimusid vähemalt kaks korda aastas väikeses töögrupis ning iga kord oli midagi õppida. Igal osale jal tuli koosolekule kaasa võtta üks juh tum ning seda teistele tutvustada. Kuna voolutsütomeetria uuringu vastus sõltub väga palju andmeanalüüsija inter pretatsioonioskustest, millest omakorda sõltub patsiendi ravikäsitus, siis toimu sid iga-aastased voolutsütomeetria kva liteedikontrolli ringid. Selle käigus pidi iga labor iseseisvalt analüüsima ja inter preteerima kahe patsiendi toorandme tega faile. Tulemused võeti kokku ja arutleti ühisel koosolekul põhjalikult läbi – nii õpitigi, sest juhtumeid on ju vähe ja iga patsient väikese indivi duaalse eripäraga.

Selle suure ühise õppimise eest tuleb tänu avaldada tolleaegsele NOPHO ALL-FCM MRD töögrupi juhile prof dr Anna Porwitile ning tema paremale

käele Elisabet Björklundile (Rootsi). Tänu neile on Põhjamaade ning Eesti ja Leedu voolutsütomeetria analüüsikäsitus tänapäevani väga ühtne. Samuti mitte vähem oluline on see, et Anna hoidis koosolekute töökee lena inglise keelt, sest skandinaavlastel, kellel juba pikk koostöökogemus selja taga, kippusid kergesti omavahel root si-taani-norra keelele üle minema.

Tsütogeneetika

NOPHO protokollide omaksvõtmisega kaasnes ka andmete sisestamise kohus tus ühtsesse andmebaasi, ikka selleks, et hiljem saaks ravitulemustest kokkuvõ tteid ja protokollide korrektsioone teha. Andmeid, mida kogutakse, on palju ning see töö tuleb teha käsitsi. Lisaks kogutakse andmebaasi erialaspetsiifilisi andmeid, mida igapäevases kliinilises praktikas laborivastustes ei avaldata.

2017. aasta kevadel pöörduski TLH laste hematoloog dr Kristi Lepik TÜK-i tsütogeneetika laborispetsialisti Pille Tammuri poole ettepanekuga osaleda NOPHO protokollis nii, et geneetiliste andmete sisestus ja vastutus jääks tsüto geneetiku, mitte raviarsti kanda.

Pille: „Olime vist ilma pikema mõt lemiseta nõus, sest varasemalt sai tihti arstidega vaieldud sisestamise detailide ja tulemuste tõlgendamise üle. Tagant järele tarkusena võin kinnitada, et mis sa vaidled, kui süsteemi ei tunne.“

Esimene kohumine, kus NOPHO 2008 tsütogeneetika töögrupiga liitu sid Eesti ja Leedu tsütogeneetikud, toi mus 2017. aasta septembris, mil korri geerisime kõiki geneetilisi andmeid ala tes 2008. aastast. Nimekirjas oli ligi 80 patsienti ja tsütogeneetiku kodutöök s jäi teha iga patsiendi geneetiliste and mete kohta kokkuvõtte vastavalt proto kolli nõuetele.

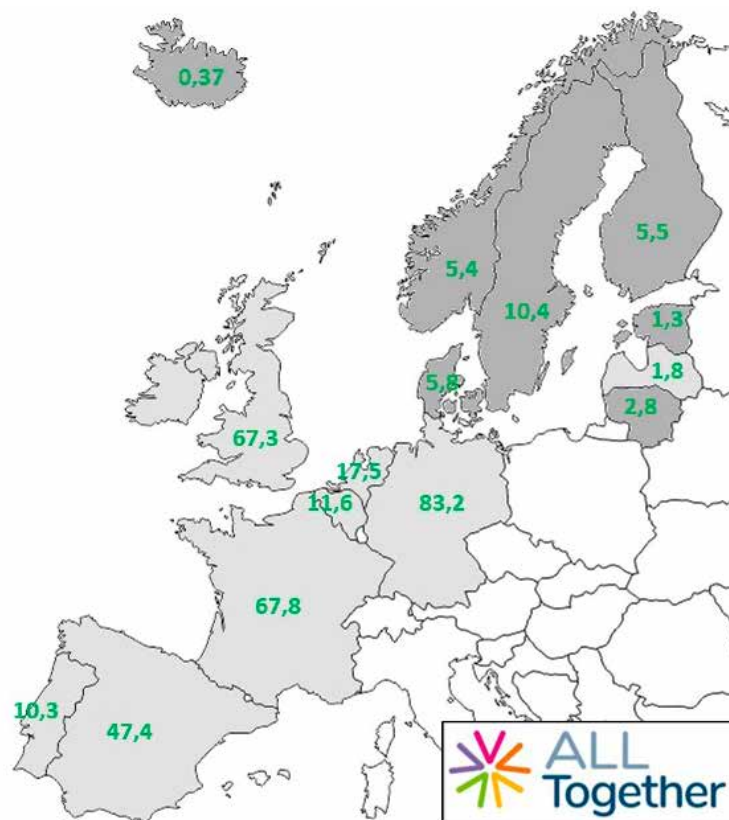
Sellest kohtumisest alates on meid tunnistanud töörühma täieõiguslikeks liikmeteks ja kord aastas toimuvad koosolekud on kujunenud üheks kõige õpetlikumaks ja kasulikumaks tööa laseks kokkusaamiseks. Igal kohtumi sel analüüsitakse põhjalikult läbi kõi kide keskuste kõik patsiendid, kes on protokollis kaasatud. Vaadatakse üle iga

Analüüsid, mida A2G raames igale patsiendile diagnoosimisel tehakse

- **Tsütomorfoloogia** blastide hulga ja liinikuuluvuse hindamiseks
- **Voolutsütomeetria** blastide hulga ja liinikuuluvuse hindamiseks ning MRD jaoks sobivate pinnamarkerite valimiseks
- **Karüotüüp** riskiskoori hindamiseks
- **Tsütogeneetika** (FISH, submikroskoopilised kromosoomi aberratsioonid) riskiskoori hindamiseks
 - ABL klassi fusioonid (ABL1, ABL2, PDGFRB/CSF1R)
 - Deletsioonid, mis haaravad BTG1, CDKN2A/B, EBF1, ETV6, IKZF1, PAX5, RB1 ning PAR1 eksoni täpsusega
 - Translokatsioonid BCR::ABL1, ETV6::RUNX1, TCF3::HLF ja TCF3::PBX1
 - KMT2A-break ja MYC-break ning iAMP21.
- **Ploidsused:**
 - kõrge hüperdiploidia
 - madal hüpodiploidia
 - haploidia
- **Molekulaargeneetika** riskiskoori hindamiseks ja MRD jaoks sobivate DNA piirkondade valimiseks
 - Hematoloogiliste kromosoomi aberratsioonide mRNA paneel eristamaks 28 kromosomaalset translokatsiooni ning 145 võimalikku murrupunkti
 - Somaatiliste geenimutatsioonide paneel (54 geeni NGS)
 - Ig/TCR markerite sõeluuring RQ-PCR-iga
- **TPMT aktiivsuse ja genotüübi** määramine ravi toksilisuse ennetamiseks

Analüüsid, mida A2G raames igale patsiendile haiguse jälgimisel ravi käigus (MRD hindamine) tehakse

- **Voolutsütomeetria** tundlikkusega 0,001%
- **Ig/TCR RQ-PCR** tundlikkusega 0,001%



Joonis 1. Euroopa kaart: A2G-ga liitunud või liituvate riikide joonis koos rahvaarvuga (Maailmapanga 2021 a andmed), tumedama halliga on NOPHO2008 riigid.

patsiendi eelnevalt sisestatud andmed, kui vaja, siis vaieldakse, täpsustatakse, korrigeeritakse ja muudetakse.

PCR-i töögrupp

PCR-i töögrupp sai Eesti töökoordinaatori alles aastal 2022, selleks on ühendlabori laboriarst Maria Keernik. Kuigi NOPHO nõute järgi me hetkel Eestis Ig/TCR RQ-PCR-i (alleelspetsiifiline reaalarja PCR) ei tee, sest analüüs on patsiendipõhine ja juhtumite hulk aastast väike, on töögrupis osalemine haiguse diagnostika ja jälgimise suhtes väga oluline. Peame tagama analüüsiks piisava koguse kvaliteetset algmaterjali, DNA-d, ja suutma interpreteerida RQ-PCR-i tulemusi. Olles suhteliselt stabiilne ning kergesti transporditav materjal, saadame kohapeal eraldatud DNA Turu ülikooli haigla laborisse.

NOPHO kasvab

Ajaga on NOPHO kasvanud. Algsed ALL raviprotokollid olid orienteeritud lastele, kuid kuna laste ravitulemused

olid täiskasvanutest oluliselt paremad, otsustati hakata sama lähenemist katsetama ka noortel täiskasvanutel (kuni 45-aastased k.a). NOPHO2008 protokoll kaasab noored täiskasvanud juba ametlikult uuringusse. Eesti noori täiskasvanuid hakati selle protokolliga järgi ravima alates aastast 2011.

NOPHO koostöökogemus ja ravitulemused on osutunud väga heaks. Ägeda lümfoblastleukeemiahaigete 5 aasta elulemus on aastatega paranenud, olles laste puhul ca 90% ning täiskasvanutel ca 70%. (2) Siiski on igal vähivahel kaks poolt: alaravimine ning potentsiaalne haiguse tagasitulek (retsidiiv) ja üleravimine ning sellest tulenevad tervisekahjustused, mis võivad lõppeda letaalselt.

Kuidas leida tasakaal? See küsimus on viinud mitmete Euroopa ALL uurin-
gugruppide koostöö intensiivistamisele. Laboratoorse peendiagnostika arenguga ilmuvad haiguse sees uued alatüübid, mille kohta üldisema teabe saamiseks on senised valimid liiga väikesed.

Aastal 2015 alustasid NOPHO, UKALL (Suurbritannia) ja DCOG (Holland) uuringugrupid uue laste ja noorte täiskasvanute ALL-haigete ravi- ja diagnostikaprotokolli loomist, koondnimetusega ALLTogether (A2G, *A Treatment study protocol of the ALLTogether Consortium for children and young adults (0–45 years of age) with newly diagnosed acute lymphoblastic leukaemia ALL*).

Ühtse konsensusliku protokoll koostamine võttis aega aastaid. Uus A2G protokoll valmis 2019. a ning aja jooksul on A2G konsortsiumiga liitunud või liitumissoovi avaldanud Saksa, Belgia, Prantsusmaa, Iirimaa, Portugali, Hispaania, Läti ja Küprose uuringugrupid, mille tulemusena on Põhja- ja Baltimaade ca 30-miljonilise elanikuga valimist saamas 10 korda suurem projekt. Eesti moodustab kohordist 0,4% (vt joonis 1).

Hea ravi põhineb heal diagnostikal

Kaasaegne vereloomekasvajate alaliigitus on väga lai. Diagnostikameetodite arenedes avastatakse rohkem prognostiliselt ja diagnostiliselt olulisi subtüüpe. Rakkude morfoloogia alusel saab eristada ägedaid müeloidseid ja lümfoblastseid leukeemiaid, immuunfenotüübiga (voolutsütomeetria, immuunhistokeemia) kinnitatakse ja täpsustatakse morfoloogiline leid. Karüotüübi ja geneetiliste uuringutega (FISH, CMA, PCR, NGS) hinnatakse vähirakkude riskiskoori ehk kõrgem risk tähendab intensiivsemat ravi. Oluline on määrata kasvaja subtüüp võimalikult täpselt ning seejärel rakendada sobiv ravimeetod.

Diagnoosifaasiga labori roll siiski ei lõpe. Patsiendil algab pikk ja raske raviteekond, mille kindlatel etappidel on vaja uuesti määrata järelejäänud kasvajakasvade hulk ehk mõõdetav residuaalhaigus (MRD) ning vastavalt vajadusele ravi korrigeerida. Selliseks täppisanalüüsiks on sobilikud voolutsütomeetria ja kvantitatiivne Ig/TCR RQ-PCR. MRD-d määratakse ravi jooksul sõltuvalt riskigrupist korduvalt ning see on oluline etapp raviprot-

Kommentaar

Sellise suuremahulise uuringu- ja raviprotokolli nagu ALLTogether käimalükkamine on väga töömahukas ja keeruline protsess. Mul on suur rõõm, et laboris töötavad kolleegid on leidnud lahendused võimaldamaks Eestil selles osaleda, sest diagnostika iga lüli on väga oluline.

Siinkohal suur tänu kõigile, kelle kiire reageerimine, õppimis- ja kohanemisevõime jätkuvalt pea iga patsiendiga avalduvad. Koostöös suurepärase inimestega on kõik võimalik.

Dr Kristi Lepik

sessist. Alati jääb oht, et haigus tuleb tagasi ja mida varem kolle avastatakse, seda suurem on tervistumise tõenäosus. Samal ajal tuleb vältida ka üleravimist.

Logistilised keerdkäigud

Labori jaoks ongi ehk A2G protokoll juures kõige suurem väljakutse proovimaterjali jagamine. On üsna selge, et väikeselt leukeemiahaigelt patsiendilt ei ole võimalik võtta nii palju materjali, kui labor tavaliselt vajab. Sestap oleme muutnud analüüside tellimissüsteemi selliseks, et laboritel oleks näha, mis materjal ja kuhu on liikunud, et vajadusel väärtuslikke materjaliraasukeid jagada. Väga hea koostöö TLH, TÜK-i ja PERH-i hematoloogide ning voolutsütomeetria, tsütogeneetika ja molekulaardiagnostika laborite vahel on taganud selle, et ükski analüüs ei ole materjali puudusel tegemata jäänud.

Teine koostöökoht on info liikumine, sest TLH ja PERH-i patsientide morfoloogilised ja voolutsütomeetrilised esmasuuringud tehakse PERH-is ning samaaegselt saadetakse proovimaterjalid TÜK-i geneetilisteks ja molekulaargeneetilisteks uuringuteks. Mõlema haigla analüüside vastused on osaliselt teise tulemusest sõltuvad, kuid Eesti kahe kõige suurema haigla infosüsteemid omavahel ei suhtle. Seetõttu tuleb mõlemal osapoolel tervikliku vastuse

formeerimiseks kasutada vanamoodsat, kuid hästi toimivat telefoniabi, mille tubli pluss on isiklike kontaktide tekkimine-hoidmine.

Tallinna proovide Tartusse saatmisel lisandub veel logistika ja proovimaterjali säilivuse probleem. Karüotüübi määramiseks vajalikud leukeemilised rakud on nii õrnad, et eduka tulemuse saavutamiseks tuleb tööd alustada 24 tunni jooksul. Siinkohal tuleb jällegi kiita koostööd kõikide hematoloogidega, kes annavad teada igast patsiendist ja tema proovimaterjalidest selleks, et labor saaks jälgida kõikide vajalike analüüside tööle saamist ning varakult arvestada öhtuste ületundidega.

Mida kokkuvõtvalt öelda?

Vereloomehaiguste diagnostika hõlmab tänapäeval väga mitmeid laboratoorseid meetodeid, millest ehk mõned osaliselt isegi dubleerivad teineteist, kuid kuna haiguse alatüüpe on palju ja piirid pole iga kord nii mustvalged, on iga infokild oluline. Tuleb läheneda loovamalt, kui ehk rutiinlaborianalüüsilt eeldatakse, jagada vajadusel materjalijääke ning arutleda ebatüüpiliste leidude üle nii raviarstide kui kolleegidega teisest diagnostikavaldkonnast ning hiljem see info ka andmebaasi dokumenteerida. Iga uue juhtumiga kaasneb suur hulk ajamahukat, väljakutset pakkuvat, põnevat ja suures plaanis olulist tööd.

Vaatamata Eesti väikese rahvaarvule ning leukeemiajuhtumite vähesusele väärivad ka meie patsiendid heal tasemel ravi. NOPHO-s ja nüüd suures A2G konsortsiumis osalemine on andnud ja annab ka edaspidi meile väärtuslikke erialaseid kontakte, kogemusi ning kõige tähtsama – kindlustunde, et see, mida teeme, on tänaste teadmiste juures parim võimalik. 🧡

Viited

1. <https://www.nopho.org/organization/history/NOPHO%20history%20SIOPE%20news%202014-02.pdf>
2. Toft, N., Birgens, H., Abrahamsson, J. et al. Results of NOPHO ALL2008 treatment for patients aged 1–45 years with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2018; 32: 606–615. <https://doi.org/10.1038/leu.2017.265>