



LASTEN AKUUTTI LYMFATINEN LEUKEMIA JA NOPHO – ALL 2008 -HOITO-OHJELMA

Selvitys NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelmasta Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion henkilökunnan käyttöön

Emmi Hirvelä
Jenni Oravala
Krista Pesu

Opinnäytetyö
Marraskuu 2009
Bioanalytiikan koulutusohjelma
Pirkanmaan ammattikorkeakoulu

TIIVISTELMÄ

Pirkanmaan ammattikorkeakoulu
Bioanalytiikan koulutusohjelma
K06MBIOAN

HIRVELÄ, EMMI & ORAVALA, JENNI & PESU, KRISTA:

Lasten akuutti lymfaattinen leukemia ja NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma:
Selvitys NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmasta Pirkanmaan sairaanhoitopiirin
Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion henkilökunnan käyttöön.

Opinnäytetyö 103 s., liitteet 41 s.
Syyskuu 2009

Tämän opinnäytetyön tehtävänä oli tuottaa selvitys lasten akuutin lymfaattisen leukemian (ALL) NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmasta. Selvitys syntyi opinnäytetyön tuotoksena. Tarkoituksena oli tutustua kyseiseen hoito-ohjelmaan ja selvittää, mikä merkitys sillä on laboratoriolle. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratoriolle oli tarve saada laboratoriohoitajiensa käyttöön kirjallinen tietopaketti hoito-ohjelmasta. Alkuperäinen hoito-ohjelma on saatavilla vain englanninkielisenä ja se sisältää paljon tietoa, jolla on vähäisempi merkitys laboratorion toiminnalle. Tavoitteena on, että selvitys helpottaa laboratoriohoitajien tutustumista NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmaan.

Tämä opinnäytetyön toteutettiin toiminnallisena opinnäytetyönä. Teksti pohjautuu ammatilliseen kirjallisuuteen ja sitä täydennettiin muun muassa asiantuntija-haastatteluilla ja koulutuksessa saaduilla tiedoilla. Opinnäytetyön ensimmäinen osa on raporttiosuus, joka käsittelee lasten ALL:ää, sen diagnosointia sekä NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmaa. Raporttiosuus sisältää myös opinnäytetyön prosessin kuvauksen.

Opinnäytetyön toinen osa on tuotos, joka sisältää tietoa aiemmista NOPHO ALL -hoito-ohjelmista sekä esittelee muutamia suurimpia hoito-ohjelmissa tapahtuneita muutoksia. Selvitys keskittyy käsittelemään uusimman, vuoden 2008 hoito-ohjelman riskiryhmiä ja lasten ALL:n hoidon kulkua. Selvityksessä pyritään painottamaan laboratorion näkökulmaa osana ALL-potilaan hoitoketjua.

Selvityksen loppuun liitettiin sanakirja, sillä hoito-ohjelmaa käsittelevä teksti sisältää paljon vierasperäisiä sanoja ja lyhenteitä. Sanakirjan tarkoitus on tarjota apua selvityksen lukemiseen. Siitä toivotaan olevan hyötyä myös luettaessa hematologian laboratorion käytössä olevaa alkuperäistä englanninkielistä NOPHO – ALL 2008 protocol -kansiota. Jatkotutkimusaiheena ehdotamme samantapaista opinnäytetyötä sairaanhoitajan näkökulmasta.

Avainsanat: NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma, lasten akuutti lymfaattinen leukemia, riskiryhmä, jäännöstauti

ABSTRACT

Pirkanmaan ammattikorkeakoulu
Pirkanmaa University of Applied Sciences
Degree Programme in Biomedical Laboratory Technology
K06MBIOAN

HIRVELÄ, EMMI & ORAVALA, JENNI & PESU, KRISTA:
Acute Lymphoblastic Leukemia in Children and NOPHO – ALL 2008 protocol: The Report of NOPHO – ALL 2008 Protocol for Pirkanmaa Hospital District's Hematology Laboratory at Centre for Laboratory Medicine.

Bachelor's thesis 103 pages, appendices 41 pages
September 2009

The purpose of this Bachelor's thesis was to produce a report on NOPHO – ALL 2008 protocol. The original protocol is a treatment protocol for children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). It is written in English and includes a lot of information which isn't necessary for Laboratory Technicians to know. The Pirkanmaa Hospital District's Hematology Laboratory at Centre for Laboratory Medicine needed a concise report on the NOPHO – ALL 2008 protocol. The aim was that the Laboratory Technicians of hematology laboratory could read the report if they wanted some basic knowledge of the protocol.

This Bachelor's thesis had a functional approach. The first part of the thesis covers the theoretical frame of reference. It included information on diagnosing children's ALL and NOPHO – ALL 2008 protocol. The second part was the actual product, the report. It included information on earlier protocols created by NOPHO organization and introduced the biggest changes made in the most recent protocol. It also introduced risk groups and treatments used in NOPHO – ALL 2008 protocol.

The protocol contains a lot of terms of foreign origin and abbreviations. Therefore a glossary was enclosed at the end of the report. It is useful when reading the report and the original protocol written in English.

Key words: NOPHO – ALL 2008 protocol, acute lymphoblastic leukemia in children, risk grouping, minimal residual disease

SISÄLLYS

| | |
|---|----|
| 1 JOHDANTO | 6 |
| 2 LASTEN AKUUTTI LYMFATTAANEN LEUKEMIA | 8 |
| 2.1 Etiologia..... | 10 |
| 2.2 Kliiniset oireet ja löydökset | 11 |
| 2.3 Näytemuodot | 13 |
| 2.4 Laboratoriolöydökset | 16 |
| 2.5 Ennuste | 17 |
| 2.6 Jäännöstauti | 18 |
| 2.7 Neuroleukemia | 19 |
| 3 AKUUTIN LYMFATTAANEN LEUKEMIAN DIAGNOSOINTIMENETELMÄT | 21 |
| 3.1 May-Grünwald-Giemsa (MGG) -värjäys | 21 |
| 3.2 Virtaussytometria..... | 22 |
| 3.2.1 Virtaussytometrian periaate | 24 |
| 3.2.2 Lymfosyyttien ilmentämät antigeenit | 27 |
| 3.2.3 Immunofenotyyppitys | 30 |
| 3.2.4 Immunofenotyyppityksen käyttö jäännöstautidiagnostiikassa | 31 |
| 3.2.5 Immunofenotyyppitys mikroskopoimalla | 32 |
| 3.2.6 Vasta-aineiden CD-luokittelu ja vasta-ainepaneelit..... | 33 |
| 3.3 Syto- ja molekyylogenetiikka | 35 |
| 3.3.1 Syöpägeenin synty ja kromosomipoikkeavuudet | 36 |
| 3.3.2 Translokaatio ja deleetio | 37 |
| 3.3.3 Kromosomiviljely | 38 |
| 3.3.4 <i>in situ</i> -hybridisaatiomenetelmät | 39 |
| 3.3.5 Polymeraasiketjureaktio eli PCR..... | 40 |
| 3.3.6 Molekyylikaryotyyppitys | 44 |
| 3.4 Sytokemialliset värjäykset | 46 |
| 4 LASTEN AKUUTIN LYMFATTAANEN LEUKEMIAN ALARYHMÄT JA LUOKITTELU | 49 |
| 4.1 Immunologinen luokittelu..... | 49 |
| 4.2 Syto- ja molekyylogeneettinen luokittelu..... | 51 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.3 | Morfologinen luokittelu..... | 54 |
| 4.4 | Luokittelu WHO:n mukaan..... | 58 |
| 5 | NOPHO ALL -HOITO-OHJELMA..... | 60 |
| 5.1 | Hoito-ohjelman historiaa..... | 60 |
| 5.2 | NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma | 62 |
| 5.2.1 | Hoito-ohjelman aikataulu | 64 |
| 5.2.2 | Vuoden 2008 hoito-ohjelmaan mukaan otettavat potilaat | 65 |
| 5.2.3 | NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman mukaiset riskiryhmät | 66 |
| 5.2.4 | Potilaiden rekisteröinti..... | 68 |
| 5.2.5 | Hoidon aikaiset tutkimukset | 69 |
| 5.2.6 | Hoidon kulku | 73 |
| 5.2.7 | Randomisaatio | 78 |
| 5.3 | Hoito-ohjelmissa tapahtunut muutos | 80 |
| 6 | OPINNÄYTETYÖN TEHTÄVÄ, TARKOITUS JA TAVOITTEET | 82 |
| 7 | TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ MENETELMÄNÄ..... | 83 |
| 7.1 | Toiminnallisen opinnäytetyön suunnitteluvaihe | 84 |
| 7.2 | Toteutus | 87 |
| 8 | SELVITYS LASTEN NOPHO – ALL 2008 -HOITO-OHJELMASTA..... | 90 |
| 9 | POHDINTA | 91 |
| | LÄHTEET | |
| | LIITE 1: SANASTOA | |
| | LIITE 2: TULOSTE FACSCANTO II -VIRTAUSSYTOMETRILTA | |
| | LIITE 3: SELVITYS LASTEN NOPHO – ALL 2008 -HOITO-OHJELMASTA | |

1 JOHDANTO

Lapsuusiän leukemiaan sairastuu Suomessa vuosittain 40–50 lasta, joista 85 % sairastaa akuuttia lymfaattista leukemiaa. Kaikki sairastuneet hoidetaan Suomessa kansainvälisten hoitosuosituksen mukaisesti yliopistollisissa sairaaloissa. (Vettenranta 2009.) Hematologian laboratorio on keskeisessä osassa leukemioiden diagnosoinnissa ja hoidon seurannassa. Diagnostiikka aloitetaan May-Grünwald-Giemsa (MGG) -värjätyyn perifeerisen veren sivelyvalmisteen mikroskopoinnista ja varsinainen leukemian alaluokitus tapahtuu muun muassa virtausytometrian avulla. Hoidon seuranta puolestaan perustuu nykyään pitkälti jäännöstaudin virtausytometriseen seurantaan.

Hematologian laboratoriossa virtausytometrilaitteella tehtävät jäännöstautilylyysit ovat osa hoitoketjua, jonka perusteella potilaan hoitoa ohjataan. NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman mukaisesti seurantanäytteitä otetaan yhdeltä potilaalta hoidon aikana useita. Näytteiden tulee olla otettuina ja analysoituina tiettyinä ajankohtina, jotta hoito-ohjelmaa voidaan potilaan osalta toteuttaa. Laboratorion henkilökunnalla on hyvä olla käytössään selvitys, josta käy ilmi mitä näytteitä milloinkin tarvitaan, ja milloin niiden on oltava analysoituna. Selvitys antaa henkilökunnalle myös lisätietoa aiemmista NOPHO – ALL -hoito-ohjelmista ja uuden hoito-ohjelman perusteista.

Opinnäytetyömme aiheena on laatia selvitys uudesta lasten lymfaattisen leukemian hoitoon käytettävästä NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmasta hematologian laboratorion henkilökunnan käyttöön. Selvityksen tavoitteena on helpottaa laboratorion henkilökunnan tutustumista hoito-ohjelmaan. Saimme aiheen Pirkanmaan sairaanhoito-piirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratoriosta laboratoriohoitaja Leena Pankolta. Alkuperäinen hoito-ohjelman ohjeistus sisältää paljon varsinaista hoitohenkilökuntaa koskevaa tietoa muun muassa lääkehoidoista ja lääkkeiden annosteluista. Tällä tiedolla ei ole suurta merkitystä laboratorion toiminnalle, joten olemme jättäneet työstämme pois lääkitystä käsittelevät osiot.

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma on tarkoitettu pääasiassa lasten akuutin lymfaattisen leukemian hoitoon osallistuvalla hoitohenkilökunnalla. Selvitys sisältää paljon vierasperäisiä ja hankalia termejä, jotka eivät välttämättä ole tuttuja lukijalle. Tästä syystä olemmekin liittäneet työhömmme sanakirjan, johon olemme koonneet hankalimpia termejä. Toivomme, että sanakirjasta on hyötyä myös alkuperäistä hoito-ohjelman ohjeistusta lukiessa. Kaikkia termejä ei ole mahdollista suomentaa, joten olemme käyttäneet työssämme näiden termien vierasperäistä vastinetta.

2 LASTEN AKUUTTI LYMFAATTINEN LEUKEMIA

Akuutti leukemia on yhdestä varhaisesta kantasolusta lähtöisin oleva pahanlaatuinen verisairaus. Sille on ominaista, että normaalien verisolujen muodostuminen on estynyt, ja epäkypsät solut eli blastisolut lisääntyvät luuytimessä hallitsemattomasti. Luuytimeistä nämä pahanlaatuiset solut leviävät vereen ja muualle elimistöön. Vaikka jokainen leukemia kehittyy eri tavalla, on leukeemisille soluille yleensä yhteistä, että ne syrjäyttävät luuytimen normaalin solutuotannon ja voivat tunkeutua muihin elimiin. (Leclair 2002b, 451; Elonen 2007, 285.) Leukemia voi levitä esimerkiksi keskushermostoon, jolloin sitä kutsutaan neuroleukemiaksi. Sen toteaminen muuttaa potilaan hoitoa. (Elonen 2007, 292, 303.) Jos leukemiaa ei hoideta, se voi lopulta aiheuttaa henkilön kuoleman (Leclair 2002b, 451).

Akuutit leukemiat jaotellaan myeloiisiin ja lymfaattisiin. Molemmilla on useita alatyyppejä, joilla on omat biologiset ja kliiniset piirteensä. (Elonen 2007, 285.) Akuutti lymfaattinen leukemia (ALL) on yleisin lasten leukemioista. Suomessa todetaan vuosittain noin 40–50 tapausta. Akuutti myeloinen leukemia (AML) on lapsilla selvästi harvinaisempi kuin ALL. Krooninen myeloinen leukemia (KML) on lasten leukemioista harvinaisin. (Dewald & Ketterling 2005, 932–933; Pihkala 2007, 613.)

Akuutin lymfaattisen leukemian diagnosointi alkaa yleensä oireiden mukaisesta epäilystä (Bain 2003, 3). Leukemian diagnosointi lähtee liikkeelle täydellisen verenkuvan tutkimisesta, jossa havaittavat poikkeavuudet vahvistavat leukemiaepäilyä (Leukemia 2009). Kun lapsipotilaalla epäillään leukemiaa, on hänet välittömästi lähetettävä diagnostisiin tutkimuksiin yliopistolliseen keskussairaalaan lasten hematologian yksikköön. Ensisijaisena tutkimuksena on tehtävä luuydintutkimus. Lapsen leukemiaepäilyssä tulisi lääkärin kiinnittää erityistä huomiota siihen, kuinka epäily sairaudesta tulisi esittää vanhemmille, sillä leukemian laaja ja suuresti vaihteleva oireisto voi liittyä lievempäänkin sairauteen.

Lääkäriin on esimerkiksi sopivaa sanoa vanhemmille epäilevänsä veritautia, jonka vuoksi lapsi lähetetään jatkotutkimuksiin. (Pihkala 2007, 615–616.)

Akuuttien leukemioiden luokitus perustuu kolmeen erilaiseen tutkimuskokonaisuuteen, jotka ovat morfologia, virtausytometrinen immunofenotyyppitys eli solujen pintamerkkitutkimus sekä sytogeneettiset ja molekyylibiologiset tutkimukset (Mäntymaa 2002, 7). Leukemiadiagnostiikka on kehittynyt viime vuosina valtavasti, mutta morfologinen tutkimus on kuitenkin säilyttänyt asemansa ensisijaisena tutkimusmenetelmänä ALL:n diagnosoinnissa (Mäntymaa 2002, 7). Morfologinen tutkimus suoritetaan mikroskopoimalla ja tunnistamalla solujen kehitysasteita (Pankko 2009). Joskus diagnostiikan apuna voidaan käyttää myös sytokemiallisia värjäyksiä (Mäntymaa 2002, 7; Pankko 2009). Ne ovat kuitenkin harvinaisia ja esimerkiksi Turun ja Helsingin yliopistollisissa sairaaloissa niitä ei käytetä lainkaan tässä tarkoituksessa (Pankko 2009).

Virtausytometrialla selvitetään, onko kyse akuutista lymfaattisesta vai akuutista myeloisesta leukemiasta. Menetelmällä selvitetään myös blastien kypsyysasteet ja tutkitaan esiintyykö näytteessä poikkeavia eli aberrantteja solumuotoja. (Pankko 2009.) Virtausytometrialla tehdään lisäksi ALL:n tarkempi alaluokittelu. Sen avulla saadaan selville, onko kyseessä B-solulinjainen vai T-solulinjainen ALL. Sytogeneettinen analyysi on edelleen perusedellytys ALL:n diagnoosille, sillä se antaa tärkeää tietoa potilaan ennusteesta. Molekyylibiologisten tutkimusten merkitys on lisääntynyt viime vuosina. Niillä saadaan tietoa kromosomitason muutoksista ja niiden vaikutuksista hoidon valintaan. (Hoelzer & Gökbuget 2005, 1175; Mäntymaa 2002, 7.) Edellä mainituista tutkimuskokonaisuuksista saatujen tulosten perusteella potilaalle annetaan lopullinen diagnoosi. Tutkimusten tarkoituksena on saada tarkka diagnoosi oikean hoidon aloittamiseksi, taudin ennusteen arvioimiseksi sekä tautisolukon tyypittämiseksi myöhempää jäännöstautiseurantaa varten. (Mäntymaa 2002, 7.)

2.1 Etiologia

Leukemian etiologiaa ei tunneta. Kyseessä on monesta eri tekijästä johtuva sairaus. Sen syntyyn tarvitaan jokin altistava tekijä sekä virhe elimistön puolustusmekanismeissa. Aiheuttajiksi on epäilty muun muassa virusinfektioita ja kemikaaleja. Näiden osuudesta nimenomaan lasten leukemioiden syntyyn ei kuitenkaan ole selvää näyttöä. Ympäristötekijöistä ionisoivan säteilyn on todistettu aiheuttavan leukemiaa. (Salmi & Perkkiö 2000, 366; Hoelzer & Gökbuget 2005, 1176–1177; Pihkala 2007, 613, 615.) Säteilyn vaikutuksista leukemian syntyyn on saatu näyttöä muun muassa Japanissa, jossa väestön keskuudessa esiintyi selvä piikki leukemiaan sairastuvuudessa 6–7 vuotta atomipommien jälkeen. Toisaalta taas samanlaista näyttöä ei ole kuitenkaan saatu Tshernobylin ydinvoimalaonnettomuuden jälkeen. (Hoelzer & Gökbuget 2005, 1177.)

Lasten ALL ei varsinaisesti periydy, mutta on todettu, että geneettisillä tekijöillä on merkitystä. Muun muassa ALL:n familiaalisesta esiintymisestä on näyttöä. Jos toinen identtisistä kaksosista sairastuu ALL:ään, tiedetään että toisen kaksosen riski sairastua on 25 %. (Berg, Steuber & Poplack 2005, 1155; Hoelzer & Gökbuget 2005, 1177; Pihkala 2007, 614.) Lisäksi leukemiapotilaiden sisaruksilla on noin nelinkertainen riski sairastua tautiin (Lanzkowsky 2005, 416). Suurimmassa osassa lasten leukemiatapauksista ei ole kyse perinnöllisestä, vaan yhdessä tai useammassa geenissä tapahtuvasta muutoksesta, kuten mutaatiosta (Lanzkowsky 2005, 416). Viime vuosien aikana on noussut esille teoria, jonka mukaan leukemia voisi saada alkunsa lapsessa jo ennen tämän syntymää (Pihkala 2007, 614).

Tiedossa on myös joukko periytyviä sairauksia, joihin liittyy suurentunut riski sairastua leukemiaan (Pihkala 2007, 614). Näitä ovat esimerkiksi Bloomin oireyhtymä, johon liittyy muun muassa lyhytkasvuisuutta ja kasvojen punoitusta. Bloomin oireyhtymää sairastavista potilaista noin 20 % sairastuu leukemiaan. (Viitapohja 2007a.) Myös Fanconin anemiaa liittyy riski sairastua leukemiaan. Fanconin anemiaan liittyy laaja oireisto, kuten alhainen syntymäpaino, sydänviat, peukaloiden epämuodostumat, luuston kasvuhäiriöt, anemiat ja verenvuoto.

(Klosinski 2002, 246; Viitapohja 2007b.) Ataxia-teleangiectasiaa (liite 1) sairastavilla lapsilla on myös kohonnut riski sairastua ALL:ään (Hoelzer & Gökbuget 2005, 1177; NOPHO – ALL 2008. 2008a, 99). Näillä potilailla esiintyy muun muassa soluvälitteisen immunitetin puutteellista toimintaa ja kilpirauhasen toimintahäiriöitä (Beglinger 2004, 414–415). Eräissä immuunipuutostiloissa ja Downin oireyhtymää sairastavilla on todettu suurentunut riski sairastua leukemiaan. (Pihkala 2007, 614.)

2.2 Kliiniset oireet ja löydökset

Oireiden aiheuttajina ALL:ssä ovat yleensä leukeemisten solujen lisääntyminen luuytimessä sekä niiden leviäminen imusuonistoon ja muualle luuytimen ulkopuolelle. Ne voivat saada aikaan spesifejä oireita, mutta yleisempää on, että oireet ovat epäspesifejä. (Lanzkowsky 2005, 416–417.) Kliinisten oireiden ja löydösten aiheuttaman epäilyn myötä lapsi lähetetään tarkempiin laboratorio-tutkimuksiin, joista saatujen tulosten perusteella diagnoosi voidaan varmistaa. Taulukossa 1 (s. 12) on esitetty yleisimmät kliiniset oireet ja löydökset. (Pihkala 2007, 615–616.)

TAULUKKO 1. ALL:n oireet ja niiden esiintymistiheys (mukailen Pihkala 2007, 615)

| Kliiniset oireet ja löydökset | Esiintymistiheys prosentteina (%) kaikista ALL:ään sairastuneista lapsista |
|-------------------------------|--|
| Pahoinvointi ja uupumus | 50 |
| Kuumeilu ja infektiot | 43 |
| Kalpeus | 39 |
| Hepatosplenomegalia | 36 |
| Luukivut ja nivelkivut | 31 |
| Vuototaipumus | 24 |
| Ekkymoosit, petekiat | 24 |
| Anoreksia | 17 |
| Lymfadenopatia | 12 |
| Vatsan alueen kivut | 9 |
| Keskushermosto-oireet | 3 |

Yleisimpiä oireita ALL:ssä ovat: uupumus, kalpeus, kuume, infektiot, päänsärky, pahoinvointi ja oksentelu. Yleensä lapsi sairastuu kuumeiseen infekioon, joka paranee huonosti. Tyypillisiin oireisiin kuuluvat osalla potilaista esiintyvät luu- ja nivelkivut, jotka aiheuttavat jalka- ja selkäsärkyä. Pienillä lapsilla ne voivat ilmetä jopa ontumisena tai kävelemättömyytenä. Nämä kivut johtuvat leukeemisten solujen infiltraatiosta kudokseen. (Leclair 2002a, 459; Lanzkowsky 2005, 416; Turgeon 2005, 257; Pihkala 2007, 615.) Vuototaipumus aiheuttaa nenäveren- vuotoja, mustelmia eli ekkymooseja sekä pieniä punaisia pisteitä eli petekioita iholle. Nämä viittaavat anemiaan ja trombosytopeniaan. (Hoelzer & Gökbüget 2005, 1177; Jalanko 2005; Pihkala 2007, 615; Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim 2008.)

Kliinisistä löydöksistä on kiinnitettävä huomiota suurentuneeseen maksaan ja pernaan eli hepatosplenomegaliaan sekä suurentuneisiin imusolmukkeisiin eli lymfadenopatiaan (Leclair 2002a, 459; Hoelzer & Gökbüget 2005, 1177; Pihkala 2007, 615; Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim. 2008). Suurentunut maksa voi aiheuttaa vatsan pömpötystä. Muita oireita, jotka yleensä aiheuttavat lääkärin

vastaanotolle hakeutumisen ovat turvotukset, harvinaisemmat ihottumat sekä rintakipu. (Salmi & Perkkiö 2000, 366–367; Leukemia 2008.)

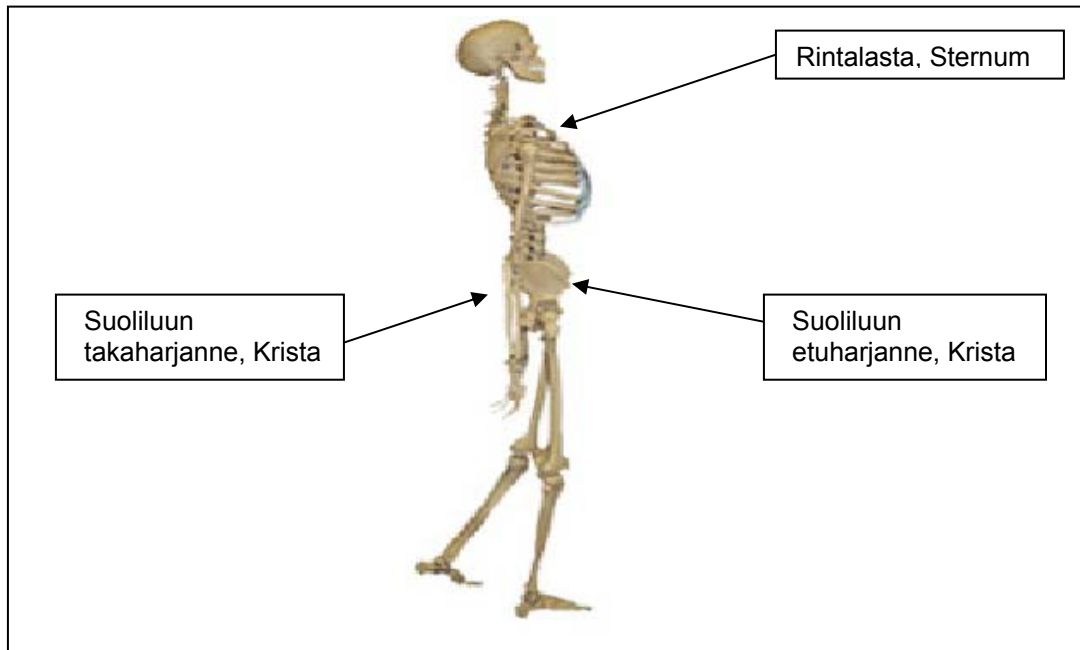
2.3 Näytemuodot

Akuutin lymfaattisen leukemian lopullinen diagnoosi perustuu oireiden sekä veri- ja luuydinnäytteestä tehtävien tutkimusten muodostamaan kokonaiskuvaan. Perifeerisestä verestä otetusta näytteestä tutkitaan diagnoosivaiheessa täydellinen verenkuva, elektrolyytit, maksa-arvot, kreatiniini ja urea. (Ryan & Cohen 2005, 2660; NOPHO – ALL 2008 2008a, 46.) Luuytimeä tehtäviä tutkimuksia ovat May-Grünwald-Giemsan (MGG) –värjäys, rauta (Fe) –värjäys, immunofenotyyppitys sekä syto- ja molekyylogeneettiset tutkimukset. Joissain tapauksissa saatetaan näytteestä tehdä myös sytokemiallisia värjäyksiä. (Ryan & Cohen 2005, 2660; NOPHO – ALL 2008 2008a, 46; Pankko 2009.) Mikäli edustavaa luuydinaspiraattia ei saada, immunofenotyyppitys voidaan tehdä joko luuydinbiopsianäytteestä tai perifeerisestä verestä (Ryan & Cohen 2005, 2660; NOPHO – ALL 2008 2008a, 46). Laboratoriokeskuksen (2006) mukaan jäännöstautiseurantaan (liite 1) soveltuu kuitenkin vain luuydinnäyte.

Luuydinpunctiossa luuytimeä otettava aspiraationäyte sisältää luuydinpartikkeleita ja verta, kun taas biopsia on luuytimen histologinen koepala (Mahlamäki 2004, 282). Aspiraationäytteestä määritetään luuytimen hematopoeettisten solujen morfologiaa, ominaisuuksia sekä solukkuutta. Biopsianäyte tarjoaa toisenlaisen näkökulman ja on hyödyllinen arvioitaessa solukkuutta sekä solujen, rasvan ja tukikudoksen anatomisia suhteita. (Krause 2002, 186.)

Luuydinpunctio otetaan lapsilta aina suoliluun taka- tai etuharjanteesta kristapunctiona. Aikuisilta näyte voidaan ottaa myös rintalastan yläosasta eli sternumista sternaalipunctiona. (Mahlamäki 2004, 282; Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 88.) Näytteenottokohdat ovat esitettynä kuvassa 1 (s. 14) (Tuki- ja liikuntaelimistö: Luusto 2009; Mahlamäki 2004, 282). Jos luuydinpunctio tehdään

sternumista, voidaan ottaa vain aspiraationäyte. Biopsianäytettä ei voida ottaa tästä kohdasta. (Goldberg 2008.)



KUVA 1. Luuydinnäytteenottokohdat (mukaillen Tuki- ja liikuntaelimestö: Luusto 2009; Mahlamäki 2004, 282)

Kristapunktion aikana aikuiset ja osa vanhemmista tai painavammista lapsista makaavat kyljellään. Hyvin nuorilla tai laihoilla potilailla toimenpiteen suorittaminen saattaa olla helpompaa, jos potilas makaa vatsallaan. Tällöin hänen vatsansa ja lantionsa alle voidaan myös asettaa tyyny, jotta potilaan asento saadaan paremmaksi. Sternaalipunktion aikana potilas makaa selällään. (Ryan & Cohen 2005, 2657.)

Oikean näytteenottokohdan valinnan jälkeen alue puhdistetaan huolellisesti antiseptisellä liuksella. Luuydinpunktio tehdään lapsilla nukutuksessa ja aikuisilla paikallispuudutuksessa. Todella levottomat ja pelokkaat vanhemmatkin potilaat saatetaan nukuttaa. (Ryan & Cohen 2005, 2657; Tuokko ym. 2008, 88.) Kun puuduttava aine on alkanut vaikuttaa, lääkäri poraa punktioneulan kiertävällä liikkeellä luuytimeen (Ryan & Cohen 2005, 2657).

Neulan paikoilleen asettamisen jälkeen aspiraationäyte otetaan ruiskulla imien (Ryan & Cohen 2005, 2657). Immunofenotyyppitystä sekä syto- ja molekyyli-geneettisiä tutkimuksia varten luuydinaspiraattia tulisi saada EDTA- tai hepariiniputkeen 1–3 ml. Mikroskopoitavien preparaattien valmistusta varten näytettä ei tule ottaa kuin korkeintaan 0,3–1 ml. (Laboratoriokeskus 2006; Tuokko ym. 2008, 88.) Mitä pienempi aspiroitu näytevolyymi on, sitä vähemmän se kontaminoituu ja laimenee perifeerisellä verellä (Ryan & Cohen 2005, 2657; Tuokko ym. 2008, 88). Jos potilaalta otetaan myös biopsianäyte heti aspiraation jälkeen, tulisi tämä ottaa hieman eri kohdasta. Näytteenoton jälkeen pistokohtaan asetetaan paineside verenvuodon tyrehdyttämiseksi. (Ryan & Cohen 2005, 2657.)

Lääkäri antaa otetut näytteet bioanalyttikolle, joka tarkistaa näytteiden edustavuuden sekä valmistaa niistä preparaattit mikroskooppisia tutkimuksia varten. Luuydinnäytteenoton yhteydessä bioanalyttikon tehtäviin kuuluu myös ottaa potilaasta verinäytteet perifeerisen veren kuvan tutkimusta ja sivelyvalmisteen tekoa varten. Näyte otetaan laskimoverinäytteenä EDTA-putkeen. Sivelyvalmistetta varten näyte voidaan ottaa myös ihopistosverenä kapillaariin. (Mahlamäki 2004, 283; Ryan & Cohen 2005, 2657; Tuokko ym. 2008, 88.)

Neuroleukemian diagnosoinnissa näytteenä käytetään selkäydinnestettä. Näytteenoton ajan potilas makaa kylkiasennossa pää taivutettuna polvia kohti. Lumbaalipunktiossa neula asetetaan selkäydinkanavaan tavallisimmin kolmannen ja neljännen lannenikaman välistä. Selkäydinnestettä eli likvoria tiputetaan aseptisesti suoraan neulasta kolmeen peräkkäiseen numeroituun näyteputkeen sekä bakteeriviljelymaljoille. (Tuokko ym. 2008, 82.) Neuroleukemiaa tutkittaessa näytteestä tehdään solulaskenta sekä leukosyyttien erittelylaskenta ja tutkitaan leukeemiset blastit. Lisäksi voidaan tehdä proteiini- ja glukoosimääritys. Diagnoosivaiheessa tehdään blastien immunofenotyyppitys. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 46; Tuokko ym. 2008, 82.) Mahdollisten lymfoblastien mikroskopoimiseksi solut MGG-värjätään. Värjäystä varten preparaattit valmistetaan sytosentrifugiteknikalla. Mikroskopiointi on ainoa menetelmä, jolla neuroleukemia voidaan

diagnosoida, kun muiden tutkimusten tulokset ovat normaalit. (Berg ym. 2005, 1155–1156.)

2.4 Laboratoriolöydökset

Akuutin lymfaattisen leukemian yhteydessä perifeerisen veren leukosyyttimäärä voi olla kohonnut, normaali tai pienentynyt. Lisäksi blasteja voi esiintyä perifeerisessä veressä hyvin vaihtelevia määriä. (Hoelzel & Gökbuget 2005, 1177; Pihkala 2007, 616.) Blastien määrä riippuu perifeerisen veren leukosyyttimäärästä siten, että leukosyyttimäärän ollessa matala ei blasteja välttämättä esiinny, kun taas perifeerisen veren leukosyyttimäärän suurentuessa blastimäärä kasvaa (Pankko 2009).

On havaittu, että automaattisella solulaskennalla blastisolut eivät aina löydy (Pihkala 2007, 616). Varsinkin pienet lymfoblastit voivat jäädä automaattisella solulaskennalla tunnistamatta, jolloin laite laskee ne lymfosyyteiksi (Pankko 2009). Tämän vuoksi on tehtävä verensivelyvalmiste niillä potilailla, joilla muut oireet antavat viitteitä leukemiasta (Hoelzel & Gökbuget 2005, 1177; Pihkala 2007, 616). Kun automaattisella solulaskennalla saatu leukosyyttimäärä on hyvin korkea, herää vahva leukemiaepäily. Tällöin erittelylaskennassa havaitaan paljon leukeemisia blasteja. Jos potilaalla on matala leukosyyttimäärä ja selvä neutropenia on todettavissa, ei hänen veressään yleensä esiinny blasteja. (Salmi & Perkkiö 2000, 367.) Neutropenia aiheuttaa potilaalle kuumetta, suun limakalvon haavaumia sekä infektioherkkyyttä (Lanzkowsky 2005, 416).

Akuutin leukemian yhteydessä anemia on useimmiten normokrominen ja normosytarinen (Pihkala 2007, 616). Joissakin ALL:n muodoissa tauti on edennyt niin nopeasti, että veren hemoglobiinipitoisuus on vielä viitearvojen sisällä (Salmi & Perkkiö 2000, 367). Anemiasta johtuen potilaalla voi olla esimerkiksi kalpeutta, väsymystä, hengenahdistusta sekä sydänperäisiä oireita, kuten takykardiaa (Hoelzer & Gökbuget 2005, 1177; Lanzkowsky 2005, 416). Suurimmalla osalla

potilaista on jonkin asteista trombosytopeniaa (Leclair 2002, 459; Pihkala 2007, 616). Sen seurauksena voi esiintyä petekioita, helposti muodostuvia mustelmia, verenvuotoja limakalvoilla sekä joskus sisäisiä vuotoja, kuten kallonsisäisiä verenvuotoja (Leclair 2002, 459; Lanzkowsky 2005, 416).

Leukemiaepäily herää jo silloin, kun veren leukosyytit ovat normaalit sekä automaattisessa solulaskennassa että erittelylaskennassa, mutta kahden muun solulinjan arvot poikkeavat normaalista. Akuuttia lymfaattista leukemiaa voidaan epäillä esimerkiksi silloin, kun potilaalla on anemiaa ja trombosytopeniaa. Lisäksi epäilyä vahvistavat muun muassa korkea laskoarvo sekä muut edellä mainitut kliiniset löydökset. (Salmi & Perkkiö 2000, 367; Pihkala 2007, 616.)

2.5 Ennuste

Potilaan ennusteeseen vaikuttaa ensisijaisesti hänen ikänsä ALL:n diagnosointihetkellä, blastien määrä elimistössä sekä leukeemisten solujen immunofenotyyppi. Ennusteeseen saattavat vaikuttaa myös potilaan rotu ja sukupuoli. Myös tietyillä kromosomaalisilla translokaatioilla (katso kappale 5.1.2 Translokaatio) on ennusteellista merkitystä. Kun translokaatio on tunnistettu, voidaan sen perusteella arvioida valitun hoidon lopputuloksia. (Leclair 2002a, 460.)

Paras ennuste on iältään 2–10-vuotiailla lapsipotilailla. Alle 1-vuotiaiden lasten ennuste on huonoin ja 1–2-vuotiaiden lasten, teini-ikäisten sekä nuorten aikuisten ennuste keskiluokkaa. Perifeerisen veren korkea lymfoblastimäärä, hepatosplenomegalia ja lymfadenopatia vaikuttavat kaikki epäsuotuisasti lopputuloksiin ja niitä pidetään korkean riskin tekijöinä. (Leclair 2002a, 460.) Potilailla, joilla todetaan neuroleukemia, on muita huonompi ennuste (Sancho ym. 2006, 3).

2.6 Jäännöstauti

Akuutin leukemian diagnoosivaiheessa potilaalla on arvioitu olevan noin 10^{11} – 10^{12} leukeemista solua. Morfologinen elpymävaihe eli remissio (liite 1) saavutetaan solunsalpaajahoidolla. Se ei kuitenkaan tarkoita sitä, että kaikki leukeemiset solut onnistuttaisiin näin hävittämään elimistöstä. Morfologiseen remissioon päästään, kun luuytimen blastisolujen osuus laskee alle 5 %:n, jolloin niitä on potilaassa korkeintaan 10^9 – 10^{10} . Nämä jäljellä olevat leukeemiset solut voivat kuitenkin aiheuttaa taudin uusiutumisen. Jäännöstaudiksi kutsutaan tätä morfologisessa remissiossa jäljellä olevaa leukemiaa. (Pelliniemi 2002, 8; Tienhaara ym. 2003, 66.)

Jäännöstautia tutkitaan määrittämällä potilaan jäännöstautitasoa eli määrittämällä luuytimessä jäljellä olevien leukeemisten solujen määrää. (Tienhaara ym. 2003, 66; NOPHO – ALL 2008 2008a, 23; Pankko 2009). Analyysi tehdään virtausytometrialla, polymeraasiketjureaktiolla (PCR, Polymerase Chain Reaction) sekä fluoresenssi *in situ* hybridisaatio (FISH) -menetelmällä (Kanerva ym. 2002, 545; Tienhaara ym. 2003, 67). Näiden menetelmien soveltaminen edellyttää, että diagnoosivaiheessa leukeemiset solut on tarkoin tutkittu. Leukeeminen solu voi taudin edetessä muuntua, joten on suositeltavaa käyttää useampaa menetelmää jäännöstaudin mittaamiseen. (Tienhaara ym. 2003, 67.)

Jäännöstautitasoa aletaan määrittää jo heti hoidon alkaessa. Sillä on todettu olevan huomattavasti suurempi ennusteellinen merkitys kuin perinteisillä taudin ennusteen arviointiin käytetyillä menetelmillä, kuten veren leukosyyttimäärällä, iällä tai sytogeneettisellä analyysillä. (Irving ym. 2009, 127.) Merkittävimmät jäännöstautitason määrittämisen ajankohdat ovat: ensimmäisen hoitovaiheen jälkeen, hoitopäivänä 15 sekä koko hoidon päätyttyä (Kanerva ym. 2002, 545). Käytännössä jäännöstautianalyysi tehdään hoitopäivän 15 jälkeen aina, kun potilalle tehdään luuydinpunctio (Pankko 2009). Näiden jäännöstautitasotulosten perusteella voidaan suunnitella potilaan yksilöllistä hoitoa sekä arvioida jo varhaisessa vaiheessa uuden hoidon tehokkuutta. Jäännöstautia tutkitaan, jotta

leukemian mahdollinen uusiutuminen voitaisiin ennustaa tai todeta taudin uusiutuminen mahdollisimman varhaisessa vaiheessa. (Pelliniemi 2002, 9; Tienhaara ym. 2003, 67.)

2.7 Neuroleukemia

Akuutti lymfaattinen leukemia on koko elimistön tauti, joten se voi levitä luuytimeistä muihin elimiin. Yleensä selkäytimenulkoinen eli ekstramedullaarinen leukemia leviää keskushermostoon, kiveksiin, imusolmukkeisiin, maksaan, pernaan tai munuaisiin. Näistä keskushermostoon levinneellä leukemialla eli neuroleukemialla ja kivesleukemialla on suurin kliininen merkitys. Potilailla on neuroleukemia joskus jo diagnoosivaiheessa. Useimmiten se kuitenkin ilmaantuu vasta relapsivaiheessa hoitojen jo loputtua. (Berg ym. 2005, 1155; Elonen 2007, 291.)

Leukemian oletetaan leviävän keskushermostoon veren kautta, siten että perifeerisen veren leukeemiset solut pääsevät kosketuksiin aivokalvon tai selkäydinkalvon kanssa. Leukemia voi levitä keskushermostoon myös kallon alueen luuytimeistä. (Berg ym. 2005, 1155.) Neuroleukemia voi olla aluksi jopa oireeton. Jos oireita ilmenee, ne johtuvat ensin leukemian leviämisestä aivokalvoille, joka huonontaa aivo-selkäydinnesteen kiertoa. Pitkälle edetessään neuroleukemia kohottaa kallonsisäistä painetta ja aiheuttaa potilaalle rajumpia oireita. Tyypillisiä oireita ovat päänsärky, pahoinvointi, oksentelu, uneliaisuus tai ärtyneisyys, näköhermon nystyn turvotus, niskajäykkyys sekä kaksoiskuvat. (Berg ym. 2005, 1155; Elonen 2007, 291.) Rajumpia oireita ovat kouristukset, tajunnanmenetys, kasvohalvaus sekä kasvojen tuntohermon häiriöt (Elonen 2007, 291). Koska neuroleukemialla on hyvin vaihteleva oireisto, on se otettava huomioon mahdollisena diagnoosina kaikilla sellaisilla ALL-potilailla, joille kehittyä neurologisia oireita. (Berg ym. 2005, 1155.)

Neuroleukemia jaetaan usein kolmeen luokkaan diagnoosihetken likvorilöydösten perusteella. Luokan yksi (1) neuroleukemiassa (CNS1, Central Nervous System) ei

näytteessä ole blasteja, eikä muita neuroleukemian merkkejä ole havaittavissa. Seuraavassa luokassa CNS2 on näytteessä soluja yli 0, mutta alle 5 kappaletta μ l:ssa. Leukeemisia blasteja on havaittavissa, mutta muita neuroleukemian merkkejä ei ole. Korkeimmassa luokassa CNS3 on näytteessä soluja yli 5 kappaletta μ l:ssa ja myös blasteja esiintyy. Neuroleukemia on luokkaa CNS3 myös silloin, kun potilaalla on aivohermohalvaus tai magneettikuvauksessa havaitaan kallonsisäinen leukeeminen massa. Samoin magneettikuvauksessa tai biopsialla löydetty leukeemisten solujen kertymä verkkokalvolta tai muualta silmästä viittaa luokan kolme (3) neuroleukemiaan. (Berg ym. 2005, 1156; NOPHO – ALL 2008 2008a, 34–35.)

3 AKUUTIN LYMFAATTISEN LEUKEMIAN DIAGNOSOINTIMENETELMÄT

Akuutin lymfaattisen leukemian diagnosointi alkaa perifeerisestä verestä tehdyn MGG-värjätyksen sivelyvalmisteen mikroskopoinnista. Lopullinen diagnoosi tehdään kuitenkin aina luuydinlöydöksen perusteella. Luuydinaspiraatille tehdään morfologisen tutkimuksen lisäksi myös useita muita diagnoosia täsmentäviä tutkimuksia, kuten immunofenotyyppitystä, molekyylogeneettisiä DNA-analyysyjä, sytogeneettisiä tutkimuksia sekä hematologisia erikoisvärjäyksiä. (Pihkala 2007, 616.) Sytogeneettisestä tutkimuksesta käytetään termejä kromosomitutkimus, kromosomien G-raita-analyysi ja karyotyyppitutkimus. Molekyylysytogenetiikka perustuu *in situ* -hybridisaatioon. Menetelminä käytetään moniväri-fluoresenssi *in situ* -hybridisaatiomenetelmää (M-FISH) ja kaksiväri-FISH:iä. (Knuutila, Kairisto & Porkka 2007, 118, 121.)

3.1 May-Grünwald-Giemsa (MGG) -värjäys

May-Grünwald-Giemsa -värjäys (MGG) on yksi tärkeimmistä hematologian laboratoriossa käytössä olevista värjäyksistä. Se soveltuu veren sivelyvalmisteen ohella myös luuydinvalmisteen värjäykseen. Sivelyvalmiste voidaan tehdä joko laskimo- tai ihopistosverestä. Antikoagulanttina käytetään EDTA:ta sillä se säilyttää solujen morfologian parhaiten. (Bain 2002, 8; Siitonen & Jansson 2007, 109.)

Sivelyvalmisteen teon jälkeen näyte ilmakeivataan nopeasti. Huolellinen kuivaus on tärkeää, jotta solut värjäytyvät hyvin. Ilmakeivauksen jälkeen näyte kiinnitetään metanolissa, joka poistaa muun muassa plasman mahdollisesti aiheuttamaa sinertävää taustavärjäytymistä. Metanolikiinnityksen jälkeen näyte käsitellään May-Grünwald -liuoksessa muutaman minuutin ajan. Liuoksessa oleva eosiini toimii sytoplasmaväriinä. Metyleenisininen värjää solun happamia osia, kuten esimerkiksi tuman kromatiinin. (Bain 2002, 63–64.)

May-Grünwald -käsittelyn jälkeen näyte värjätään välittömästi Giemsa -liuoksella, jossa näyte on noin kymmenen minuutin ajan. Giemsa -liuos sisältää emäksisen atsuuri-B väriaineen lisäksi myös metanolia ja glyserolia, joka toimii stabiloijana. Giemsa -liuoksen jälkeen suoritetaan vesihuuhtelut ja loppuinkubaatio fosfaattipuskurissa. Puskurin pH:n tulisi olla 6,7–6,9 välillä. Puskurin matalampi pH antaa eosinivoittoisemman värjäystuloksen. (Aho 2000, 146 & Bain 2002, 12–13.)

Laboratoriosta riippuen esimerkiksi värjäysajat, laimennussuhteet ja loppuinkubaatioaika saattavat vaihdella. Sivelyvalmisteen laadukkuuteen vaikuttavat muun muassa hyvin otettu ja käsitelty näyte, puhtaat objekti- ja vetolasit sekä tarkasti vakioidut värjäysolosuhteet. Solujen eri rakenneosien värjäytyvyyteen vaikuttavat erityisesti värjäysliuoksen pH ja solun osien erilaiset varaukset. (Siitonen & Jansson 2007, 109.)

3.2 Virtaussytometria

Alun perin virtaussytometria kehitettiin mittaamaan solujen fysikaalisia ominaisuuksia perustuen niiden kykyyn sirottaa valoa. Menetelmän kehittyessä solujen tunnistamiseksi otettiin käyttöön monoklonaaliset vasta-aineet, jotka sitoutuvat solun pinta-antigeeneihin sekä solunsisäisiin antigeeneihin. (Czader 2007, 452.) Monoklonaaliset vasta-aineet ovat kaupallisia valmisteita, joissa vasta-aineet on valmiiksi leimattu fluoresoivalla merkkiaineella. Fluoresoivat merkkiaineet eli fluorokromit emittoivat valoa, jonka avulla voidaan tunnistaa solujen erilaistumista ja kypsyästä vastaavia antigeenejä. (Craig 2004, 421; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134.)

Erityisesti monoklonaalisten vasta-aineiden ja monivärianalyysiin soveltuvien laitteiden kehitys on edistänyt virtausytometrian laajaa käyttöä (Siitonen & Pelliniemi 2005, 206; Czader 2007, 452). Nimenä virtausytometria viittaa solujen analysointiin, mutta todellisuudessa sillä voidaan analysoida myös muita partikkeleita, kuten kromosomeja, mikro-organismeja ja proteiineja (Czader 2007, 452). Virtausytometriaa käytetään klinisissä laboratorioissa leukemioiden ja lymfoomien immunofenotyypitykseen, lymfosyyttien alaluokkamäärityksiin, jäännöstautianalytiikkaan sekä kantasolumäärityksiin (Siitonen & Pelliniemi 2005, 206). Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratoriolle on käytössä virtausytometrilaitte FacsCanto II (kuva 2). Kuvassa 3 (s. 24) näkyy muutamia analyysissä käytettäviä vasta-ainereagenssipulloja (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008).



KUVA 2. FacsCanto II -virtausytometrilaitte (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008)



KUVA 3. Vasta-ainereagenssipulloja (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008)

Virtaussytometrillä on mahdollista analysoida suuria solumääriä, sillä menetelmä on hyvin nopea. Analyysin aikana voidaan mitata monia eri muuttujia samanaikaisesti ja tutkia useampaa antigeeniä kerrallaan. (Siitonen & Pelliniemi 2005, 206; Czader 2007, 452; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134.) Tämä tekee menetelmästä kvantitatiivisen ja tuloksiltaan toistettavan. Menetelmän herkkyys on luokkaa 0.01–0.1 %. (Tienhaara ym. 2003, 68; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134.)

3.2.1 Virtaussytometrian periaate

Virtaussytometrinen analyysi voidaan tehdä perifeerisestä verestä, luuytimestä tai lymfaattisesta kudoksesta (Czader 2007, 454). Jotta tulokset ovat luotettavia, tulee rutiinityöskentelyssä analysoitavia soluja olla 10 000–50 000 ja jäännöstautianalyysissä huomattavasti suurempi määrä, 500 000 tai enemmän (Siitonen & Pelliniemi 2005, 206; Matutes, Morilla & Catovsky 2006, 336).

Analyysiä varten valmistetaan solususpensio, jossa näytteen antigeenit ja reagenssin sisältämät fluoresoivalla merkkiaineella leimatut vasta-aineet kiinnittyvät toisiinsa. Suurin osa näytteestä etsittäväistä antigeeneistä sijaitsee solun

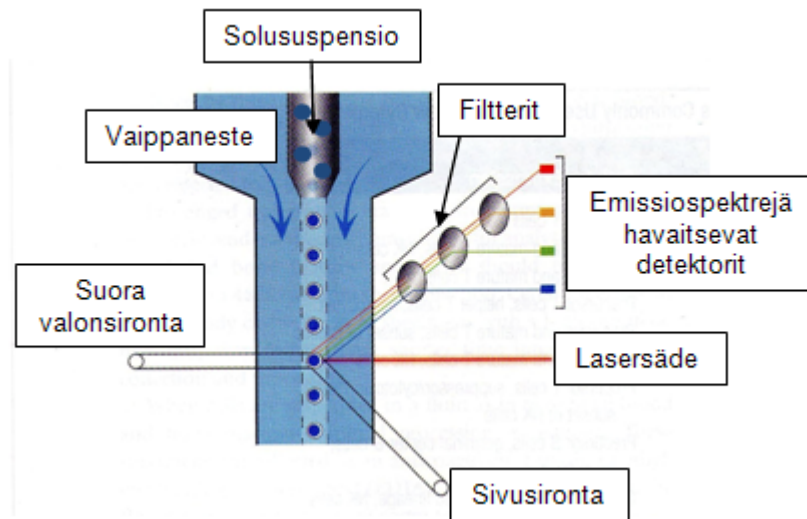
pinnalla, mutta virtausytometrian avulla voidaan tutkia myös solun- ja tumansisäisiä antigeenejä. (Craig 2004, 421, 424.)

Analysoitaessa näytteestä solunsisäisiä antigeenejä, tulee niiden osoittamiseksi näyte erikoiskäsitellä. Käytännössä tämä toteutetaan permeabilisoimalla solut eli käsittelemällä solukalvo vasta-aineita läpäiseväksi. Tällöin vasta-aineet pääsevät kulkeutumaan solukalvon läpi ja voivat siten kiinnittyä solunsisäisiin antigeeneihin. Permeabilisointiin käytetyt reagenssit mahdollistavat sekä solun sisäisten että solun pinnan antigeenien samanaikaisen analysoinnin. (Craig 2004, 422; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135.) Ennen analyysiä näyte käsitellään lyysaamalla erytrosyytit näytteestä, jolloin leukosyytit säilyvät alkuperäisessä muodossaan (Craig 2004, 421, 424).

Suspensiossa olevat solut, joiden antigeeneihin on kiinnittynyt niille spesifisiä fluoresenssileimattuja vasta-aineita, injektoidaan tai aspiroidaan kammioon. Kammiosta lähtee kaksi sisäkkäistä nesteiden sisältämää pylvästä (kuva 4, s. 26). Solususpensio kohdistetaan sisempään pylvääseen, jota ympäröi ulompi vaipanesteen sisältämä pylväs. Molempia nesteitä ylläpidetään erisuuruisten paineiden avulla ja nesteet virtaavat eri nopeudella kohti lasersädettä. Sisempi solujen sisältämä pylväs kapenee siten, että solut kulkevat pylväässä yksittäisten solujen virtana. Näin aina yksi solu kerrallaan kohtaa lasersäteen 90°:een kulmassa. Lasersäteen läpi kulkevien yksittäisten solujen siroamaa ja lähettämää valoa voidaan rekisteröidä virtausytometrilaitteen avulla. (Kotylo 2002, 546–547; Bain 2003, 59; Craig 2004, 421; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134.)

Solujen kulkiessa lasersäteen läpi, laite laskee niiden määrän. Lasersäteen aikaansaamaa solujen valonsirontaa mitataan kahdesta eri suunnasta: sivusirontana ja suorana valonsirontana. Näistä sivusironta on suhteessa erityisesti solujen granulaarisuuteen. Sen avulla saadaan tietoa myös tuman ja sytoplasman suhteesta. Suoralla valonsironnalla puolestaan saadaan selville solujen koko. Näiden ominaisuuksien perusteella solut voidaan erottaa lymfosyyteiksi,

monosyyteiksi ja granulocyteiksi. (Craig 2004, 421; Czader 2007, 456; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134.)



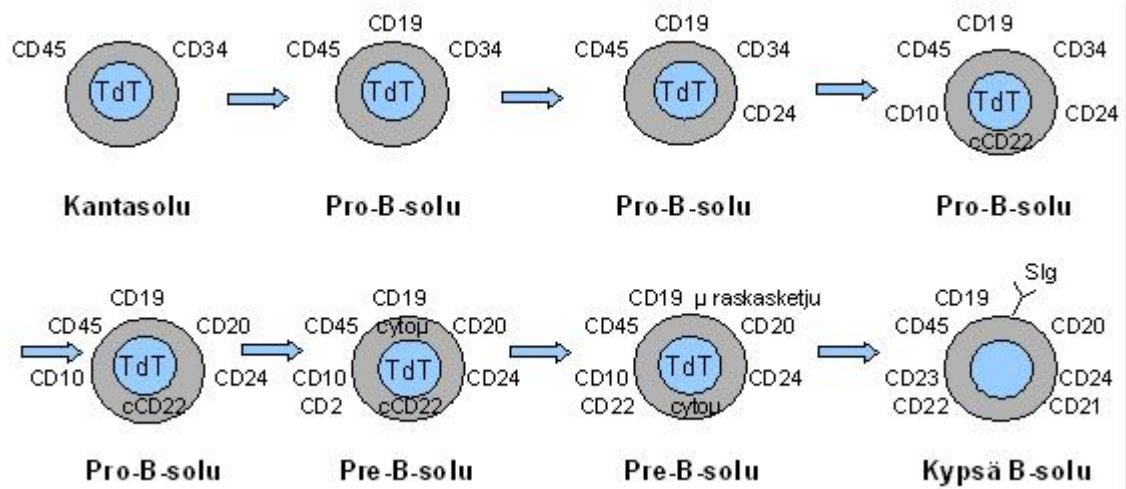
KUVA 4. Virtausytometrian periaate (mukaillen Czader 2007, 456; Craig 2004, 421)

Analyysissä hyödynnetään fluorokromeja, joista kukin emittoi valoa sille tyypillisellä aallonpituudella (Craig 2004, 421; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134). Niiden erottaminen toisistaan perustuu valon erilaisista aallonpituuksista saatuihin emissiospektreihin (Siitonen & Pelliniemi 2005, 209). Lasersäteen läpäisseistä soluista ja fluokromien emissiospektreistä saadut tiedot muutetaan digitaaliseen muotoon ja analysoidaan virtausytometriin liitetyn tietokoneohjelman avulla (Czader 2007, 455). Tietokoneelta saatavasta tulosteesta on esimerkki liitteessä 2 (Laboratoriokeskus potilastuloste 2009).

3.2.2 Lymfosyyttien ilmentämät antigeenit

Leukemian diagnostiikka ja jäännöstautidiagnostiikka perustuvat solujen ilmentämien antigeenien tunnistukseen immunofenotyypityksellä. B- ja T-lymfosyytit käyvät läpi eri kehitysasteita, joiden aikana ne joko menettävät tai ilmentävät uusia antigeenejä. Suurin osa kaikkein spesifisimmistä leukemiasolujen erilaistumista määräävistä antigeeneistä on solun sisäisiä. Antigeenien ilmaantumista solun pinnalle edeltää yleensä niiden esiintyminen solujen sytoplasmassa. Tästä johtuen solujen erilaistumissuunta ja kypsyysaste ovat aikaisemmin osoitettavissa sytoplasmassa antigeenejä määrittämällä. Sytoplasmassa antigeenejä tutkitaan erityisesti silloin, kun leukeemisten solujen erilaistumissuunnalle tyypillisiä antigeenejä ei ole havaittavissa solun pinnalla. (Kotylö 2002, 551; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135.)

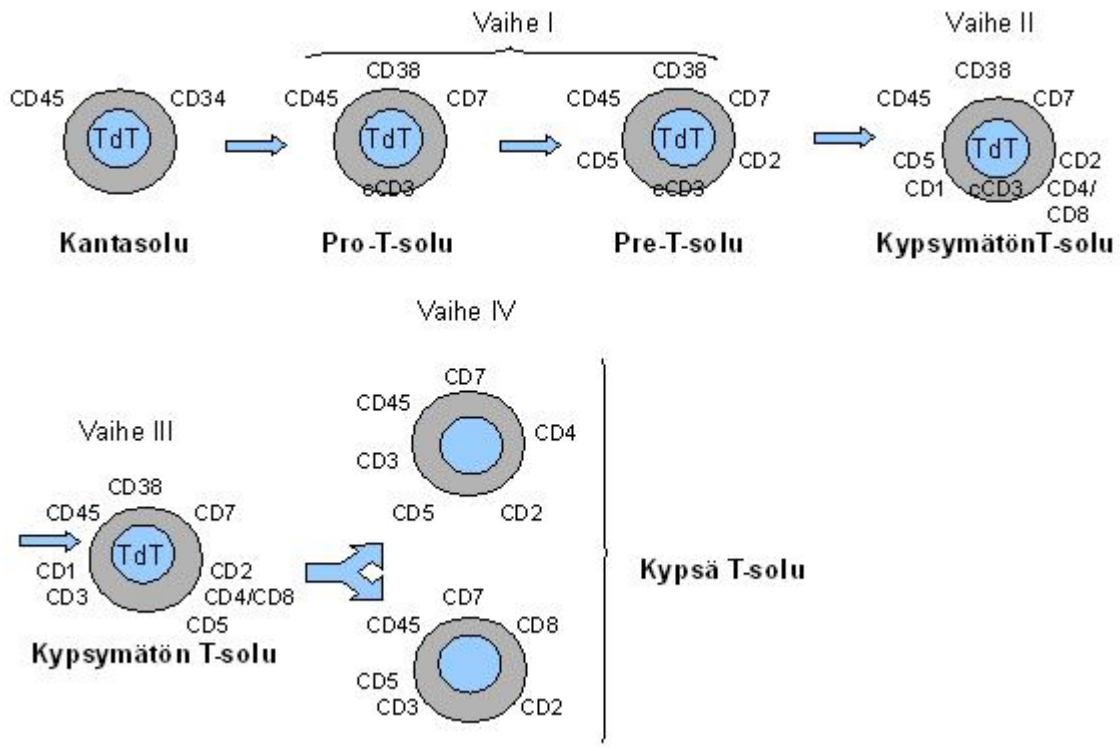
Lymfaattiset B- ja T-solut saavat alkunsa monikykyisestä hematopoeettisesta kantasolusta. Erilaistumisen myötä solut saavat pinnalleen spesifisen antigeenireseptorin, joka B-lymfosyyteillä on immunoglobuliinimolekyyli ja T-lymfosyyteillä puolestaan heterodimeeristä koostuva antigeenireseptori. Lymfaattisten solujen erilaistuminen jakaantuu kahteen osaan, antigeenistimulaatiosta riippumattomaan ja antigeenitunnistuksesta riippuvaan erilaistumiseen. Lymfosyyttien varhaismuotojen kehittyminen tapahtuu antigeenistimulaatiosta riippumatta, kun taas antigeenistimulaatiosta riippuva kehittyminen tapahtuu kypsille lymfosyyteille. Akuutin leukemian diagnostiikan kannalta tärkeämpiä ovat lymfosyyttien varhaismuotojen ilmentämät antigeenit. (Siitonen & Koistinen 2007, 29.) Kuvassa 5 (s. 28) on esitetty B-lymfosyyttien ja kuvassa 6 (s. 29) T-lymfosyyttien kehitysasteet ja niiden ilmentämät antigeenit kaavamaisessa muodossa.



KUVA 5. B-lymfosyyttien kehitysasteet ja niiden ilmentämät antigeenit (mukaillen Kotylo 2002, 551–552; Siitonen & Koistinen 2007, 29–30)

B-solujen antigeenistimulaatiosta riippumaton kypsyminen tapahtuu luuytimessä. Varhaisin B-solulinjan kantasolu ilmentää heikkoa CD45-antigeenia, joka on leukosyyttilinjan antigeeni. Leukeemisista B-solulinjan soluista se voi joskus puuttua tai sen ilmeneminen on heikkoa. Solun kypsyessä sen pinnalle ilmestyy antigeenit seuraavassa järjestyksessä: CD19, CD24, CD10 (CALLA-antigeeni) ja CD20. Tässä vaiheessa solua kutsutaan pro-B-soluksi. (Kotylo 2002, 551–552; Siitonen & Koistinen 2007, 29.)

Antigeenin CD10 ilmentyminen heikkenee hiljalleen. Samaan aikaan myös tumaentsyymi TdT:n (terminaalinen deoksinukleotiditransferaasi) ilmentyminen heikkenee ja solun sytoplasmasta voidaan havaita heikko immunoglobuliini M:n (IgM) raskasketju. Tässä vaiheessa solu muuttuu pre-B-soluksi. Solun pinnalle ei tässä vaiheessa vielä ole ilmestynyt immunoglobuliineja. Lopullinen solun kypsyminen tapahtuu, kun solun pinnalle ilmestyy kokonaisia IgM-, IgG- ja IgD-luokan immunoglobuliineja. Pinta-antigeneista CD19, CD20 ja CD22 säilyvät, mutta CD34 ja CD10 häviävät kokonaan. Kypsässä B-solussa ei voida enää havaita myöskään tumaentsyymi TdT:tä. (Kotylo 2002, 551–552; Siitonen & Koistinen 2007, 29.)



KUVA 6. T-lymfosyyttien kehitysasteet ja niiden ilmentämät antigeenit (mukaan Kotylo 2002, 551–552; Siitonen & Koistinen 2007, 30–31)

Varhaisin T-solulinjan kantasolu on sama B-solulinjan solujen kanssa, joten myös se ilmentää pinnallaan heikkoja CD45- ja CD34-antigeeneja. T-solujen kehitys voidaan jakaa neljään vaiheeseen: pro-T- ja pre-T-soluvaihe sekä kypsymätön CD4⁺ tai CD8⁺ -soluvaihe ja lopullinen kypsän solun erilaistuminen. Niiden kehittyminen alkaa luuytimessä, missä ne saavat pinnalleen CD7-antigeenirakenteen. Pro-T-solu siirtyy jo varhaisessa erilaistumisvaiheessa kateenkorvaan, jossa sen kehitys pääasiassa tapahtuu. Aluksi kehittymien tapahtuu kateenkorvan kuorikerroksessa, mutta siirtyä myöhemmässä vaiheessa kateenkorvan ydinosaan. (Kotylo 2002, 551–552; Siitonen & Koistinen 2007, 30–31.)

Pro-T-soluvaiheessa solu ilmentää sytoplasmista cCD3-antigeenia ja muuttuu pre-T-soluksi, kun sen pinnalle ilmestyvät antigeenit CD5 ja CD2. Toisessa kehitysvaiheessa solua kutsutaan kypsymättömäksi T-soluksi. Tässä vaiheessa solu alkaa ilmentää pinnallaan joko CD4- tai CD8-antigeenia. Kolmannessa kehitys-

vaiheessa sytoplasminen cCD3-antigeeni siirtyy solun pinnalle, eikä sitä enää voida havaita sytoplasmisesti. T-solujen neljännessä kehitysvaiheessa kypsät T-solut jakaantuvat kahteen ryhmään. Toisen ryhmän solut ilmentävät pinnallaan CD4-antigeenia ja toisen CD8-antigeenia. Tästä vaiheesta eteenpäin solujen erilaistuminen tapahtuu antigeenistimulaatiosta riippuen. (Kotlyo 2002, 551–552; Siitonen & Koistinen 2007, 30–31.)

3.2.3 Immunofenotyyppitys

Immunofenotyyppityksellä on merkittävä asema akuuttien leukemioiden luokittelussa. Käytettäessä menetelmää akuutin leukemian diagnosoinnissa, voidaan sen avulla leukemiasolu varmentaa lymfaattiseksi tai myeloiseksi soluksi. Myös solun kypsyyssastetta voidaan arvioida. (Kotlyo 2002, 550; Elonen 2007, 293; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 134.) Immunofenotyyppitys on tärkeää etenkin ALL:n diagnostiikassa, sillä entsyymisytokemia ei tarjoa riittävästi apua lymfoblastien tyypittämiseen (Pelliniemi & Tienhaara 2007, 137).

Immunofenotyyppitystä varten tietokoneohjelma erottelee virtaussytometrillä tutkittavat solut omiin ryhmiinsä, esimerkiksi erottelemalla lymfosyytit, blastit, monosyytit ja granulositytit toisistaan (Craig 2004, 424). Erottelu tapahtuu muun muassa solujen koon, tuma-sytoplasmasuhteen sekä leukosyyttispesifisen CD45-antigeenin ilmentymisen perusteella (Czader 2007, 456). Näistä ominaisuuksista saatu digitaaliseen muotoon muutettu tieto näkyy tietokoneohjelmalla kaksiulotteisina koordinaatistoina, joiden muuttujina käytetään sironnan ja fluoresenssin voimakkuutta (Pankko 2009). Kustakin analysoidusta solusta saatu tieto näkyy koordinaatistossa yksittäisenä pisteenä. Usean solun muodostamaa sirontakuviota kutsutaan Dot-plot -kuvaajaksi. (Craig 2004, 424; Pankko 2009.) Esimerkkejä kuvaajista liitteessä 2 (Laboratoriokeskus potilastuloste 2009). Analyysin tulokset voidaan esittää myös histogrammeina (Craig 2004, 424; Pankko 2009).

Solut, joita halutaan tutkia, saadaan eroteltua tietokoneohjelman avulla rajaamalla eli "geittaamalla" solut omiin ryhmiinsä. Käytännössä rajausta tapahtuu siten, että toisiaan vastaavat solut ovat koordinaatistossa lähelläkkäin, jolloin tämän alueen ympärille piirretään tietokoneohjelman avulla "aita". (Craig 2004, 424; Czader 2007, 456.) Rajauksen avulla ainoastaan valitut solut saadaan näkymään uusissa koordinaatistoissa, joissa niiden ilmentämiä antigeenejä voidaan tutkia suhteessa antigeeneihin kiinnittyneiden vasta-aineiden fluorokromien fluoresenssin voimakkuuteen (Czader 2007, 457). Jos asetettu aita on liian laaja, sen sisään mahtuu myös ei-toivottuja soluja. Tällöin kiinnostuksen kohteena olevien solujen fenotyypin tunnistaminen vaikeutuu, sillä ylimääräiset solut häiritsevät määrittämistä. Toisaalta taas, jos aita asetetaan liian suppeaksi, saattaa osa halutuista soluista jäädä rajojen ulkopuolelle. (Craig 2004, 424.)

Akuutin leukemian määrittämisessä käytetyn virtausytometrisen immunofenotyypityksen tulee tukeutua leukeemisten solujen mikroskopoimalla havaittuihin morfologisiin ominaisuuksiin. Näiden ominaisuuksien tunteminen on apuna halutun soluryhmän rajaamisessa solujen sirontaominaisuuksien perusteella. Erityisen tärkeää leukeemisten solujen tarkka ja oikea rajaaminen on silloin, kun näytteestä löytyy sekä normaaleja että leukeemisiä soluja. (Siitonen & Pelliniemi 2005, 206; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 138.)

3.2.4 Immunofenotyypityksen käyttö jäännöstautidiagnostiikassa

Jäännöstautitasoa määritettäessä luuytimen leukeemisten blastien määrä voi olla hyvin pieni tai ne voivat muistuttaa morfologisesti normaaleja blasteja. Tämän vuoksi leukeemisten blastien toteaminen luuydinnäytteen mikroskooppisella tarkastelulla ei ole mahdollista. Jäännöstaudin määrittämiseen parhaiten soveltuva menetelmä onkin immunofenotyypitys. (Tienhaara ym. 2003, 66.) Jäännöstaudin virtausytometriseen analyysiin valitaan diagnoosivaiheen immunofenotyypityksen perusteella vasta-ainekombinaatiot, joilla leukeeminen jäännöstautisolukko voidaan parhaiten erottaa luuytimen normaalista hematopoeettisesta solukosta. Vasta-

ainekombinaatiot sisältävät myös sytoplasmisia antigeenejä. Analyysin tarkkuus paranee, kun soluja tarkastellaan samanaikaisesti useiden eri antigeeniominaisuuksien suhteen. Tämä voidaan toteuttaa monivärianalyysillä, esimerkiksi kuusivärianalyysillä, jossa käytetään kuutta eri fluorokromia tai kombinaatioväriä. (Siitonen & Pelliniemi 2005, 206.) Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorio käyttää jäännöstautidiagnostiikkaan kuusivärianalyysiä (Mäntymaa 2008). Syksyllä 2009 on otettu kokeilukäyttöön kahdeksanvärianalyysi (Pankko 2009).

Kuusivärianalyysi edellyttää tarkkaa tietoa eri vasta-aineiden ja fluorokromien yhteensopivuudesta. Analyysin tekoon tarvitaan myös automatisoitu fluoresenssin kompensatio-ohjelma. Fluorokromien valinnassa noudatetaan seuraavia periaatteita: antigeenit, joilla on matala antigeenitiheys pyritään osoittamaan kirkkaaseen fluorokromiin liitetyn vasta-aineen avulla, ja antigeenit, joilla on korkea antigeenitiheys osoitetaan vähemmän kirkkailla fluorokromeilla. Immunofenotyyppityksessä käytettävien perinteisten fluorokromien (FITC, PE, PerCP ja APC) lisäksi kuusivärianalyysissä käytetään kombinaatiovärejä PerCP-Cy5.5, PE-Cy7 ja APC-Cy-7, joissa proteiinifluorokromiin (esim. PE) on liitetty pieni orgaaninen fluorokromi (esim. Cy7). Orgaaninen fluorokromi voi irrota proteiinifluorokromista säilytettäessä leimattua näytettä, jolloin kombinaatioväri tulee analyysivaiheessa mitatuksi väärällä kanavalla. Tästä syystä näyte on analysoitava suhteellisen nopeasti, 1–4 tunnin kuluessa leimauksesta. (Siitonen & Pelliniemi 2005, 207–209.)

3.2.5 Immunofenotyyppitys mikroskopoimalla

Immunofenotyyppitys voidaan tehdä joko virtausytometrisellä analyysillä tai mikroskopoimalla (Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135). Mikroskopointia ei kuitenkaan käytetä kliinisissä laboratorioissa immunofenotyyppitykseen vaan se on käytössä lähinnä tutkimuslaboratorioissa (Pankko 2009). Mikroskooppisessa tutkimuksessa käytetään yleensä entsyymileimaa. Fluoresenssimikroskoopiolla on

mahdollista tarkastella samoja fluoresoivalla merkkiaineella leimattuja vasta-aineita kuin virtausytometrillä, mutta mikroskopoimalla tehtävä näytteen tarkastelu ei ole läheskään niin sensitiivistä, kuin virtausytometrillä suoritettu analyysi. Näin ollen myöskään leimautumisen voimakkuus ei ole samalla tavalla kvantitoitavissa kuin virtausytometrisessä analyysissä. (Pelliniemi 2000, 65; Kotylo 2002, 548; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135.)

Mikroskopointimenetelmä on epäherkkä ja tuloksen tulkinnan subjektiivisuuden sekä pienen solumäärän vuoksi epätarkka. Sillä ei myöskään pystytä havaitsemaan heikosti ilmentyviä antigeenejä, joiden havaitsemiseen virtausytometri puolestaan kykenee. Mikroskopoimalla tehtävän analyysin etu on, että siinä positiivisten solujen morfologia voidaan paremmin varmentaa. Molemmilla menetelmillä voidaan tutkia sekä pinta-antigeenejä että solun sisällä olevia antigeenejä. Solun sisäiset antigeenit ovat keskeisiä akuutin leukemian diagnostiikassa. (Pelliniemi 2000, 65; Kotylo 2002, 548; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135.)

3.2.6 Vasta-aineiden CD-luokittelu ja vasta-ainepaneelit

Immunofenotyypityksessä käytettävät spesifiset monoklonaaliset vasta-aineet jaetaan numeroituihin CD-luokkiin (Cluster of Differentiation) niiden tunnistamien antigeenien perusteella (Siitonen & Pelliniemi, 2005, 206; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135). CD-luokitus on tehty siten, että monoklonaalisesta vasta-aineesta ja sitä vastaavasta antigeenistä käytetään samaa CD-luokan mukaista nimitystä (Kotylo 2002, 550). Spesifisiä monoklonaalisia vasta-aineita tunnetaan yli 200. Luokat jaotellaan alaryhmiin sen perusteella tunnistavatko ryhmän vasta-aineet B-soluja, T-soluja, trombosyyttejä ja megakaryosyyttejä, luonnollisia tappajasoluja (NK-soluja), myeloisia soluja, aktivaatioantigeeneja, adheesiomolekyylejä, sytokiinireseptoreita vai endoteelisolujen pintamolekyylejä. (Siitonen & Pelliniemi, 2005, 206; Pelliniemi & Tienhaara 2007, 135.) Taulukossa 2 (s. 34) on nähtävissä Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion

käyttämä kolmivärianalyysiin perustuva akuutin leukemian peruspaneeli (Mäntymaa 2008). Jos peruspaneelilla saadaan tulokseksi T-solulinjainen leukemia, jatketaan analyysiä taulukon 3 mukaisella paneelilla (Mäntymaa 2008; Pankko 2009).

TAULUKKO 2. Akuutin leukemian peruspaneeli (mukailen Mäntymaa 2008)

| Putki | FITC (fluoreskeiini-isotiosyanaatti) | PE (fykoerytriini) | PerCP-Cy5.5 (peridiniini-klorofylli-a-proteiini) |
|-------|--------------------------------------|--------------------|--|
| 1. | Isotyyppi CTRL y1/ | y2 | CD45 |
| 2. | HLA-DR | CD34 | CD45 |
| 3. | CD19 | CD33 | CD45 |
| 4. | CD10 | CD20 | CD45 |
| 5. | CD7 | CD117 | CD45 |
| 6. | CD5 | CD19 | CD45 |
| 7. | CD2 | CD33 | CD45 |
| 8. | CD3 | CD10 | CD45 |
| 9. | CD56 | CD13 | CD45 |
| 10. | CD14 | CD64 | CD45 |
| 11. | CD61 | GPA | CD45 |
| 12. | CD15 | CD1a | CD45 |
| 13. | CD34 | CD22 | CD45 |
| 14. | CD34 | CD38 | CD45 |
| 15. | κ | λ | CD45 |
| 16.* | Isotyyppi CTRL y1/ | y2 | CD45 |
| 17.* | TdT | CD79a | CD45 |
| 18.* | MPO | cCD3 | CD45 |

*sytoplasmisia antigeenejä

TAULUKKO 3. T-soluleukemian peruspaneeli (mukailen Mäntymaa 2008)

| Putki | FITC | PE | PerCP-Cy5.5 |
|-------|------|---------|-------------|
| 19. | CD4 | CD8 | CD45 |
| 20. | CD3 | CD16+56 | CD45 |
| 21. | CD57 | CD8 | CD45 |

Akuutin leukemian diagnoosivaiheen immunofenotyyppityksessä jokaiseen ajoputkeen pipetoidaan näytteen lisäksi kolmea eri vasta-ainetta, jotka ovat spesifisiä eri leukosyyttien antigeeneille. Peruspaneelin perusteella saadaan selville solun kypsyysaste sekä solutyyppi. Jäännöstautitasoa määritettäessä käytetään kuusivärianalyysiä. Jäännöstautipaneeleissa ei ole mukana kontrolleja, toisin kuin peruspaneelissa. (Pankko 2009.) Taulukoissa 4 ja 5 (s. 35) on nähtä-

vissä NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman mukaiset jäännöstautipaneelit (Mäntymaa 2008).

Taulukko 4. Prekursori B-ALL:n jäännöstautipaneelit (mukaillen Mäntymaa 2008)

| Putki | FITC | PE | PerCP-Cy5.5 | PE-Cy7* | APC (allofykosyaniini) | APC-Cy7* |
|-------|-------|---------------|-------------|---------|------------------------|----------|
| 1. | CD10 | CD20 | CD34 | CD19 | CD38 | CD45 |
| 2. | CD66c | CD123 | CD34 | CD19 | CD22 | CD45 |
| 3. | TdT | CD58 | CD34 | CD19 | CD10 | CD45 |
| 4.** | CD10 | aberrantti ag | CD34 | CD19 | CD22 | CD45 |

* yhdistelmäväri

** putki käytössä vain Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion hematologien pyynnöstä

Taulukko 5. Prekursori T-ALL:n jäännöstautipaneelit (mukaillen Mäntymaa 2008)

| Putki | FITC | PE | PerCP-Cy5.5 | PE-Cy7* | APC (allofykosyaniini) | APC-Cy7* |
|-------|--------|-----|-------------|---------|------------------------|----------|
| 1. | CD99 | CD7 | CD3 | CD8 | CD4 | CD45 |
| 2. | HLA-DR | CD7 | CD34 | CD2 | CD1a | CD45 |
| 3. | TdT | CD7 | CD5 | cytCD3 | CD10 | CD45 |

* yhdistelmäväri

3.3 Syto- ja molekyyliigenetiikka

Pahanlaatuisten veritautien diagnostiikassa sytogenetiikka on keskeisin geneettinen menetelmä. Se avaa yleisnäkymän solun geneettisiin muutoksiin. Molekyyliigenetiikan tutkimukset ovat täydentäviä menetelmiä, joiden avulla saadaan tietoa kromosomipoikkeavuuksista, joita ei voida havaita raita-analyysillä. Näitä menetelmiä ovat: Multicolor - fluoresenssi *in situ* hybridisaatio (M-FISH), PCR-monistusmenetelmät, reaaliaikainen kvantitatiivinen PCR (qPCR), DNA:n sekvensointi sekä uudet DNA- ja RNA-sirumenetelmät. (Knuutila ym. 2007, 112, 118, 121, 125–126.) Syto- ja molekyyligeneettisten diagnosointimenetelmien ymmärtäminen edellyttää tietoa syövän synnystä solu- ja molekyyllitasolla. Tästä syystä seuraavaksi käsitellään joitakin molekyyliigenetiikan peruskäsitteitä sekä syöpäsolujen syntyä.

3.3.1 Syöpägeenin synty ja kromosomipoikkeavuudet

Syöpä syntyy vaihteittain eri mekanismien kautta, jotka muuttavat geenien toimintaa normaalista poikkeavaksi. Solun muuttuminen pahanlaatuiseksi vaatii useita muutoksia, joista syöpägeenille tyypillisiä rakennepoikkeavuuksia ovat deleetiot eli häviämät, amplifikaatiot eli monistumat ja translokaatiot eli siirtymät. Muutokset voivat vaihdella yksittäisten emästen mutaatioista jopa kokonaisten kromosomien monistumiseen tai deleetioon. (Dewald & Ketterling 2005, 928; Isola 2007, 16–17; Knuutila ym 2007, 112–113.) Leukemian syntyyn tarvitaan muutos solun DNA:ssa, joka tapahtuu yleensä solun kahdentuessa eli replikoituessa. Tämä on solusyklin haavoittuvaisin vaihe. Tyypillistä leukemioiden geenimuutoksille on, että spesifit kromosomien rakennepoikkeavuudet ovat yksittäisiä, erityisesti fuusiogenejä synnyttäviä balansoituja translokaatioita. (Dewald & Ketterling 2005, 928; Knuutila ym. 2007, 112–113.) Kehittyneistä nykymenetelmistä huolimatta noin 20–30 %:lta ALL-potilaista ei voida todeta geenien poikkeavuutta, vaikka kaikilla syöpäpotilailla sellainen on (Leclair 2002, 456; Knuutila ym. 2007, 112–113).

Geeni on kromosomin toiminnallinen yksikkö. Normaalisti se käy läpi tuhansia replikaatioita, joiden seurauksena syntyy täydellisiä kopioita geenistä. Harvoissa tapauksissa käy kuitenkin niin, että kopiointi ei onnistukaan, vaan DNA:ssa tapahtuu vaurio ja syntyy uusi muuttunut mutaatiogeeni. Mutaation seurauksena geenin toiminta muuttuu ja sen myötä geenituote eli syntyvä proteiini saattaa muuttua. Jopa yhden nukleotidin muutoksella voi olla ratkaisevia seurauksia. (Turgeon 2005, 50; Isola 2007, 23.)

Syöpägeenien voidaan ajatella jakautuvan kahteen päätyyppiin: vallitseviin onkogeeneihin ja väistyviin suojageeneihin (Isola 2007, 25; Knuutila ym. 2007, 113). Normaalisti geenien tehtävä on säädellä solunjakautumista. Kypsän solun ei enää tarvitse jakautua ja siksi jakautumista säätelevät geenit inaktivoituvat. Mutaation seurauksena nämä geenit saattavat uudelleenaktivoitua ja aiheuttaa solun hallitsemattoman jakautumisen, joka johtaa syövän syntyyn. Tällaista uudelleenaktivoitunutta geeniä kutsutaan onkogeeniksi. (Dewald & Ketterling 2005,

929.) Väistyvien suojageenien eli kasvunrajoitegeenien syöpää aiheuttava vaikutus perustuu niiden toiminnan päättymiseen. Monien muiden mekanismien lisäksi myös poikkeavuudet kromosomeissa voivat synnyttää vallitsevia ja väistyviä syöpägeenejä. Jos kromosomeja on poikkeuksellisen suuri määrä, ne lisäävät onkogeneenien kopioita, kun taas puuttuvat kromosomit ja kromosomin osat aiheuttavat suojageenien puutteen. (Isola 2007, 25; Knuutila ym. 2007, 113.)

3.3.2 Translokaatio ja deleetio

Translokaatioiden tarkka syntymekanismi on vielä tuntematon (Knuutila ym. 2007, 115). Se on kuitenkin tyypillisin rakenteellinen kromosomipoikkeavuus, jonka seurauksena osa kromosomin perintöaineksesta irtoaa ja siirtyy normaalilta paikaltaan kiinni toiseen kromosomiin (Karp 2005, G-20; Solunetti 2006d). Translokaatio vaikuttaa geenin toimintaan siirtämällä sen väärälle säätelyalueelle. Kasvutekijägeenin siirtyminen aktiiviselle säätelyalueelle voi johtaa syövän syntyyn. Mikäli perintöaines ei lisääny eikä vähene translokaatiossa, kutsutaan sitä balansoituneeksi translokaatioksi. (Gulley 2004, 466; Solunetti 2006d; Turgeon 2005, 46–47.) Leukemia voi kehittyä vain, jos geenivirhe tapahtuu varhaisissa hematopoieettisissa kantasoluissa. Ilmiasu voi painottua vain yhteen solulinjaan, vaikka perusgeenivirhe on kantasolussa ja näin ollen nähtävissä kaikissa solulinjoissa. (Lodish, Berk & Zipursky 2001, 1062; Knuutila ym. 2007, 115.)

Suurin osa lapsuusiän leukemioiden translokaatioista muodostuu jo ennen syntymää alkion hematopoieesin yhteydessä. On ilmeistä, että translokaation aikaansaama fuusiogeeni ei yksin riitä syövän syntyyn. Siihen tarvitaan myös syntymänjälkeisiä muutoksia muissa geeneissä, kuten esimerkiksi ympäristötekijöiden vaikutuksia. Lisämuutokset edistävät fuusiogeeniä kantavan solukloonin kasvua ja saavat aikaan pahanlaatuisen taudin kehittymisen. (Knuutila ym. 2007, 115.) Synnynnäisten hematopoieettisten häiriöiden diagnosointi raskauden aikana on mahdollistunut vasta viime vuosina, kun syto- ja

molekyyligeneettiset menetelmät ovat kehittyneet ja geneettisiä virheitä on opittu ymmärtämään (Kramer & Cohen 2005, 2699).

Pahanlaatuisten veritautien rakenteellisista poikkeavuuksista toiseksi yleisin on deleetio. Siinä kromosomi katkeaa meioosivaiheessa yhdestä tai kahdesta eri kohdasta, jolloin irronnut osa häviää. Irronneen osan mukana osa DNA-ketjusta häviää, mikä aiheuttaa muutoksen solun proteiinituotannossa. (Clare & Hansen 2004, 444; Karp 2005, G-5; Knuutila ym. 2007, 113, 116; Solunetti 2006a.)

3.3.3 Kromosomiviljely

Leukemiassa havaittavilla sytogeneettisillä poikkeavuuksilla on merkitystä hoidon ennusteeseen (Lanzkowsky 2005, 425). Sytogenetiikka perustuu mitosissa eli jakautumisvaiheessa olevien solujen kromosomien morfologiseen tunnistamiseen kromosomiviljelyllä eli G-raitavärjäyksellä. Värjäyksen avulla on mahdollista tunnistaa kromosomipoikkeavuuksia, kuten deleetioita ja translokaatioita. (Lodish ym. 2001, 328; Clare & Hansen 2004, 440; Knuutila ym. 2007, 117–119.) Värjäyksen jälkeen G-raidot värjäytyvät vaaleiksi, keskivaaleiksi tai tummiksi (Clare & Hansen 2004, 441). Kromosomit tunnistetaan värjäytyneiden kromosomiraitojen avulla joko valo- tai fluoresenssimikroskoopilla. Tunnistaminen tapahtuu kromosomien koon, kromosomien keskikohdan eli sentromeerin sijainnin sekä muun morfologian, erityisesti raitojen, perusteella. (Clare & Hansen 2004, 442; Knuutila ym. 2007, 117–119.)

Solun jakautumiseksi veri-, luuydin- tai imusolmukenäytettä viljellään ravintonesteessä muutamasta tunnista muutamaan päivään. Viljelyä varten tarvitaan vähintään kymmenen miljoonaa solua, joiden tulee olla lisääntyviä, sillä tämä menetelmä edellyttää, että solu on mitosissa, mielellään metafaasissa. Vaatimus on kuitenkin menetelmän heikkous, sillä syöpäsolut eivät aina lisäänty elimistön ulkopuolella. Luuydin- ja imusolmukenäytteet eivät saa sisältää kontaminoivia verisoluja. Lisäksi imusolmukenäytteen tulee edustaa

kasvainaluetta. Kun mitoottisten solujen määrä on viljelmässä suurimmillaan, mitoosi pysäytetään. Se tehdään tuhoamalla kromosomeja liikuttavat sukkularihmat kolkisiinilla. (Knuutila ym. 2007, 118–119, 121.)

Solukalvo, sytoplasma ja erytrosyytit tuhoataan hypotonisella kaliumkloridiliuoksella. Tämän jälkeen solut fiksoidaan ja pestään 3–4 kertaa happamalla jääetikka-metanoliseoksella. Näin muodostunutta tumasuspensiota tiputetaan 3–4 tippaa pipetillä mikroskooppilasille, johon mitoottisen solun kromosomit leviävät metafaasilevyksi. Valmisteet värjätään giemsareagenssilla, jolla saadaan näkyviin kromosomien G-raidot. (Clare & Hansen 2004, 440–441; Knuutila ym. 2007, 118–119, 121.) Värjäyksen jälkeen G-raidot näkyvät vaaleina, keskivaaleina tai tummina (Clare & Hansen 2004, 441). Kromosomit tunnistetaan värjäytyneiden kromosomiraitojen avulla joko valo- tai fluoresenssimikroskoopilla, joka suurentaa ne noin tuhatkertaiseksi. Tunnistaminen tapahtuu kromosomien koon, kromosomien keskikohdan eli sentromeerin sijainnin sekä muun morfologian, erityisesti raitojen, perusteella. (Clare & Hansen 2004, 442; Knuutila ym. 2007, 117–119.)

Kromosomit ja niiden G-raidot kuvataan mustavalkoisina, jolloin voidaan erottaa raitojen väliset kontrastierot (Clare & Hansen 2004, 441). Kromosomikartan järjestäminen ja poikkeavuuksien tunnistaminen tehdään tietokoneavusteisesti. Jotta kromosomista mahdollisesti löytynyt poikkeavuus voidaan tulkita oikein, on potilaan normaali karyotyyppi tutkittava verinäytteestä. (Knuutila ym. 2007, 118–119, 121.)

3.3.4 *in situ* -hybridisaatiomenetelmät

Molekyylisytogenetiikassa eli *in situ* -hybridisaatiossa tutkitaan spesifisten koettimien avulla geenejä ja DNA:ta kromosomi- ja solutasolla. DNA:han sitoutuvia koettimia voidaan käyttää yksittäin tai yhdistelemällä. Analyysissä voidaan käyttää hyvinkin erilaisia soluvalmisteita, kuten esimerkiksi sivelyvalmisteita ja jääleikkeitä.

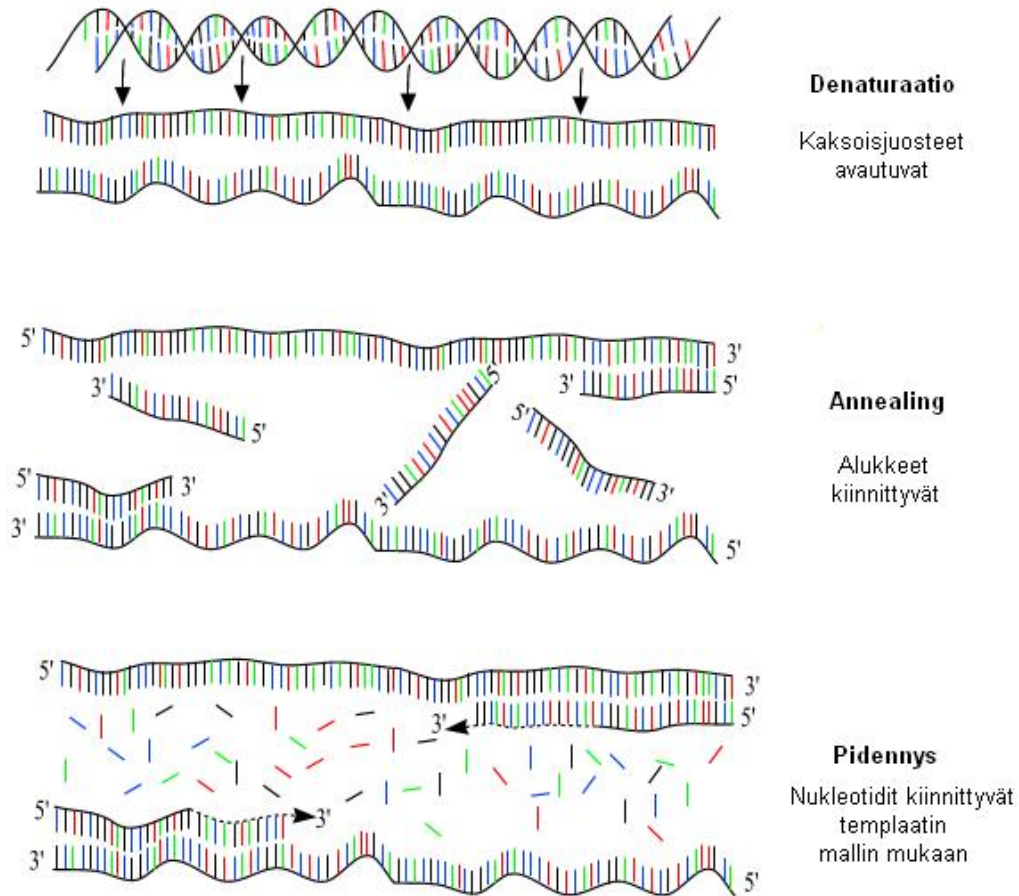
Näytteessä olevan DNA:n on kuitenkin oltava pilkkoutumatonta ja sen kaksoissidokset on pystyttävä aukaisemaan eli denaturoimaan, jotta DNA-koetin voi yhdistyä eli hybridisoitua sen emäsjaksoja vastaavaan kohdesolun alueeseen. Koetin voidaan havaita mikroskooppisesti joko entsyymattisen reaktion aikaansaaman värin tai fluoresoivan väriaineen synnyttämän fluoresenssin perusteella. (Dewald & Ketterling; 2005, 928, 930; Knuutila ym. 2007, 121, 124.) Jälkimmäistä menetelmää kutsutaan fluoresenssi *in situ* hybridisaatioksi (FISH) (Gulley 2004, 462). Mikroskopoimalla löydetään näytteestä etsitty DNA-jakso (Knuutila ym. 2007, 121).

Tarvittaessa jatkotutkimuksena G-raitavärijäykseksi tehdään M-FISH-tutkimus (Karhu 2009). Menetelmää voidaan kutsua myös kromosomimaalaukseksi. Sen avulla jokainen kromosomi voidaan maalata eriväriseksi. (Miettinen 2009.) Menetelmällä voidaan luotettavasti saada esille lukumääräiset ja rakenteelliset poikkeavuudet esimerkiksi translokaatiot ja deleetiot, jotka ovat muiden menetelmien ulottumattomissa. Tämä menetelmä soveltuu etenkin jäännöstautidiagnostiikkaan. Interfaasisytogenetiikka (liite 1) on koettimen etsimistä muusta kuin jakautumisvaiheisesta tumasta. Interfaasivaiheisia soluja voidaan tutkia kaksiväri-FISH:llä, jossa geenit saadaan esiin kromosomeista erivärisin signaalein. Soluista voidaan osoittaa keskeisimpien translokaatioiden aiheuttamat fuusiogeenit ja translokaatioiden syntyyn mahdollisesti liittyvät pienet deleetiot. (Knuutila ym. 2007, 121–122.)

3.3.5 Polymeraasiketjureaktio eli PCR

Polymeraasiketjureaktion avulla näytteestä osoitetaan spesifi DNA- tai RNA-sekvenssi. Sillä voidaan osoittaa esimerkiksi translokaatioiden aiheuttamia fuusiogeneenejä. Lisäksi menetelmä soveltuu hyvin jäännöstautidiagnostiikkaan. Sitä voidaan käyttää, kun tunnetaan haetun sekvenssin koko emäsjärjestys tai vähintään kaksi DNA-jaksoa, joiden välissä haettu jakso sijaitsee. Näin reaktioon pystytään valitsemaan spesifit alukkeet. (Turgeon 2005, 52; Suominen & Ollikka

2006, 107; Knuutila ym. 2007, 125.) Kuvassa 7 on havainnollistettu PCR:n periaatetta (Vierstraete 1999).



KUVA 7. PCR:n periaate (mukaillen Vierstraete 1999)

Polymeraasiketjureaktioon tarvitaan templaatti-DNA, alukkeet, DNA-polymeraasientsyymi, dNTP:t eli deoksinukleotidit, puskuriliuos ja kationit. Alukkeiksi valitaan sellaiset, joiden vastinalueiden välille sijoittuu tutkittava DNA-alue. Aluksi tutkittavan DNA:n eli templaatti-DNA:n kaksoisjuosteet avataan kuumennuskäsittelyllä, jolloin DNA denaturoituu yksijuosteiseksi. Tämän jälkeen lämpötilaa lasketaan, jolloin alukkeet saadaan kiinnittymään templaattiin eli mallina toimivaan DNA-juosteeseen. Kun lämpötilaa taas nostetaan, vastinjuoste alkaa muodostua. Tämä tapahtuu siten, että reaktiossa mukana oleva DNA-polymeraasientsyymi kopioi templaatti-DNA:ta liittäen nukleotidejä (adeniini,

tymiini, guaniini ja sytosiini) valmistuvaan vastinjuosteeseen alukkeesta alkaen. (Alberts ym. 2002, 508; Karp 2005, 775–776; Suominen & Ollikka 2006, 107; Knuutila ym. 2007, 125.)

Kun lämpötila edelleen nousee, irtoaa valmis vastinjuoste templaatti-DNA:sta. Tämän jälkeen näyte jäädytetään ja edellä kuvattu sykli toistuu yhä uudestaan. Valmiit vastinjuosteet toimivat aina seuraavissa sykleissä malleina muodostuville juosteille. Riittävän lopputuloksen saamiseksi syklejä on hyvä toistaa vähintään 20–30 kertaa. Jokaisen syklin aikana DNA:n määrä kaksinkertaistuu. Saatua PCR-tuotetta tarkastellaan geielektroforeesin ja fluoresoivan väriaineen avulla. (Alberts ym. 2002, 508; Karp 2005, 775–776; Suominen & Ollikka 2006, 107; Knuutila ym. 2007, 125.)

Osa translokaatioista on vaikea todeta PCR:llä DNA:sta, sillä kaikki geenit eivät ilmenny kaikissa kudoksissa samaan aikaan. Mahdollinen uudelleenjärjestymä voidaan kuitenkin osoittaa PCR:llä RNA-tasolla. Eristetystä lähetti-RNA:sta (mRNA) valmistetaan käänteiskopioijaentsyymiä käyttämällä komplementaarista DNA:ta (cDNA). Menetelmässä cDNA:ta käytetään normaalin DNA:n tapaan. (Suominen & Ollikka 2006, 91–92; Knuutila ym. 2007, 126.)

Uudelleenjärjestymä voidaan varmentaa tekemällä peräkkäin kaksi PCR-reaktiota, joista ensimmäinen toteutetaan normaalin PCR-menetelmän mukaan. Toisessa vaiheessa PCR-reaktio suoritetaan valitsemalla uudet alukeparit ensimmäisessä reaktiossa monistetun DNA-jakson sisäpuolelta (nested PCR). Toisessa vaiheessa monistetut DNA-jaksot ovat ensimmäisiä lyhyempiä. Tämän menetelmän etuihin kuuluu muun muassa pieni virhemahdollisuus. Esimerkiksi jos ensimmäisessä reaktiossa jostain syystä monistuu väärä DNA-jakso, on hyvin epätodennäköistä, että toisessa reaktiovaiheessa käytetty alukepari löytäisi sitoutumiskohtansa tämän väärän jakson sisältä. (Nested PCR 2007; Suominen & Ollikka 2006, 91–92; Knuutila ym. 2007, 126.)

Reaaliaikainen kvantitatiivinen PCR eli qPCR

Reaaliaikainen kvantitatiivinen PCR on PCR-menetelmän kehittyneempi ja nopeampi muoto. Sitä käytetään analytiikkaan yhä enenevässä määrin. Menetelmän etuna on, että kontaminaatoriski on huomattavasti pienempi. Perusperiaate on sama kuin perinteisessä PCR:ssä, vain laitteisto ja detektointitapa eroavat. (Kubista ym. 2006, 99–100; Knuutila ym. 2007, 126.)

Fluoresoiva leima tai koetin lisätään qPCR:ssä jo reaktiovaiheessa. Näin fluoresenssia voidaan mitata putken läpi reaaliajassa reaktion aikana jokaisen syklin loppuksi. Fluoresoiva leima toimii siten, että fluoresenssin suureneminen on suhteessa muodostuvan PCR-tuotteen määrään. Kun fluoresenssi ylittää tietyn kynnyksarvon, saadaan selville PCR-sykliden lukumäärä. Reaaliaikaisessa kvantitatiivisessa PCR:ssä on siis tarkoituksena määrittää hetki, jolloin PCR-tuotetta on putkessa havaittavissa oleva määrä. Kvantitatiivinen tulos on suorassa yhteydessä tutkittavien pahanlaatuisten klonaalisten solujen määrään näytteessä. (Kubista ym. 2006, 99–100; Knuutila ym. 2007, 126; Real-Time PCR 2007.)

DNA-sekvensointi

Aluksi tutkittavaksi haluttu sekvensoitava alue on monistettava, joka tehdään yleensä PCR-menetelmällä. Sekvensointireaktiossa on mukana sekvensoitava DNA-alue, sen pään tunnistava sekvensointialue, polymeraasientsyymiä sekä kaikkia neljää nukleotidiä. Osa nukleotideista on käsitelty siten, että uuden ketjun rakentaminen katkeaa, kun tämä nukleotidi liittyy ketjun päähän. Nämä päätenukleotidit on leimattu kyseiselle nukleotidille spesifisellä aallonpituudella fluoresoivalla leimalla, jolloin jokaiselle neljälle nukleotidille on oma värinsä. Sekvensointireaktion lopputuotteena syntyy eripituisia oligonukleotideja, jotka fluoresoivat päätenukleotidinsa mukaisella aallonpituudella. (Karp 2005, 777–778; Knuutila ym. 2007, 128–129.)

Nykyään voidaan geelielektroforeettisesti havaita jopa yhden nukleotidin pituuserot oligonukleotideissa. Jos esimerkiksi alkuperäinen, sekvensoitava DNA-alue sisälsi 100 nukleotidia, on geelillä havaittavissa 100 leimattua fragmenttia, jotka ovat kulkeutuneet geelillä niille spesifiseen kohtaan. Sekvensointi voidaan suorittaa automaattilla, jolloin kone lukee geelille muodostuneista fragmenteista DNA-sekvenssin fragmenttien emittoiman aallonpituuden perusteella. (Karp 2005, 777–778; Knuutila ym. 2007, 128–129.)

Syöpään liittyvät geneettiset muutokset johtavat sairastuneilla nukleotidien määrän ja järjestyksen muutoksiin. Kliinisessä käytössä DNA-sekvensoinnilla voidaan analysoida suhteellisen lyhyitä, alle 500 emäksen DNA-alueita. Sekvensoinnilla saatavan tiedon avulla voidaan suunnitella kloonis-spesifisiä PCR-alukkeita. Nämä ovat käytettävissä jäännöstautianalytiikkaan kvantitatiivisen PCR:n avulla. Menetelmä soveltuu parhaiten käytettäväksi, kun hoitovaste on niin hyvä, ettei jäännöstautia voida muilla menetelmillä havaita. Tämän menetelmän käytöstä on kertynyt eniten kokemusta lastentautiopin mukaisen eli pediatriksen ALL:n hoidon seurannassa. (Knuutila ym. 2007, 129.)

3.3.6 Molekyylirikaryotyypitys

Yksi uusimmista kromosomipoikkeavuuksien tutkimusmenetelmistä on DNA-sirumenetelmä. Se on sytogenetiikkaa ja molekyylibiologiaa yhdistävä menetelmä, jonka avulla voidaan tutkia yhdellä analyysillä tuhansien geenien kopiolukua tai niiden toimintaa. Sillä voidaan periaatteessa tutkia jokaisen geenin kaikkien eksonien kopiomäärämuutoksia ja järjestää ne lineaarisesti kromosomistoon. Tutkittaessa koko genomia laajuisia DNA:n kopiolumuutoksia, kutsutaan menetelmää molekyylirikaryotyypitykseksi. (Tyybäkinoja & Knuutila 2006, 2018; Knuutila 2007, 209; Knuutila ym. 2007, 129.)

Mikrosirulla tehtävä vertaileva genominen hybridisaatio eli mikrosiru-VGH perustuu mikrosirutekniikkaan ja *in situ* hybridisaatioon. Tämän menetelmän kehittyminen mahdollistui ihmisen genomien sekvensoinnin myötä. (Tyybäkinaja & Knuutila 2006, 2018; Knuutila 2007, 209.) Menetelmässä tutkimuksen kohteena ovat geenit sekä tunnetut DNA-jaksot. Sen etuna muihin menetelmiin verrattuna on sen hyvä erotuskyky. (Salman ym. 2004, Tyybäkinajan & Knuutilan mukaan 2006, 2018.)

Molekyylirikaryotyypityksessä huokoiselle filtterille tai lasille on kiinnitetty DNA-koettimia sisältäviä siruja. Siruissa koettimet ovat säännöllisessä järjestyksessä. Potilaan kasvainsoluista eristetty testi-DNA sekä terveestä kudoksesta peräisin oleva verrokki-DNA merkitään erivärisin fluoresoivien leimoin ja kiinnitetään mikrosiruille *in situ* hybridisaatiolla. Verrokki-DNA leimataan punaisella ja kasvainsolujen DNA vihreällä fluoresoivalla aineella. (Tyybäkinaja & Knuutila 2006, 2018–2019; Knuutila 2007, 209; Knuutila ym. 2007, 129.)

Mitä enemmän kasvainsoluissa on kopioita, sitä voimakkaammin ne hybridisoituvat koettiin ja voimistavat fluoresoivaa leimaa. Kasvainsoluista eristetyn DNA:n hybridisaatiota verrataan verrokki-DNA:n vastaavaan hybridisaatioon. Tieto fluoresenssin voimakkuudesta ja puna-viherintensiteetin suhteesta saadaan laserskannerilla, jolloin muodostuu värillinen kuva. Kuvasta voidaan erottaa poikkeavuudet genomien laajuudesta. Kuva-analyysiohjelman avulla kuvan sisältämä tieto muutetaan graafiseen muotoon, jolloin saadaan tietää geenien kopiomäärä. Sitä kuvaa fluoresoivien leimojen suhdeluku levyn jokaista täplää kohden. Suuri suhdeluku on merkki monistumasta ja pieni häviämästä. (Tyybäkinaja & Knuutila 2006, 2018–2019; Knuutila 2007, 209; Knuutila ym. 2007, 129.)

Muutamia leukemioiden alatyypeissä esiintyviä mikrodeleetioita ja monistumia, joita ei muiden menetelmien avulla voida havaita, on onnistuttu löytämään DNA-sirumenetelmän avulla (Knuutila 2007, 210; Knuutila ym. 2007, 129). Lasten akuutissa lymfaattisessa leukemiassa usein esiintyvät CDKN2A- ja B-deleetiot ovat osalla potilaista niin pienet, että niitä ei ole voitu havaita käytössä olevien FISH-menetelmien avulla (Usvasalo ym. 2007, Knuutilan mukaan 2007, 211). Lisäksi jo

tunnettuja muutoksia on voitu karakterisoida tarkemmin. On esimerkiksi osoitettu, että tasapainoiset translokaatiot eivät aina ole balansoituja, vaan niihin voi liittyä pieniä deleetioita ja monistumia. (Knuutila 2007, 212.)

Yksi menetelmän eduista on se, ettei soluviljelyä tarvita. Sillä ei kuitenkaan havaita muutoksen suuntaa eikä järjestystä eli kromosomin rakenne ei selviä. Muutoksia, joissa suhteellinen kopioluku ei muutu, kuten esimerkiksi tasapainoiset translokaatiot ja ploidiat, ei voida havaita molekyylikaryotyypityksessä. Tämän vuoksi myös tavanomainen sytogenetiikka on edelleen säilyttänyt asemansa. (Tyybäkinoja & Knuutila 2006, 2019, 2021–2022.) Menetelmän käyttöä rajoittaa myös se, että näytteessä tulee olla poikkeavia soluja ainakin puolet kaikista soluista, jotta poikkeavuus voidaan havaita (Knuutila 2007, 210).

3.4 Sytokemialliset värjäykset

Akuutin leukemian diagnostiikassa voidaan käyttää erilaisia sytokemiallisia värjäyksiä. Ne eivät kuitenkaan ole enää yleisesti käytössä, vaan värjäykset ovat korvautuneet virtaussytometrisillä tutkimuksilla. (Pankko 2009.) Värjäykset jaetaan entsymaattisiin ja ei-entsymaattisiin värjäyksiin. Yleisimmät sytokemialliset värjäykset on esitetty taulukossa 6 (s. 47). (Lanzkowsky 2005, 421.)

TAULUKKO 6. Sytokemialliset värjäykset ja niiden reaktiot ALL:ssä (mukaillen Lanzkowsky 2005, 421)

| Värjäys | | | Värjäytyvyys ALL:ssä |
|--------------------------|------------------|----------------------------|--|
| Ei-entsymaattiset | PAS | | Ilmenee karkeina granuloina |
| | Sudan Black B | | Negatiivinen |
| Entsymaattiset | Peroksidaasi | | Negatiivinen |
| | Esteraasi | Naftoli AS-D kloroasetatti | Negatiivinen |
| | | Naftoli AS-D asetatti | Negatiivinen tai heikosti positiivinen |
| | | Alfanaftyliasetatti | Negatiivinen |
| | Hapan fosfataasi | | Positiivinen T-ALL:ssä |

Ei-entsymaattiset värjäykset

Perjodihappo-Schiff (PAS) -värjäyksellä saadaan esiin solussa oleva glykogeeni. Muun muassa kypsissä neutrofiileissa on sytoplasmista glykogeeniä runsaasti. Värjäys on käyttökelpoinen, kun halutaan erottaa osittain PAS-positiivinen lymfoblastileukemia negatiivisista myelo- ja monoblastileukemioista. (Turgeon 2005, 262–263.)

Tutkimustulokset osoittavat, että PAS-värjäyksellä on mahdollista erottaa ne ALL-potilaat, joilla on pidempi elinajanennuste niistä, joiden ennuste on huonompi. Blasteissa PAS-positiivinen reaktio ilmenee värikertyminä solujen päällä. Niiden määrä vaihtelee korreloiden elinajanennusteen mukaan siten, että PAS-negatiivisilla potilailla on huonompi elinajanennuste. Värjäyksen tuloksesta on hyötyä hoidon valinnassa. (Lilleyman ym. 1994, 689, 691.)

Sudan Black B -värjäyksen avulla voidaan erottaa akuutti lymfaattinen leukemia akuutista myeloisesta leukemiasta. Positiivinen reaktio nähdään vain granulopoieesin soluissa, joten AML-blastit reagoivat positiivisesti. Tällöin blastiin syntyy musta reaktiotuote Golgin laitteen alueelle, joka solun kypsyessä leviää koko sytoplasmaan. Sudan Black B -värjäyksessä ALL-blastit ovat negatiivisia eli

mustaa reaktiotuotetta ei synny. WHO:n ja FAB-työryhmän suosituksen mukaan 3 % Sudan Black B -positiivisia blasteja riittää erottamaan AML:n ja ALL:n toisistaan. (Siitonen & Jansson 2007, 110–111.)

Entsymaattiset värjäykset

Negatiivinen reaktio peroksidaasivärjäyksessä viittaa yleensä ALL:ään. Tulos tulee varmistaa virtaussytometrisellä tutkimuksella, sillä myös AML:ssä saattaa reaktio olla negatiivinen. (Seiter 2006.) Näytteen niillä alueilla, joilla on naftoli AS-D kloroasetatiesteraasiaktiivisuutta, voidaan havaita kirkkaanpunaisia granuloita. Tämä entsyymiaktiivisuus on yleensä spesifistä nimenomaan granulositytilinjan soluille. Monosyyteissä ja lymfosyyteissä aktiivisuus on heikkoa tai sitä ei ole ollenkaan. (Turgeon 2004, 464.) Naftoli AS-D asetaatilla monosyytti- ja myelomonosyyttisarjan solut värjäytyvät tummansinisiksi. Lymfosyytit eivät värjäydy tai niissä näkyy vain muutamia positiivisia hiukkasia. (Laboratoriotutkimusten ohjekirja 2003.)

Alfanaftyliasetatiivvärjäystä käytetään monosyyttien epäspesifisen esteraasiaktiiviteetin osoittamiseen. Monosyyteissä saadaan aikaan voimakas punaisenruskea värireaktio. Tavallisissa T-soluissa havaitaan voimakas pistemäinen reaktio Golgin laitteen alueella. Myös osassa T-ALL tapauksista on havaittavissa vastaavanlainen, mutta voimakkuudeltaan heikompi löydös. (Siitonen & Jansson 2007, 111.) Hapan fosfataasi -aktiivisuutta esiintyy lähes kaikissa veren ja luuytimen soluissa. Lymfosyyteissä aktiiviteetti on heikko, kun taas myeloidisessa solusarjassa aktiivisuus on runsasta. Voimakas pistemäinen reaktio Golgin laitteen alueella havaitaan T-ALL:n blasteissa. (Jansson 2000, 49.)

4 LASTEN AKUUTIN LYMFAATTISEN LEUKEMIAN ALARYHMÄT JA LUOKITTELU

Akuutti lymfaattinen leukemia on biologisesti varsin heterogeeninen eikä sen voida ajatella olevan yksi yhtenäinen tauti (Pihkala 2007, 617–618). Leukemioiden luokittelu perustuu yleisesti solujen morfologiaan, immunologiaan sekä syto- ja molekyyli-genetiikkaan (Lanzkowsky 2005, 420; Rodgers & Young 2005, 151; Pihkala 2007, 618). Näiden tutkimusten perusteella lasten ALL jaetaan erilaisiin alaryhmiin sekä riskiryhmiin, jotka ohjaavat hoidon intensiteetin valintaa (Pihkala 2007, 618).

4.1 Immunologinen luokittelu

Immunologinen luokittelu perustuu leukosyyttien immunofenotyypitykseen, jonka avulla saadaan selville solujen ilmentämät antigeenit. Niiden perusteella selviää solun erilaistumis- ja kehitysaste. Lymfaattinen järjestelmä koostuu kahdesta erilaisesta solulinjasta, jotka ovat B- ja T-solulinja. Lymfaattiset leukemiat saavat alkunsa näiden solulinjojen varhaisimmista erilaistuneista soluasteista, prekursori B- ja T-soluista, joita voidaan edelleen alaluokitella niiden erilaistumis- ja kehitysasteen perusteella. (Matutes ym. 2006, 346.)

B-solulinjainen ALL

Lasten ALL-tapauksista noin 80–85 % on lähtöisin B-solulinjasta (Jaffe ym. 2001, 111; Pihkala 2007, 618). B-solulinjainen ALL voidaan jaotella neljään alatyypin: pro-B-ALL, esiaste-B-ALL (CALLA), pre-B-ALL ja kypsä B-ALL. Kolmea varhaisinta vaihetta kutsutaan prekursori-B-ALL:ksi. (Jaffe ym. 2001, 113; Matutes ym. 2006, 346.) Näiden alatyypin välillä on havaittavissa yhteneväisyyttä geneettisten ominaisuuksien ja ennusteen suhteen. Akuutti lymfaattinen leukemia on B-

solulinjainen, mikäli lymfaattiset solut ilmentävät vähintään kahta B-solulinjalle tyypillistä antigeenia: CD79a, CD19 ja/tai CD22. (Matutes ym. 2006, 346.)

Pro-B-ALL on lapsilla melko harvinainen ja sen ennuste on huono. Leukeeminen soluklooni voi muodostua jo sikiövaiheessa. Ennuste on erittäin huono vauvoilla ja parempi vanhemmilla lapsilla. Leukemiatyyppi on yleisempi tytöillä. Kuitenkin 1–14-vuotiaiden keskuudessa se on yleisempi pojilla. (Bain 2003, 118–119, 122; Ruutu ym. 2007, 763.) Tyypillinen immunofenotyyppi on CD19-, CD22- ja CD9-positiivinen. Antigeeni CD20 voi olla joko positiivinen tai negatiivinen. (Bain 2003, 118–119; Lanzkowsky 2005, 423; Leclair 2007, 497.)

Esiaste-B-ALL:ssä solu ilmentää edelleen varhaisemmassa pro-B -vaiheessa ilmenneitä antigeenejä ja näiden lisäksi solun pinnalle ilmestyy klassinen CD10-pinta-antigeeni eli CALLA-antigeeni (Common ALL Antigen). Tämä ALL:n alatyypin on lapsilla kaikkein yleisin ja sen ennuste on suhteellisen hyvä. (Jaffe ym. 2001, 113; Leclair 2007, 497; Pihkala 2007, 618.)

Kaikkein kypsimmässä prekursori-B-soluvaiheessa pre-B-ALL:ssä solu ilmentää sytoplasmista μ :tä (Jaffe ym. 2001, 113). Osa soluista voi ilmentää pinnallaan poikkeavia eli aberrantteja antigeenejä. Tällöin ne ilmentävät sekä lymfaattisen että myeloisen linjan antigeenejä. Tämä tekee leukeemisen ja normaalin solun erottamisen toisistaan helpommaksi, mutta joskus aberranttien solujen esiintyminen saattaa vaikeuttaa ALL:n ja AML:n erottamista toisistaan. Solun poikkeavasta fenotyypistä on apua etenkin määritettäessä potilaan jäännöstititasoa. (Leclair 2004a, 576.) Pre-B-ALL on verrattain yleinen (Leclair 2007, 497).

T-solulinjainen ALL

Lasten ALL:istä 15–20 % on lähtöisin T-solulinjasta (Jaffe 2001, 115; Pihkala 2007, 618). Se on tyypillisesti kouluikäisten poikien tauti, johon liittyy suurentunut neuroleukemian riski (Pihkala 2007, 618). B-solulinjaisen ALL:n tapaan myös T-solulinjainen ALL voidaan jakaa useisiin alatyyppeihin lymfoblastien erilaistumisasteen mukaan. Kaikkein varhaisimmassa asteessa eli pro-T-ALL:ssä blastisolut ilmentävät ainoastaan CD7- ja cCD3-antigeenejä. Pre-T-ALL:ssä voidaan näiden antigeenien lisäksi havaita lymfaattisten solujen pinnalla joko CD2- tai CD5-antigeenejä sekä CD1a-antigeeniä. Kypsässä T-ALL:ssä soluissa ilmenee joko sytoplasmista tai solun pinnan CD3-antigeeniä. (Jaffe ym. 2001, 116; Matutes ym. 2006, 346.)

4.2 Syto- ja molekyylogeneettinen luokittelu

Lasten ALL-tapauksista on pystytty erottamaan jo seitsemän ryhmää, joiden tiedetään muodostavan ennusteellisesti ja hoidollisesti omat kokonaisuutensa. Luokittelu antaa mahdollisuuden leukemiatyyppien parempaan luonnehdintaan ja ennusteen arviointiin tulevaisuudessa. Kuitenkin 20 % tapauksista jää edelleen tämän luokittelun ulkopuolelle. Taulukossa 7 (s. 52) esitellään lapsuusajan ALL:ssä esiintyviä kromosomaalisia translokaatiota, niistä aiheutuvia geneeissä tapahtuvia muutoksia ja kunkin poikkeavuuden erityispiirteitä. (Knuutila ym. 2007, 113–115; Pihkala 2007, 620–621.)

TAULUKKO 7. Yleisimmät kromosomaaliset translokaatiot lapsuusiän ALL:ssä (mukaanl Lankowsky 2005, 423; Knuutila ym. 2007, 114; Pihkala 2007, 620–621)

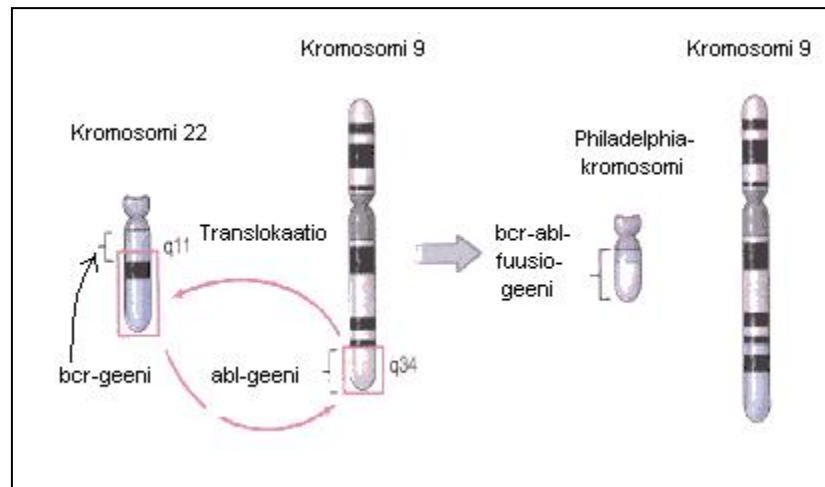
| Kromosomaalinen poikkeavuus | Geneettinen vaihtelu | Erityispiirteet |
|-----------------------------|---|---|
| t(1;19)(q23;p13.3) | E2A-PBX1-fuusio | Fenotyyppiltään pre-B-solulinjaa, kohonnut leukosyyttimäärä, esiintyy mustalla rodulla, neuroleukemia. |
| t(9;22)(q34;q11) | BCR-ABL-fuusio eli Philadelphia translokaatio | Vallitsevana fenotyyppinä B-solulinja, esiintyy vanhemmilla lapsilla, kohonnut leukosyyttimäärä, huono ennuste kemoterapiassa. |
| t(4;11)(q21;q23) | MLL-AF4-fuusio | Fenotyyppiltään CD10-B-solulinjaa, esiintyy yleensä alle 1-vuotiailla, kohonnut leukosyyttimäärä, huono ennuste kemoterapiassa. |
| t(8;14)(q24;q32.3) | MYC-IGH-fuusio | Fenotyyppiltään B-solulinjaa, esiintyy useimmiten pojilla, morfologialtaan L3-luokkaa eli useimmiten Burkittin lymfooma. |
| t(11;14)(p13;q11) | TTG2-TCRD-fuusio | Fenotyyppiltään T-solulinjaa, esiintyy useimmiten pojilla, kohonnut leukosyyttimäärä, ekstramedullaarinen tauti. |
| dic(9;12)(p11-p12;?p12) | Tuntematon | Fenotyyppiltään B-solulinja, esiintyy useimmiten pojilla, hyvä hoitovaste antimetaboliiteilla. |
| t(12;21) | TEL-AML1 | Ennusteeltaan hyvä. |

Kromosomaalisille poikkeavuuksille on käytössä omat lyhenteensä (Knuutila ym. 2007, 120). Esimerkiksi lyhenne t tarkoittaa translokaatiota ja dic puolestaan tarkoittaa disentristä kromosomia eli kromosomia, jossa on kaksi sentromeeriä (Bain 2003, 74). Ensimmäisten sulkumerkkien sisässä ilmoitetaan translokaatioon osallistuvat kromosomit, jotka erotetaan puolipisteellä. Toisten sulkumerkkien sisässä puolipisteellä erotetaan vastaavien kromosomien katkoskohdat. Esimerkiksi translokaatiossa t(4;11)(q21;q23) kromosomin 4 pitkän haaran (q) kakkosalueen (2) ykkösraidassa (1) on katkos. Irronnut osa on siirtynyt kromosomin 11q23-katkoskohtaan, josta irronnut osa on puolestaan siirtynyt kromosomin 4q21-katkoskohtaan. (Knuutila ym. 2007, 120.)

Poikkeavuudet koko kromosomistossa merkitään kansainvälisen International System for Cytogenetic Nomenclature (ISCN) -standardin mukaisesti kromosomi-

karttaan. Ensimmäisenä ilmoitetaan kromosomiluku, sen jälkeen sukukromosomit ja lopuksi kromosomipoikkeavuudet suuruusjärjestyksessä. Lukumääräiset poikkeavuudet ilmoitetaan kromosomin eteen merkityllä plus- (+) tai miinus- (-) merkillä. (Knuutila ym. 2007, 120.) Esimerkiksi tuumorin karyotyyppi 48,XX,+8,+21 tarkoittaa, että tuumorissa on 48 kromosomia ja sukukromosomit XX. Tämän lisäksi on löydetty ylimääräiset kromosomit 8 ja 21 (Shaffer & Tommerup 2005, 94).

Translokaatio kromosomista 9 kromosomiin 22 eli t(9;22)(q34;q11) on vanhin tunnettu leukemiaan liittyvä kromosomimuutos (kuva 8, s.54). Ensimmäisenä se löydettiin kroonista myeloista leukemiaa sairastavilta potilailta. Sen nimeksi on annettu Philadelphia-kromosomi ensimmäisen raportoidun ilmentymisen mukaan. Tämän translokaation seurauksena ABL-esisyöpägeeni eli solujen viestintään liittyvä tyrosiinikinaasi yhdistyy BCR-geenin kanssa, jolloin syntyy yhdistelmävalkuaisaine. Translokaatiossa syntynyt BCR-ABL-yhdistelmävalkuaisaine on jatkuvasti aktiivinen, mikä saa aikaan kohdesolun transformoitumisen syöpäsoluksi. Philadelphia-kromosomin löytyminen ja siitä johtuvien sairauksien ymmärtäminen on johtanut spesifin lääkkeen kehittämiseen. Tämä lääke toimii tyrosiinikinaasin inhibiittorina eli se estää fuusiogeenin syntymistä kohdesoluissa. (Laurent ym. 2001, 2343, 2349; Gulley 2004, 466; Solunetti 2006d; Turgeon 2005, 47.)



KUVA 8. Philadelphia-kromosomi (mukaillen Chronic Myeloid Leukemia and evolving treatment options 2009)

Akuutin lymfaattisen leukemian tapaukset, joissa lapsella on Philadelphia kromosomi, ovat harvinaisia. Lasten ALL-tapauksista vain 1–3 % ovat tätä tyyppiä. Ennuste on yleensä erittäin huono. (Hoelzer & Gökbuget 2005, 1186; Ruutu ym. 2007, 763.) Muihin ikäryhmiin verrattuna 1–9-vuotiaiden lasten ennuste on kuitenkin parempi. Täydellisen remission saavuttaminen on harvinaisempaa kuin muissa ALL-alatyypeissä. Myös relapsoituminen on tässä alatyypissä todennäköisempää. Näin ollen jäännöstaudin todennäköisyys on suuri. (Bain 2003, 119.)

4.3 Morfologinen luokittelu

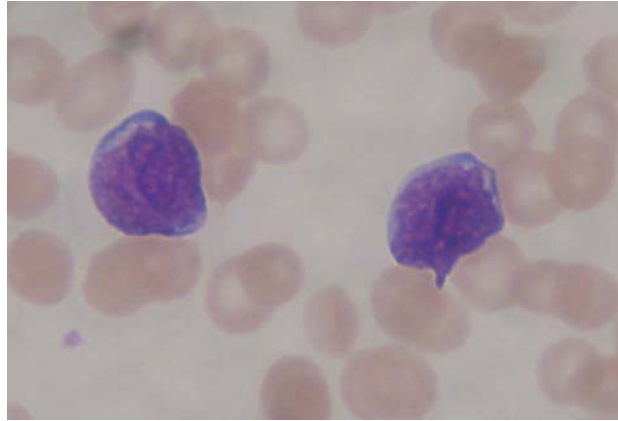
Suomessa käytetään French-American-British (FAB) -luokitusta ALL:ien morfologiseen jaotteluun (Turgeon 2005, 253; Pihkala 2007, 619). Ensimmäisen kerran tämä ranskalaisten, amerikkalaisten ja brittiläisten hematologien kehittämä luokitus julkaistiin vuonna 1976 (Bain 2003, 3; Turgeon 2005, 253). Tarkoituksena oli tuolloin kehittää ja yhdenmukaistaa akuuttien leukemioiden luokittelua (Sparks, Ehsan & McKenzie 2004, 482). Helpottaakseen neoplastisten blastisolulinjojen tunnistamista toisistaan, uusi luokittelu hyödynsi sekä solujen morfologisia että sytokemiallisia ominaisuuksia (Leclair 2004b, 553). Luokitusta käytetään

kuvailemaan tarkemmin akuutin leukemian yksittäisiä tapauksia sekä jakamaan potilaat erillisiin ryhmiin hoitoennusteen perusteella (Bain 2003, 57).

Morfologisesti ALL jaetaan kolmeen luokkaan: FAB L1:een, L2:een sekä L3:een (Turgeon 2005, 257). Lasten ALL:istä yleisin muoto on L1, jota esiintyy 84 prosentilla potilaista. Tyyppiä L2 esiintyy 15 prosentilla ja L3:sta 1-2 prosentilla potilaista. Kullekin FAB-luokalle tyypilliset piirteet voivat vaihdella näytteittäin, mutta tiettyjen sytologisten ominaisuuksien täytyessä vähintään 90 prosenttisesti, pidetään tätä ominaisuutta merkittävänä. Näytteestä arvioidaan solujen seuraavat ominaisuudet: solukoko, tumakromatiini, tuman muoto, nukleolit, sytoplasman määrä, sytoplasman basofiilisuus sekä sytoplasman vakualisaatio. (Pihkala 2007, 619.)

FAB L1

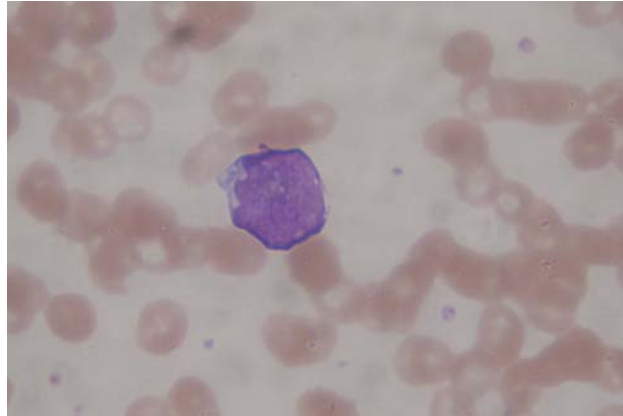
Luokan L1-leukemialla on paras ennuste (Leclair 2004a, 574). Luokan L1 leukemioissa verenkierrossa esiintyy vain yhden solupopulaation homogeenisia blasteja. Vallitseva solukoko on pieni. Blasteissa on niukasti sytoplasmaa, joka värjäytyy kevyen tai kohtalaisen basofiilisesti. Tuman muoto on säännöllinen, mutta siinä saattaa esiintyä uurteita ja painaumuksia. Kromatiini on homogeenistä ja nukleolit ovat harvoin näkyvissä. (Leclair 2004a, 574; Lanzkowsky 2005, 420; Rodgers & Young 2005, 152; Turgeon 2005, 254; Pihkala 2007, 619.) Kuvassa 9 (s. 56) näkyy L1-luokalle tyypillisiä soluja (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008).



KUVA 9. FAB L1 -luokan blastisoluja tarkasteltuna 100-kertaisella suurennoksella (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008)

FAB L2

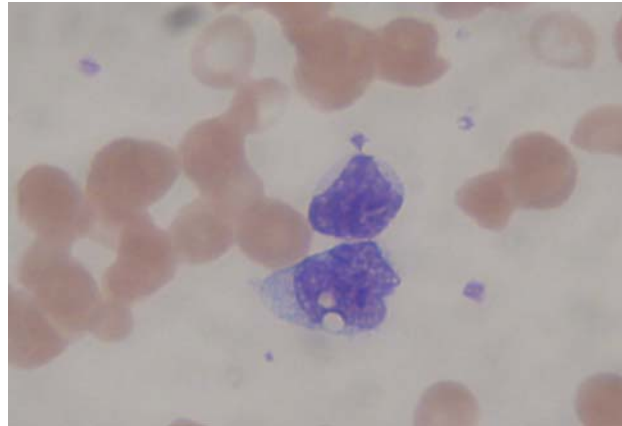
Ennuste on huonompi L2-luokan leukemioissa kuin L1-luokassa. Solukoko on suurentunut tai vaihteleva. Sytoplasman määrä on suurempi kuin luokassa L1. Se värjäytyy vaihtelevasti, joissain tapauksissa syvän basofiilisesti. Tuman koko on vaihteleva ja muoto epäsäännöllinen. Siinä esiintyvät uurteet ovat yleisiä ja myös painaumien esiintyminen on mahdollista. Tumassa on näkyvissä yksi tai useampi nukleoli, joka on yleensä suurikokoinen. Nukleolin koossa voi kuitenkin esiintyä vaihtelua. Tumakromatiini on heterogeenistä vaihdellen tasaisesta kokkareiseen. (Leclair 2004a, 574; Lanzkowsky 2005, 420; Rodgers & Young 2005, 152; Turgeon 2005, 254; Pihkala 2007, 619.) Kuvassa 10 (s. 57) on L2-luokan blastisoluu (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008).



KUVA 10. FAB L2 -luokan blastisolu tarkasteltuna 100-kertaisella suurennoksella (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008)

FAB L3

Morfologialtaan L3 liittyy Burkittin lymfoomaan ja Burkittin leukemiaan. Solut ovat kooltaan suuria ja homogeenisia. Sytoplasma on kohtalaisen runsas ja värjäytyy syvän basofiilisesti. Siinä havaitaan usein huomattavaa vakuolisoitumista. Tuma on muodoltaan pyöreä tai ovaali. Siinä on yhdestä kolmeen huomattavaa nukleolia. Tumakromatiini on kaikissa leukeemisissa soluissa kokkareinen. (Lanzkowsky 2005, 420; Rodgers & Young 2005, 152; Turgeon 2005, 254; Pihkala 2007, 619.) Kuvassa 11 (s. 58) näkyy Burkittin lymfooman ja Burkittin leukemian yhteydessä tavattavia L3-luokan blastisoluja (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008).



KUVA 11. FAB L3 -luokan blastisoluja tarkasteltuna 100-kertaisella suurennoksella (Hirvelä, Oravala & Pesu 2008)

4.4 Luokittelu WHO:n mukaan

The World Health Organization (WHO) aloitti vuonna 1995 projektin, jonka tarkoituksena oli luokitella hematopoeettisen ja lymfaattisen kudoksen neoplasiat (liite 1). Luokittelu perustui periaatteille, jotka oli määritetty vuotta aiemmin Revised European-American Classification of Lymphoid Neoplasms (REAL) -luokittelussa. Projekti saatiin valmiiksi vuonna 1997. (Harris ym. 2001, 12–13.) Luokitusta uudistettiin vuonna 2001 ja se julkaistiin nimellä World Health Organization Classification of Tumours: Pathology & Genetics – Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Luokitusta muutettiin yksityiskohtaisemmaksi, jotta neoplasiat voitaisiin diagnosoida tarkasti jo mahdollisimman varhaisessa vaiheessa ja näin valita oikea hoitolinja. (Vilpo & Franssila 2003, 917.)

Neoplasiat luokitellaan WHO:n mukaan solujen morfologian, immunofenotyypin sekä geneettisten ja kliinisten ominaisuuksien perusteella (Sparks ym. 2004, 484). Luokittelu pohjautuu kappaleessa 6 Lasten akuutin lymfaattisen leukemian alaryhmät ja luokittelu käsiteltyihin perusteisiin. Tämän vuoksi tässä kappaleessa ei ole enää syytä käydä läpi yksityiskohtaisesti jokaisen WHO:n mukaisen luokan morfologiaa, immunofenotyyppiä sekä syto- ja molekyyli-genetiikkaa.

Lymfaattiset neoplasiat jaotellaan WHO:n mukaan kolmeen pääluokkaan: B-soluneoplasiat, T/NK-soluneoplasiat sekä Hodgkinin lymfooma. Viimeisenä mainittuun luokkaan kuuluu vain lymfoomia. B- ja T-soluneoplasioiden alaluokkia ovat prekursori-neoplasiat sekä kypsät neoplasiat. Prekursori-luokka käsittää kaikki kypsyttömät solumuodot, joihin myös ALL kuuluu. (Sparks ym. 2004, 484; Hoffbrand, Moss & Pettit 2006, 367–368.)

5 NOPHO ALL -HOITO-OHJELMA

Monien eri sairauksien hoitamiseen on kehitetty hoito-ohjelmia, joiden tarkoituksena on yhtenäistää tietyn sairauden hoitokäytäntöjä. Ne ovat yleensä hoitosuosituksia, eivätkä siksi velvoita hoitoyksikköä toimimaan täysin annettujen ohjeiden mukaan. Hoito-ohjelmia voidaan toteuttaa joko valtakunnallisella tai kansainvälisellä tasolla. NOPHO ALL -hoito-ohjelma on yhteispohjoismainen lasten akuutin lymfaattisen leukemian hoitamiseksi kehitetty hoitoprotokolla (liite 1).

5.1 Hoito-ohjelman historiaa

Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO) -yhdistys perustettiin vuonna 1981. Saman vuoden heinäkuusta lähtien kaikki pohjoismaalaiset alle 15-vuotiaat akuuttiin lymfaattiseen leukemiaan sairastuneet lapset on rekisteröity NOPHO-leukemiarekisteriin (NOPHO Leukemia Registry). (NOPHO – ALL 2008 2008a, 19.) Yhteispohjoismaiset NOPHO-yhdistyksen laatimat hoito-ohjelmat eli protokollat lasten ALL:n hoitoon ovat olleet käytössä 1980-luvulta lähtien. Yhteispohjoismainen hoito-ohjelma luotiin, jotta pienten valtioiden ALL:n hoidot olisivat keskenään yhteneviä ja näin vertailtavissa muiden suurten valtioiden hoito-ohjelmien kanssa. Kaksi ensimmäistä hoito-ohjelmaa laadittiin yhteistyössä Pohjoismaiden kesken, mutta ne olivat kuitenkin vain hoitosuosituksia. Samanlaista usean maan yhteistä hoito-ohjelmaa ei muualla maailmassa ole käytössä. (Vettenranta 2009.)

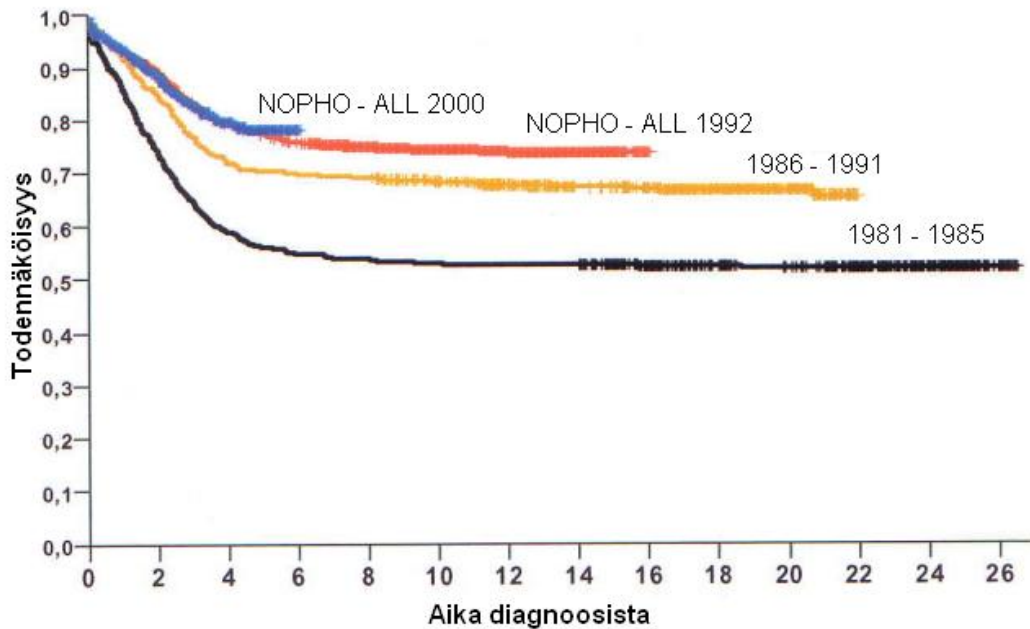
NOPHO–hoito-ohjelmia kehitettiin vuosien aikana asteittain erilaisista paikallisista ja kansallisista hoito-ohjelmista yhtenäiseksi yhteispohjoismaiseksi hoito-ohjelmaksi. (NOPHO – ALL 2008a, 19.) Siirryttäessä 1990-luvulle laadittiin hoito-ohjelma, joka ei enää ollut pelkkä hoitosuositus, vaan pyrkimyksenä oli, että kaikki maat toteuttaisivat hoidot tarkasti hoito-ohjelman mukaan (Vettenranta 2009). Ensimmäinen tällainen hoito-ohjelma oli käytössä vuosina 1992–2001.

Järjestyksessään neljättä ja viimeisimpänä päättynyttä hoito-ohjelmaa toteutettiin vuosina 2002–2008. (NOPHO – ALL 2008a, 19.) Nämä hoito-ohjelmat erosivat toisistaan muun muassa sen mukaan millaisiin riskiluokkiin sairastuneet jaettiin, ja mihin riskiluokitus perustui. Potilaat jaetaan hoito-ohjelmissa eri riskiryhmiin, jotta jokaiselle sairastuneelle voidaan antaa taudin vakavuuden vaativaa hoitoa. (Vettenranta 2009.)

Vuonna 1992 käyttöön otetussa luokituksessa lasten ALL:t jaettiin riskiluokkiin sen mukaan, kuinka suuri taudin uusiutumisen vaara oli. Riskiluokat olivat: pieni riski, keskisuuri riski, korkea riski ja erikoisriski. (Salmi & Perkkiö 2000, 367–368.) Vuonna 2001 käyttöön otettu luokitus puolestaan ohjasi hoidon vahvuuden valintaa. Tuolloin käytössä ollut perusporrastus jakoi hoidon vakiohoitoon, keskivahvaan hoitoon ja vahvaan hoitoon. (Pihkala 2007, 618.)

NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelma ei ollut selkeästi parempi kuin NOPHO – ALL 1992 -hoito-ohjelma. Tämä koski etenkin niiden potilaiden hoitoa, jotka luokiteltiin korkeanriskin-luokkaan. NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelman hoidon teho oli monessa suhteessa heikempi kuin muissa kansainvälisissä yhteistyöryhmissä laadituissa hoito-ohjelmissa. NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelman aloittamisen jälkeen on saatu suuri määrä uutta kliinistä tietoa, jonka pohjalta on ollut mahdollista kehittää tehokkaampia hoitoja. Lisäksi jäännöstautidiagnostiikan ja sytogenetiikan avulla on tullut mahdolliseksi tunnistaa ne potilaat, joiden ennuste eli prognoosi on hyvin huono. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 19.)

Pohjoismaisen yhteistyön myötä ALL:n hoitotulokset ovat parantuneet vuosikymmenien aikana huomattavasti (Gustafsson 2000; Moe 2000; Schmiegelow 2005, NOPHO – ALL 2008a, 19 mukaan). Esimerkiksi ”tapahtumavapaan eloonjäämisen” -osuus eli Event Free Survival (EFS) -arvo (liite 1) on kohentunut merkittävästi (kuva 11, s.62) (NOPHO – ALL 2008 2008a, 19; Vettenranta 2009). EFS-arvolla tarkoitetaan niiden potilaiden määrää, jotka jäävät eloon ilman, että tauti uusiutuu tai potilas kuolee hoidon toksisuuteen (Vettenranta 2009).



KUVA 11. Viiden vuoden EFS-arvon todennäköisyyden kehittyminen hoito-ohjelmien aikana kaikissa riskiryhmissä (mukaillen Vettenranta 2009)

5.2 NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma on viimeisin NOPHO-yhdistyksen kehittämä lasten ALL:n hoitoon suunniteltu ohjeistus. Se on tarkoitettu lapsuus- tai nuoruusiällä (1.0–17.9) ALL:ään sairastuneille potilaille (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5). Uudessa hoito-ohjelmassa riskiluokat ovat: standardiriski (SR, Standard Risk), keskiriski (IR, Intermediate Risk) sekä korkeariski (HR, High Risk). Vaikka riskiryhmien nimet viittaavat potilaan taudin uusiutumisen vaaraan, perustuu luokitus kuitenkin hoidon vahvuuteen. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 16; NOPHO – ALL 2008 2008b, 5; Vettenranta 2009.)

Uuden hoito-ohjelman päämääränä on parantaa pohjoismaalaisten ALL:ään sairastuneiden lasten ja nuorten lopullisia hoitotuloksia aiempiin yhteispohjoismaisiin hoito-ohjelmiin verrattuna (NOPHO – ALL 2008 2008a, 18). Uusi hoito-

ohjelma tarvittiin erityisesti siksi, että korkeariskiryhmän ennusteessa ei ollut tapahtunut edistystä vuoden 1992 jälkeen (Vettenranta 2009). Tarkoituksena on nyt edistää erityisesti korkean riskin potilaiden parantumista. Kaikissa ryhmissä tavoitteena on hoitaa suurin osa potilaista mahdollisimman lievällä hoidolla. (NOPHO – ALL 2008, 2008a, 15, 18.)

Uuden NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman on kehittänyt komitea, jossa on jäseniä kaikista viidestä Pohjoismaasta sekä lisäksi Virossa, Latviasta ja Liettuasta (NOPHO – ALL 2008 2008a, 19). Tämä on ensimmäinen kerta, kun myös Baltian mailla on edellytykset ottaa osaa hoito-ohjelmaan. Nämä maat eivät kuitenkaan osallistu ohjelmaan yhtä intensiivisesti, sillä heidän diagnosointimenetelmänsä ovat osin kehittymättömiä. (Vettenranta 2009.)

NOPHO – ALL 2008 -komiteaan kuuluu asiantuntijatyöryhmiä muun muassa sytogenetiikan, farmakologian sekä jäännöstautidiagnostiikan aloilta (NOPHO – ALL 2008 2008a, 19). Komitea on luonut uuden hoito-ohjelman käyttäen apunaan yhdeksän kansainvälisen hoito-yhteisön lapsuusiän ALL:n hoitotuloksia. Aina uutta hoito-ohjelmaa suunniteltaessa komitealla on ollut käytössään tietoja siitä, millä hoidoilla ja millaisin tuloksin potilaita on muissa maissa hoidettu. Vuoden 2008 hoito-ohjelman käynnistämiseksi komitea aloitti taustatyön tekemisen jo 2000-luvun puolivälissä. (Vettenranta 2009.)

Kunkin osallistuvan maan hoito-ohjelmaa toteuttavat sairaalat kuuluvat NOPHO-yhdistykseen. Suomen kaikki yliopistolliset sairaalat Helsingissä, Tampereella, Turussa, Kuopiossa sekä Oulussa kuuluvat hoito-ohjelman piiriin. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 2.) Suomessa käytäntönä on, että kaikki leukemiaan sairastuneet lapsipotilaat hoidetaan ensisijaisesti yliopistollisissa sairaaloissa (Ruutu 2007, 655). Vastuulääkäri kustakin osallistuvasta sairaalasta allekirjoittaa kirjallisen sopimuksen, jolla he sitoutuvat hoito-ohjelman noudattamiseen. Sopimukseen kirjataan myös hoito-ohjelman edellyttämistä tutkimuksista vastuussa olevat laboratoriot. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 2.) Hoito-ohjelma on tarkoitettu pääasiassa rekisteröityjen potilaiden hoitoon. Jos rekisteröimätöntä potilasta

aiotaan hoitaa hoito-ohjelman mukaisesti, on suositeltavaa ennen hoidon aloittamista ottaa yhteyttä NOPHO – ALL 2008 -komiteaan. Vain rekisteröidyt potilaat ovat tutkimuspotilaita. Rekisteröinti vaatii tiettyjen keskeisten ja pakollisten tutkimusten toteuttamista (kappale 7.2.5. Hoidon aikaiset tutkimukset), joiden vastausten tulee olla käytettävissä ennalta määrättyinä ajankohtina. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 15, 18.)

5.2.1 Hoito-ohjelman aikataulu

NOPHO – ALL 2008 -hoitokokeilu (hoito-trial) alkoi 1.7.2008, jolloin alkoi myös kontrollipotilaiden rekisteröinti sekä tarvittavan tiedon keruu. Näitä potilaita ei oteta mukaan satunnaistettuihin eli randomoituihin (liite 1) tutkimusosioihin. Varsinaisten randomisaatioihin osallistuvien potilaiden rekisteröinti alkoi 1.1.2009, jolloin hyväksymisprosessi Valtakunnallisen terveydenhuollon eettisen neuvottelukunnan (ETENE) sekä Lääkelaitoksen kanssa oli saatu päätökseen. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 13; NOPHO – ALL 2008 2008b, 4.)

Potilaiden mukaan otto hoito-ohjelmaan päättyy vuoden 2014 lopussa (NOPHO – ALL 2008 2008a, 13; NOPHO – ALL 2008 2008b, 4). Tällä yli kuuden vuoden ajanjaksolla ohjelman ennustetaan hankkivan eli rekrytoivan 1.0–14.9-vuotiaita ALL-potilaita noin 1100 sekä 15.0–17.9-vuotiaita teini-ikäisiä non-B ja non-Ph+ (ei Philadelphia-kromosomia) ALL:ää sairastavia potilaita noin 200. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5.) Hoito-ohjelma on käytössä 1.7.2008–30.6.2017. Raportti kliinisestä hoitokokeilusta annetaan kunkin maan viranomaisille vuoden 2017 lopussa. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 13.)

5.2.2 Vuoden 2008 hoito-ohjelmaan mukaan otettavat potilaat

NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelmaan otetaan mukaan potilaita inkluusio- (liite 1) ja poissuljentakriteerien perusteella. Kaikki 1.0–17.9-vuotiaat akuuttia lymfaattista leukemiaa sairastavat potilaat hoidetaan NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelman mukaan tietyin rajoituksin. Potilaiden tulee sairastaa joko non-B ALL tai non-Ph+ -ALL-muotoa. Mikäli potilaan sairaus on muotoa non-Ph+ -ALL, hänet hoidetaan induktiovaiheessa NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelman mukaisesti, mutta siirretään tämän jälkeen EsPhALL-ohjelmaan. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5–6.)

Joitakin potilasryhmiä voidaan hoitaa NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman mukaan, mutta heitä ei oteta mukaan tutkimuspotilaiksi eli he eivät osallistu randomisaatioihin. Tällaisia potilaita ovat esimerkiksi kaksilinjaista (bilineage) (liite 1) ALL:ää sairastavat potilaat. Heille tehdään kaikki keskeiset tutkimukset, mutta heille ei anneta standardiriskihoitoa. Hoito-ohjelman tutkimusosioihin ei oteta mukaan myöskään niitä potilaita, joita on hoidettu kortikosteroideilla tai antileukeemisilla lääkkeillä yli viikon ajan. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5–6.)

Jotkut NOPHO-hoito-ohjelmaa noudattavat keskuskeskukset hoitavat myös yli 17.9-vuotiaita potilaita kyseisellä ohjelmalla. Myöskään näitä potilaita ei oteta huomioon randomoiduissa osioissa. Tällaisissa tapauksissa on hoidon toteuttamiseksi saatava kirjallinen suostumus joko potilaalta itseltään tai hänen huoltajaltaan. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5–6.) NOPHO-hoito-ohjelmaa noudattavista maista Tanska ja Ruotsi toteuttavat tätä käytäntöä. Suomen yliopistollisista sairaaloista ainakin Tampereen yliopistollinen sairaala on kiinnostunut hoitamaan kyseisen hoito-ohjelman mukaisesti niitä potilaita, jotka ikänsä puolesta jäisivät ohjelman ulkopuolelle, mutta joiden ALL sopii parhaiten hoidettavaksi NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmalla. (Vettenranta 2009.)

Poissulkukriteereiksi katsotaan puutteet diagnoosivaiheen sytogeneettisessä diagnostiikassa sekä erilaiset ALL:lle altistavat tilat, kuten Downin syndrooma ja ataxia-teleangiektasia. Hoito-ohjelman ulkopuolelle jäävät myös potilaat, joilla on

ollut jo aiemmin maligni sairaus tai sellaiset fertiili-ikäiset nuoret tytöt, jotka kieltäytyvät turvallisesta ehkäisystä. Hoito-ohjelman mukaan ei voida hoitaa myöskään potilaita, joilla on intoleranssi jollekin siinä käytetylle lääkkeelle, tai joille joudutaan antamaan ylimääräinen kemoterapia induktiohoidon aikana standardi- tai keskiriskiryhmän mukaisessa hoidossa. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 6.)

5.2.3 NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman mukaiset riskiryhmät

NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelmaa varten on tehty uusi jako riskiryhmiin. Uudessa luokituksessa ryhmiä on kolme: standardiriski (SR), keskiriski (IR) sekä korkeariski (HR). Keskiriski jaetaan lisäksi luokkiin a–e ja korkeariski luokkiin 1–5. Potilaat jaetaan riskiryhmiin muun muassa leukeemisen solutyypin, leukosyyttimäärän ja jäännöstautitason perusteella. Taulukossa 8 (s. 67) on esitetty ne kriteerit, jotka kussakin riskiryhmässä tulee täytyä. (NOPHO – ALL 2008a, 16; NOPHO – ALL 2008 2008b, 5.)

TAULUKKO 8. Riskiryhmien kriteerit (Shaffer & Tommerup 2005, 93; NOPHO – ALL 2008a, 16; NOPHO – ALL 2008 2008b, 5)

| | leuko-syytti-määrä (x10 ⁹ /L) | solu-linja | syto-genetiikka | MRD-taso (%) | luuydin-luokka | CNS-luokka | Muut kriteerit |
|-----------|--|------------|---|---------------------------|--------------------|--------------------------|-------------------------|
| SR | alle 100 | B-ALL | ei IR-ryhmän syto-genetiikkaa | D29 alle 0,001 | | ei CNS3-luokan leukemiaa | ei HR-ryhmän kriteerejä |
| IR | a alle 100 | B-ALL | | D29 yli 0,001 ja alle 5 * | | | ei HR-ryhmän kriteerejä |
| | b yli 100 | B-ALL | | yli 0,001 | | | ei HR-ryhmän kriteerejä |
| | c | T-ALL | | yli 0,001 | | | ei HR-ryhmän kriteerejä |
| | d | | | | | CNS3 | ei HR-ryhmän kriteerejä |
| | e | | dic(9;20), ic21amp tai t(1;19) | | | | ei HR-ryhmän kriteerejä |
| HR | 1. yli 100 | T-ALL | kromosomiluku 2n- (hypodiploid) tai MLL-uudelleenjärjestymä | | D15 luokka M3 | | |
| | 2. alle 100 | B-ALL | | D79 yli 0,001 | D29 luokka M2/3 ** | | |
| | 3. yli 100 | T-ALL | | D29 yli 0,001 * | | | |
| | 4. | | kromosomiluku 2n- (hypodiploid), kromosomiluku alle 45 tai DNA-indeksi alle 0,85, MLL-uudelleenjärjestymä | | | | |
| | 5. | | | | | CNS2/3 *** | |

* Ryhmään otetaan mukaan myös ne potilaat, jotka täyttävät ryhmän kriteerit muilta osin, mutta joiden jäännöstautitason tulosta ei ole käytettävissä

** Vahvistettu virtausytometrillä.

*** Ryhmän potilaiden likvori puhdistuu hitaasti blasteista hoidon ensimmäisessä vaiheessa. (NOPHO – ALL 2008a, 16).

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman yhtenä tavoitteena on hoitaa yli 50 % potilaista standardiriskiryhmän mukaisilla hoidoilla. Tämän potilasjoukon EFS-

tavoitearvo on 90–95 %. Potilaille pyritään antamaan matalatehoista hoitoa, jotta pitkäaikaissivuvaikutukset pysyisivät mahdollisimman vähäisinä. Potilaita, joille ei ole suoritettu kaikkia diagnoosivaiheen sytogeneettisiä tutkimuksia tai joilla ei ole käytettävissä tietoa jäännöstautitasosta hoitopäivänä 29, ei voida hoitaa standardiriskiryhmän mukaisesti. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 16; NOPHO – ALL 2008 2008b, 2, 5; Vettenranta 2009.)

Kaikki ne potilaat, jotka eivät kuulu standardi- tai korkeariskiryhmään, ohjautuvat keskiriskiryhmään. Näitä potilaita uskotaan olevan 30–35 % hoidettavista potilaista. Heille annetaan tehostettua hoitoa, jossa lyhyen ja pitkän aikavälin sivuvaikutukset pysyvät hyväksyttävällä tasolla. Tällä hoidolla tavoitteena on saavuttaa EFS-arvo 80 %. Ne potilaat, joilla on riski keskushermostoon levinneen leukemian relapsoitumiseen, mutta jotka eivät muilta osin täytä korkean riskin kriteerejä, hoidetaan muiden keskiriskipotilaiden tapaan. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 16, 20; NOPHO – ALL 2008 2008b, 5.)

Hoito-ohjelma pyrkii ohjaamaan 10–15 % potilaista korkean riskin ryhmään. Heitä pyritään hoitamaan tehokkailla lääkehoidoilla ryhmän suuren relapsiriskin vähentämiseksi. (NOPHO – ALL 2008a, 16; Vettenranta 2009.) Luokitteluun vaikuttaa muun muassa potilaan non-aplastisen luuytimen blastien määrä kaikista tumallisista soluista. Kansainvälisen luokituksen mukaan luuydin on luokkaa M1, kun blasteja on alle 5 %, luokkaa M2, kun blasteja on yli 5 %, mutta alle 25 % ja luokkaa M3, kun blasteja on yli 25 %. (NOPHO – ALL 2008a, 49.)

5.2.4 Potilaiden rekisteröinti

Potilaiden rekisteröinti toteutetaan käytännössä joko faksaamalla tai postittamalla potilaiden rekisteröintilomake Ruotsiin Tukholman Karoliiniseen instituuttiin tai täyttämällä vastaava lomake internetissä NOPHO-järjestelmässä (NOPHO – ALL 2008 2008a, 37). Tietojen rekisteröinnistä vastaa tutkimushoitaja (Vettenranta 2009). Pakolliseksi määritellyt tiedot on oltava rekisteröitynä tiettyinä ajankohtina.

Jos vaaditut tiedot eivät ole saatavilla, ei potilaan randomisaatiota voida toteuttaa. Kaaviossa 1 on listattuna hoidon eri vaiheissa rekisteröitävät tiedot. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 7.)

KAAVIO 1. Pakolliset potilaasta rekisteröitävät tiedot tiettyinä ajankohtina (NOPHO – ALL 2008 2008b, 7)

| |
|---|
| <p>Diagnoosivaihe:</p> <ul style="list-style-type: none"> • potilaan nimi, sosiaaliturvatunnus, ikä sekä sukupuoli • potilasta hoitava yksikkö • korkein leukosyyttimäärä ennen hoidon aloittamista • ALL:n immunofenotyyppi • CNS-status • keuhkojen välikarsinan (mediastinaalinen) massa (kyllä/ei) • kivesleukemia (kyllä/ei) • TPMT (tiopuriini metyyli transferaasi) -genotyyppi • mahdolliset poissulkukriteerit |
| <p>Hoitopäivä 15:</p> <ul style="list-style-type: none"> • luuytimen morfologisen tutkimuksen tulos eli virtausytometrialla vahvistettu blastiosuus • jäännöstautitaso eli MRD-taso |
| <p>Hoitopäivä 29:</p> <ul style="list-style-type: none"> • luuytimen morfologisen tutkimuksen tulos eli virtausytometrialla vahvistettu blastiosuus • jäännöstautitaso eli MRD-taso • sytogeneettisten tutkimusten tulos • mahdollinen induktiovaiheessa annettu ylimääräinen kemoterapia • mikäli potilaan neuroleukemia on diagnoosivaiheessa luokkaa CNS2/3 tai epäonnistuneen lumbaalipunktion vuoksi likvorin erytrosyyttimäärä on ollut yli $10 \times 10^6/l$, tutkitaan likvorista blastien määrä (sytosentrifugivalmiste) • suostumus randomisaatioihin (kyllä/ei) • vaikeat odotetut sivuvaikutukset (SAE, Severe Adverse Event) |
| <p>Hoitopäivä 79 (SR/IR-ryhmät sekä HR-ryhmä blokin B jälkeen):</p> <ul style="list-style-type: none"> • luuytimen morfologisen tutkimuksen tulos eli virtausytometrialla vahvistettu blastiosuus • jäännöstautitaso eli MRD-taso • mahdollisen kivesleukemian ultraäänitulos • luokan CNS3 neuroleukemiassa magneettikuvauksen tulos • silmän leukeemisessa infiltraatiossa silmäntähystyksen eli oftalmoskopian tulos, pään magneettikuvauksen tai ultraäänien tulos |

5.2.5 Hoidon aikaiset tutkimukset

NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelmaan sisältyy tiettyjä keskeisiä ja pakollisia tutkimuksia, jotka tehdään potilaalle ennalta määrättyinä hoitopäivinä. Nämä pakolliset tutkimukset on lueteltu kaaviossa 2 (s. 70). Tutkimusten toteuttaminen on yksi edellytys sille, että potilasta voidaan käyttää hoito-ohjelman tutkimuspotilaana.

Jollei tutkimuksia toteuteta ja niiden tuloksia kirjata rekisteriin vaadittuina ajankohtina, ei potilasta voida pitää tutkimuspotilaana. Mikäli potilas on ollut aiemmin tutkimuspotilas, mutta myöhemmin tutkimusten toteutus viivästyy, voidaan hänet poistaa randomisaatioista. (Vettenranta 2009.) Niiden potilaita hoitavien keskusten, jotka eivät voi tehdä itse vaadittuja tutkimuksia, on lähetettävä veri- ja luuydinnäytteet niihin NOPHO-hoito-ohjelmaa toteuttaviin keskuksiin, joilla on mahdollisuus analysoida kyseiset näytteet (NOPHO – ALL 2008 2008a, 46).

KAAVIO 2. Potilaasta tehtävät tutkimukset (NOPHO – ALL 2008 2008a, 46; NOPHO – ALL 2008 2008b, 7–8)

| |
|---|
| Diagnoosivaiheen tutkimukset: |
| <ul style="list-style-type: none"> • kliiniset tutkimukset: yleisen terveydentilan kartoitus, imusolmukkeiden, pernan, maksan sekä kivesten tutkiminen, verenpaineen mittauss • laboratoriotutkimukset verinäytteestä: verenkuvaa, elektrolyytit, maksa-arvot, kreatiniini, LDH, uraatti sekä urea • tutkimukset likvorinäytteestä ja luuydinnäytteestä • karyotyypitys • ultraäänikardiografia • rintakehän röntgenkuvaus • pään magneettikuvaus • kivesten ultraäänitutkimus • TPMT-genotyypin määrittäminen |
| Hoidon aikaiset tutkimukset: |
| <ul style="list-style-type: none"> • luuydintutkimukset |
| Tutkimukset relapsin aikana: |
| <ul style="list-style-type: none"> • kliiniset tutkimukset: yleisen terveydentilan kartoitus, imusolmukkeiden, pernan, maksan sekä kiveksien tutkiminen, verenpaineen mittauss • laboratoriotutkimukset verinäytteestä: verenkuvaa, elektrolyytit, maksa-arvot, kreatiniini, LDH, uraatti sekä urea • tutkimukset likvorinäytteestä ja luuydinnäytteestä • karyotyypitys • ultraäänikardiografia • rintakehän röntgenkuvaus • pään magneettikuvaus • kivesten ultraäänitutkimus |

Diagnoosivaiheen tutkimukset

Likvorinäytteestä tutkitaan mahdollisten solujen lukumäärä sekä suoritetaan erittelylaskenta. Patologian tutkimusta varten valmistetaan sytosentrifuugi-preparaatti, josta tehdään likvorin irtosolututkimus. Lisäksi näytteestä määritetään

glukoosi- ja proteiinipitoisuudet. Luuydintutkimuksia varten näytteet otetaan seuraavassa tärkeysjärjestyksessä: morfologia, virtaussytometria, sytogenetiikka/molekyyli-sytogenetiikka, PCR geenien uudelleenjärjestymä-tutkimusta varten sekä muut näytteet. Poikkeuksena hyperleukosytoositapaukset, joissa potilasta ei voida nukuttaa. Tällöin edellä mainitut tutkimukset tehdään perifeerisestä verestä. Luuydinnäytteen morfologista tutkimusta varten tehdään näytteen MGG-värjäys. Mikäli edustavaa luuydinnäytettä ei saada, diagnoosi perustuu luuydinbiopsiaan sekä perifeerisen veren tutkimuksiin. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 46; NOPHO – ALL 2008 2008b, 7–8.)

Karyotyypityksen avulla tutkitaan potilaan mahdollisia kromosomipoikkeavuuksia. Se on yksi niistä tutkimuksista, jonka perusteella potilas ohjataan oikeaan riskiryhmään. Jos karyotyypimäärityksiä ei ole tehty, potilasta ei voida hoitaa standardiriskiryhmän mukaisesti. Taulukossa 9 on esitettyjä ne poikkeavuudet, jotka ovat hoito-ohjelman mukaan pakollisia kartoittaa, sekä kunkin poikkeavuuden tutkimiseen käytettävät menetelmät. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 46.) Potilaalle tehdään pään magneettikuvaus, mikäli hänellä on todettu keskushermostoon levinnyt leukemia tai sitä epäillään. Samoin epäiltäessä kivesleukemiaa, tehdään kivesten ultraäänitutkimus. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 46; NOPHO – ALL 2008 2008b, 7–8.)

TAULUKKO 9. Akuutin lymfaattisen leukemian yhteydessä tavattavat kromosomipoikkeavuudet sekä niiden diagnosointiin käytettävät tutkimusmenetelmät (NOPHO – ALL 2008 2008a, 46–47.)

| | dic(9;20) | hypo-diploidia | t(1;19) (q23;p13) | t(9;22) (q34;q11) | ic21amp | 11q23 | t(12;21) (p13;q22) |
|----------------------|-----------|----------------|----------------------|----------------------|----------|----------|-----------------------|
| FISH- menetelmä | | | X | X | X | | X |
| RT-PCR- menetelmä | | | X | X | | | X |
| G-raita- värjäys | X | X | | X | | X | |

Hoidonaikaiset tutkimukset

Hoidonaikaiset tutkimukset ovat lähinnä luuydintutkimuksia, joista saatujen tulosten avulla voidaan seurata potilaan hoitovastetta sekä jakaa potilaita riskiryhmiin. Luuydinnäytteet otetaan hoitopäivinä 15, 29, 79 sekä 92. Näytteistä saatujen tulosten tulee olla valmiina kahden työpäivän kuluessa. Hoitopäivinä 15 ja 29 luuydinnäyte otetaan kaikilta potilailta riskiryhmästä riippumatta. Tällöin tehdään luuytimen morfologinen tutkimus sekä virtaussytometrinen analyysi, jolla selviää potilaan jäännöstautitaso. Jos hoitopäivänä 15 otetun näytteen perusteella epäillään, että potilaan luuydin on luokkaa M3, otetaan muutaman päivän kuluttua uusi näyte, josta tehdään virtaussytometrinen sekä sytogeneettinen analyysi. Sytogeneettisestä tutkimuksesta saattaa olla apua myös muissa tapauksissa. Jos hoitopäivänä 29 epäillään, että potilas on remissiossa, otetaan myös tässä tapauksessa uusi näyte muutaman päivän kuluttua. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 47.)

Hoitopäivien 79 ja 92 luuydinnäytteet otetaan vain standardi- ja keskiriskiryhmän potilailta. Mikäli jäännöstautitaso on niin korkea, että potilas olisi syytä siirtää korkeariskiryhmään, otetaan viikon sisällä uusi näyte tuloksen tarkistamista varten. Korkeariskipotilailta otetaan luuydinnäytteet morfologista tutkimusta ja jäännöstautitason seuranta varten hoidon jokaisen blokin jälkeen. Kun jäännöstautia ei enää virtaussytometrisesti voida havaita, määritetään taso enää vain viimeisen blokin jälkeen. Kantasolusiirron saavilta potilailta jäännöstautitaso määritetään ennen jokaista hoitoblokkia (liite 1) ja ennen kantasolusiirtoa. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 47, 81.)

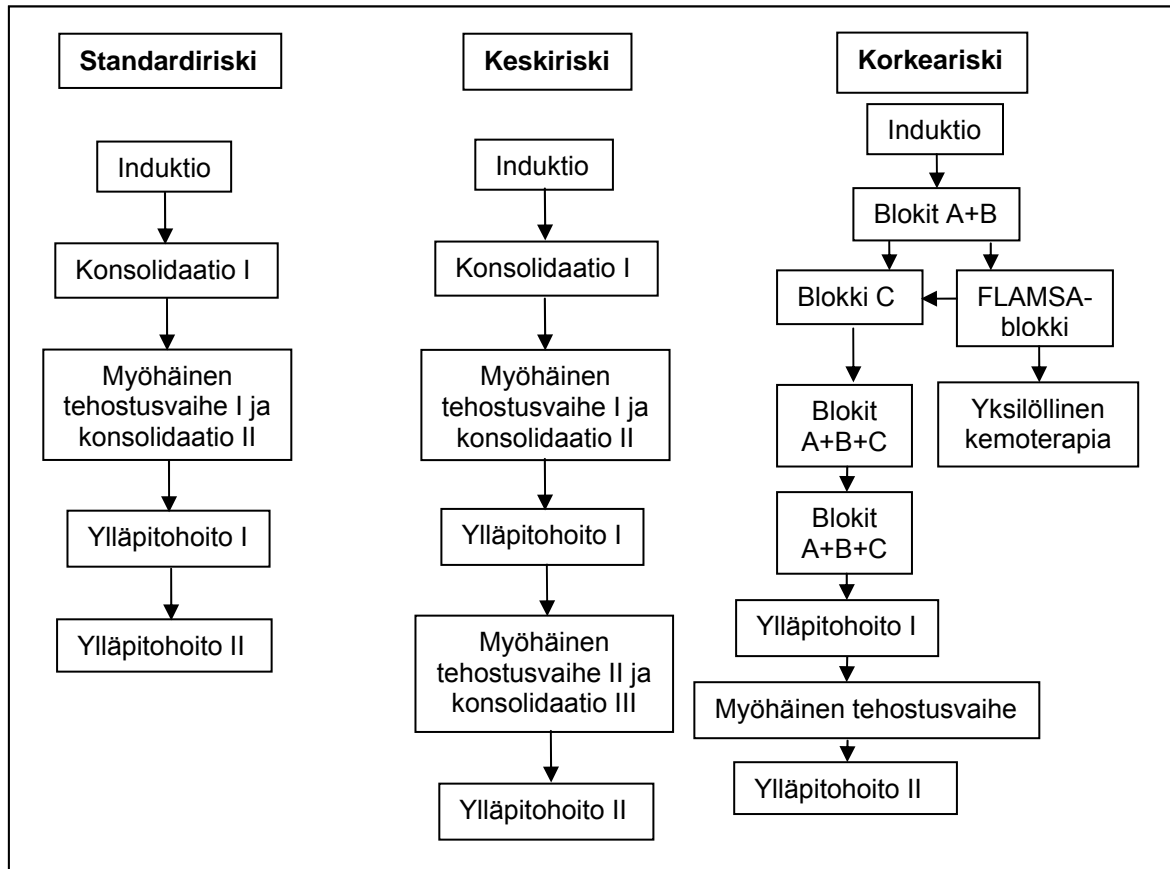
Tutkimukset relapsin aikana

Relapsin aikana tehdään vastaavat tutkimukset kuin diagnoosihetkellä, mutta TPMT-genotyyppiä ei enää määritetä. Myös kaikki sytogeneettiset tutkimukset tehdään, sillä karyotyypin muutokset ovat yleisiä relapsissa. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 48.)

5.2.6 Hoidon kulku

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmassa potilaan hoito etenee sen mukaan, mihin riskiryhmään hänet on diagnoosivaiheessa luokiteltu. Kaaviossa 3 (s. 74) on hoitojen kulku esitetty kaavamaisessa muodossa. Vettenrannan (2009) mukaan hoito-ohjelman kulku ja siinä käytetyt hoitomuodot saattavat muuttua ja kehittyä ajan myötä saatujen kokemusten perusteella. Standardi- ja keskiriskiryhmissä hoidon kulku on pitkälti samanlainen. Blokkihoidot ovat hoito-ohjelman raskaimpia hoitoja. Niitä annetaan ainoastaan korkeariskiryhmään luokitelluille potilaille. Hoitojen edetessä tehtävien pakollisten tutkimusten tulosten perusteella riskiryhmäluokitus arvioidaan potilaan kohdalla aina uudelleen. Siten potilaan riskiryhmä voi hoitojen edetessä muuttua joko raskaampaan tai kevyempään hoitoon. Tarkoituksena on, että potilas saa aina kevyintä mahdollista hoitoa, jotta hoitojen aiheuttamat pitkäaikaissivuvaikutukset jäisivät mahdollisimman vähäisiksi. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 17; Vettenranta 2009.)

KAAVIO 3. NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman mukainen hoidon kulku (NOPHO – ALL 2008 2008a, 81; NOPHO – ALL 2008 2008c, 3–8; NOPHO – ALL 2008 2008b, 3–7)



Hoito alkaa jokaisessa riskiryhmässä induktiovaiheella. Siinä käytettävä lääkehoito on standardi- ja keskiriskiryhmän potilaille täysin samanlainen. Myös korkeariskiryhmän potilaille annettava lääkitys on sama, mutta lisäksi heille annetaan vahvaa immunosuppressiivista lääkettä, dexametasonia. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 17, 24; NOPHO – ALL 2008 2008b, 3; NOPHO – ALL 2008 2008d, 3; NOPHO – ALL 2008 2008c 5.)

Ne korkeariskipotilaat, joilla diagnoosivaiheessa havaitaan luuytimeen levinnyt luokan CNS2 tai CNS3 leukemia, saavat keskushermoston sädehoitoa induktion aikana. Hoidon pitkäaikaisista sivuvaikutuksista johtuen sädehoidon määrä on pyritty minimoimaan vuoden 2008 NOPHO-hoito-ohjelmassa. Sitä ei kuitenkaan

voida kokonaan jättää pois ohjelmasta, sillä korkeanriskin potilailla on suurin mahdollisuus keskushermostoon levinneen leukemian relapsiin. Jos keskushermostoon levinneelle leukemialle ei saada vastetta millään hoito-ohjelman hoidoilla, se luokitellaan resistentiksi leukemiaksi. Tällaisen leukemiatyypin hoidosta tulee keskustella kansallisen tai pohjoismaisen protokollan koordinaattorin kanssa. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 28, 72–96.)

Standardi- ja keskiriskipotilailla hoidon seuraava vaihe on konsolidaatio I (NOPHO – ALL 2008 2008a, 25). Sen tarkoituksena on muun muassa vähentää kiveksiin ja keskushermostoon levinneen leukemian mahdollisuutta (Vettenranta 2009). Tässä vaiheessa korkea-annosmetotreksaatti voidaan antaa potilaalle, mikäli kaaviossa 4 luetellut kolme ehtoa täyttyvät (NOPHO – ALL 2008 2008a, 25, 27; NOPHO – ALL 2008 2008b, 10–11; NOPHO – ALL 2008 2008d, 4–5).

KAAVIO 4. Ehdot korkea-annosmetotreksaatin annolle konsolidaatio I:ssä (NOPHO – ALL 2008 2008a, 25, 27; NOPHO – ALL 2008 2008b, 10–11; NOPHO – ALL 2008 2008d, 4–5)

- 1) joko neutrofiiliarvo eli ANC on yli $0,5 \times 10^9/L$ tai leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$ sekä trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$
- 2) plasman kreatiniini on normaali
- 3) aminotransferaasit ASAT/ALAT eivät ole yli 20 kertaa yli viitealueen ylärajan.

Konsolidaatio I:tä seuraa sekä standardi- että keskiriskipotilailla myöhäinen tehostusvaihe I ja konsolidaatio II. Niiden tarkoituksena on vähentää leukeemisten blastien määrää sekä ylläpitää näin saavutettua tasoa. Myöhäinen tehostusvaihe I aloitetaan standardiriskipotilaille veriarvoista riippumatta. Meneillään olevat merkittävät komplikaatiot, kuten esimerkiksi infektiot voivat kuitenkin olla peruste aloituksen lykkäämiselle. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 25, 27; NOPHO – ALL 2008 2008b, 10–11; NOPHO – ALL 2008 2008d, 4–5; Vettenranta 2009.)

Keskiriskipotilaille myöhäistä tehostusvaihe I:tä aloitettaessa veriarvoilla on kuitenkin merkitystä. Hoito voidaan aloittaa, kun joko leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$ tai neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$ sekä trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$ ja nousussa. Mikäli myöhäinen tehostusvaihe I on ehditty aloittaa, se viedään läpi veriarvoista riippumatta. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 25, 27; NOPHO – ALL 2008 2008b, 10–11; NOPHO – ALL 2008 2008d, 4–5; Vettenranta 2009.) Keskiriskipotilaille konsolidaatio II aloitetaan, kun neutrofiiliarvo on alle $0,5 \times 10^9/L$ ja trombosyytti-arvo pysyy alle $50 \times 10^9/L$, eikä arvo ole laskussa (NOPHO – ALL 2008 2008c, 5).

Osalla potilaista saattaa olla kohonnut riski sairastua keskushermostoon levinneeseen leukemiaan, mutta he eivät muilta osin täytä korkeariskiryhmän kriteerejä. Tällaiset potilaat jäävät keskiriskiryhmään, eikä heille siksi anneta keskushermoston sädehoitoa, vaan heitä hoidetaan tehostetulla pidennetyllä selkäyttimeen johdettavalla eli intratekaalisella (liite 1) lääkehoidolla. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 16, 20; NOPHO – ALL 2008 2008b, 5.)

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmassa täydellisen remission induktion jälkeen saavuttaneet korkeariskiryhmän potilaat saavat tämän jälkeen yhdeksän blokkia kemoterapiaa (A+B+C, A+B+C ja A+B+C). Jokainen blokki sisältää tietyn lääkehoidon. Blokit A ja B ovat aina kaksi ensimmäistä blokkia, ja ne annetaan kaikille korkeariskipotilaille. Edelleen täydellisessä remissiossa pysyneet potilaat hoidetaan seuraavaksi blokin C mukaan ja he jatkavat hoidon yhdeksän blokkia loppuun. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 28, 81.)

Alkuperäisen hoito-ohjelman mukaisesti potilaalle annetaan FLAMSA-blokin mukaista hoitoa, jos potilaan luuydin on blokin B jälkeen luokkaa M2/3. Jos luuydin-arvo ei korjaannu FLAMSA-blokin jälkeen, potilaan hoidosta tulisi keskustella kansallisen päätutkijan (Suomessa Kim Vettenranta) tai protokollakomitean kanssa. Saavutettaessa FLAMSA-blokin mukaisella hoidolla luuydinluokka M1, jatketaan potilaan hoito loppuun samalla tavalla kuten niiden potilaiden, jotka ovat saavuttaneet täydellisen remission induktion jälkeen. Tällöin

hoito jatkuu ensimmäisestä C blokista. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 28, 81.) Arolan (2009) mukaan FLAMSA-blokista on kuitenkin luovuttu ainakin Tampereen yliopistollisessa sairaalassa. Potilaat, jotka eivät saavuta remissiota induktion jälkeen saavat luuydinsiirron. Blokkihoidon jälkeen korkeariskipotilaat siirtyvät ylläpitohoitoon. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 28, 81.)

Ylläpitohoidon merkitys on standardi- ja keskiriskipotilaille suuri, sillä heille annettavat induktio- ja konsolidaatiohoidot ovat kevyempiä kuin korkeariskiryhmän potilaille annettavat hoidot (NOPHO – ALL 2008 2008a, 27). Ylläpitohoito I aloitetaan standardiriskipotilaille hoitoviikolla 20 ja keskiriskipotilaille viikolla 22. Hoito voidaan aloittaa molemmille riskiryhmille, mikäli leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$ tai neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$. Korkea-annosmetotreksaatti aloitetaan viikon kuluttua ylläpitohoito I:n aloittamisesta, mikäli kaaviossa 5 esitetyt kolme ehtoa täyttyvät (NOPHO – ALL 2008 2008c, 6; NOPHO – ALL 2008 2008d, 6).

KAAVIO 5. Ehdot korkea-annosmetotreksaatin annolle ylläpitohoito I:n aikana (NOPHO – ALL 2008 2008c, 6; NOPHO – ALL 2008 2008d, 6)

neutrofiiliarvo on yli $0,5 \times 10^9/L$ ja trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$

- 1) munuaisfunktio on normaali
- 2) aminotransferaasit ASAT/ALAT eivät ole yli 20 kertaa yli viitealueen ylärajan.

Ylläpitohoito I:n tavoitteena molemmille riskiryhmille on saada leukosyyttimäärä tasolle $1,5\text{--}3,0 \times 10^9/L$.

Hoitoviikosta 58 alkaen standardiriskipotilaiden hoito jatkuu ylläpitohoito II:na (NOPHO – ALL 2008 2008a, 63). Keskiriskipotilaille ylläpitohoito I:tä seuraava vaihe on myöhäinen tehostusvaihe II ja konsolidaatio III, jotka toteutetaan hoitoviikoilla 60–66. Myöhäinen tehostusvaihe II voidaan aloittaa ja viedä läpi veriarvoista riippumatta. Konsolidaatio III aloitetaan puolestaan vasta, kun leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$ tai neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$. (NOPHO – ALL 2008 2008c, 7, 67.) Keskiriskipotilaiden ylläpitohoito II aloitetaan viikolla 66. Hoidot päättyvät 2,5 vuoden kuluttua diagnoosista riippumatta siitä, onko aiempia hoitoja jouduttu lykkäämään. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 67.)

Korkeariskiryhmän potilaiden ylläpitohoito I aloitetaan hoitoviikolla 36. Ylläpito-hoidon voi aloittaa kolmen viikon kuluttua viimeisen blokin aloittamisesta. Tällöin neutrofiiliarvon on oltava yli $0,5 \times 10^9/L$ ja trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$. Ylläpitohoito I:tä seuraa myöhäinen tehostusvaihe, jonka jälkeen hoitoviikolla 105 aloitetaan ylläpitohoito II. Hoito voidaan aloittaa, kun leukosyyttimäärä on yli $1,0 \times 10^9/L$, neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$ sekä trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$ ja arvo nousemassa. Hoitoa jatketaan kunnes diagnoosin teosta on kulunut 2,5 vuotta huolimatta aiempien hoitojen mahdollisesta viivästyisestä. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 28, 72–96.)

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmassa kantasolusiirtojen indikaatiot perustuvat yksinomaan hoitovasteeseen. Jos kantasolusiirto joudutaan tekemään, pyritään se toteuttamaan ensimmäisessä täydellisessä remissiossa. Kantasolusiirto tehdään kaikille niille potilaille, jotka eivät saavuta remissiota induktion jälkeen. Siirto toteutetaan myös niille standardi- ja keskirisikipotilaille, joilla hoitopäivän 79 ja korkeariskipotilaille, joilla blokin B jälkeinen jäännöstautitaso on yli 0,001 %. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5.)

5.2.7 Randomisaatio

NOPHO ALL – 2008 -hoito-ohjelma sisältää kolme randomoitua (liite 1) tutkimusosiota. Näiden satunnaistettujen tutkimusten tavoitteena on lisätä tietämystä tiettyjen hoidon osien tehokkuudesta sekä toksisuudesta. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5.) Randomisaatioihin osallistuminen edellyttää mukana olevilta keskuksilta määrättyjä toimenpiteitä. Näitä ovat esimerkiksi velvollisuus rekisteröidä potilas NOPHO-rekisteriin viikon kuluessa ALL:n diagnosoinnista. Myös kaikkien induktiovaiheen ja ensimmäisen täydellisen remission aikana tapahtuvien kuolemien ja epäiltyjen, mutta odottamattomien vakavien haitallisten reaktioiden eli SUSARien (liite 1) raportointi NOPHO-rekisteriin tulee tehdä 48 tunnin kuluessa. Sairaalat, jotka toistuvasti poikkeavat hoito-ohjelman

ohjeistuksesta, voidaan sulkea pois randomoiduista tutkimusosioista jatkon osalta. He voivat kuitenkin jatkaa potilaidensa hoitoa hoito-ohjelman mukaisesti. Myös hoitava lääkäri voi kieltää potilaan randomisaation. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 2, 6.)

Randomisaatioihin otetaan mukaan ne standardi- ja keskiriskipotilaat, joiden tauti on diagnosoitu 1.1.2009 jälkeen. Samasta päivästä lähtien randomisaatioihin otetaan mukaan myös ne uudet korkeariskipotilaat ja kontrollipotilaat, jotka täyttävät hoito-ohjelman vaatimat korkean riskin kriteerit. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 13; NOPHO – ALL 2008 2008b, 4.) Potilaalla ja hänen perheellään on oikeus kieltäytyä randomisaatioista. Kieltäytymisiä odotetaan tapahtuvan Suomessa kuitenkin todella vähän. (Vettenranta 2009.)

Randomoidut osiot toteutetaan kolmessa keskeisessä stratifikaatiopisteessä (liite 1), jolloin suuri tutkimusjoukko jaetaan pienempiin homogeenisiin ryhmiin. Stratifikaatio suoritetaan ALL:n diagnoosivaiheessa sekä kuukauden (D29) ja kolmen kuukauden (D79) kuluttua diagnoosista. Diagnoosivaiheessa määräytyvä riskiryhmä riippuu potilaan leukeemisten solujen immunofenotyypistä ja valkosolumäärästä. Seuraavassa stratifikaatiopisteessä riskiryhmä määritetään ALL-solukon karyotyypin sekä induktiohoidon jälkeisen jäännöstautitason perusteella. Kolmannessa pisteessä potilaat, joiden jäännöstautitaso on korkea, siirretään korkeariskin hoitoon ja tavoitteena on kantasolusiirto ensimmäisessä täydellisessä remissiovaiheessa. Stratifikaatiopisteissä tehtävien tutkimusten tulosten perusteella potilaan riskiryhmä voi muuttua. (NOPHO – ALL 2008 2008b, 5.)

Ensimmäisessä randomoidussa tutkimusosiossa selvitetään, mikä merkitys on induktiovaiheessa annettavan lääkkeen 6-merkaptopuriini annoksen nostamisella. Lääkettä annetaan potilaille kolmessa eri annoskoossa. Standardiriskiryhmässä pienimmän annoksen saavat randomisaation ulkopuolelle jäävät potilaat. Randomisaatioon osallistuvien potilaiden annosta nostetaan hoitoviikkojen aikana asteittain suuremmaksi. Kahteen ensimmäiseen randomisaatioon on tavoitteena

saada mukaan 900–1000 potilasta. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 39–40; Vettenranta 2009.)

Toisessa randomisaatiossa tutkitaan, voiko asparginaasin annostusta vähentää. Annostuksen vaikutusta tutkitaan siten, että randomisaatioon osallistuville potilaille kyseistä lääkettä annetaan harvemmin. Viimeiseen randomisaatioon osallistuvat vain korkeariskiryhmän potilaat ja siksi siihen oletetaan saavan mukaan vain 100–130 potilasta. Randomisaation tarkoituksena on verrata uuden intratekaalisesti annosteltavan sytosiiniarabinoosi-lääkkeen tehoa aiemmin käytettyyn lääkkeeseen verrattuna. Ne potilaat, jotka eivät osallistu randomisaatioon, saavat edelleen aiemmissa hoito-ohjelmissä käytettyä lääkettä uuden sijaan. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 39–40; Vettenranta 2009.)

5.3 Hoito-ohjelmissä tapahtunut muutos

Vuosien aikana leukemian tutkimusmenetelmät ovat kehittyneet, minkä vuoksi muun muassa ALL:n alaluokkia on pystytty tunnistamaan huomattavasti enemmän. Sen seurauksena on tullut tarve kehittää hoito-ohjelmia tasaisin väliajoin. Kehittyneiden tutkimusmenetelmien myötä hoito-ohjelmiin tarvittaisiin uusia alaluokkia, jotta potilaille voitaisiin tarjota mahdollisimman yksilöllistä hoitoa. Käytännössä tämä ei kuitenkaan ole mahdollista, sillä todellisuudessa jokaisen potilaan sairaus on yksilöllinen ja vaatisi oman hoito-ohjelmansa. Käytössä olleiden NOPHO -hoito-ohjelmien aikana erityisesti jäännöstautidiagnostiikka on kehittynyt huomattavasti. Sen myötä myös jäännöstaudin määritelmä on muuttunut ja sen diagnostiikan merkitys korostunut. (Vettenranta 2009.)

Aiemmistä hoito-ohjelmista saatujen tulosten perusteella on huomattu, että osa potilaista on saanut liian voimakkaita hoitoja taudinkuvaan nähden. Näin käytetyistä lääkehoidoista on saattanut seurata toksisia sivuvaikutuksia etenkin korkeimmissa luokissa hoidetuille potilaille. Edeltävässä NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelmassa korkeariskipotilaita oli 30 %. Uudessa, vuoden 2008 hoito-

ohjelmassa pyritään siihen, että hoidoiltaan raskaimpaan korkeariskiryhmään päätyisi mahdollisimman pieni potilasjoukko. Suurin joukko tullaan ohjaamaan standardiriskiryhmään. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 28; Vettenranta 2009.)

NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelmassa korkeariskipotilaiden EFS-arvo oli 60 %. Arvo on pysynyt lähes muuttumattomana jo vuodesta 1986 lähtien. Uudessa hoito-ohjelmassa tavoitellaan yhtä suurta EFS-arvoa, mutta sen saavuttaminen saattaa olla epärealistista, sillä osa aiemman hoito-ohjelman korkeariskipotilaista luokitellaan uudessa hoito-ohjelmassa matalampaan riskiryhmään. Tällöin nykyisessä hoito-ohjelmassa korkeariskiryhmään jää vain potilaat, joiden ennuste on erittäin huono ja sen vuoksi ei voida olettaa, ettei heidän tautinsa uusisi tai heille ei seuraisi hoidosta vakavia komplikaatioita. (NOPHO – ALL 2008 2008a, 28; Vettenranta 2009.)

6 OPINNÄYTETYÖN TEHTÄVÄ, TARKOITUS JA TAVOITTEET

NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelman käyttöönotto tulee vaikuttamaan muun muassa kliinisen hematologian ja genetiikan laboratorioden arkeen. Koska hoito-ohjelma on virallisesti käytössä vasta vuoden 2009 alusta lähtien, laboratorihenkilökunnalla ei ole sen vaikutuksista vielä laajaa kokemusta laboratoriotoinnin kannalta. Tähän tarpeeseen opinnäytetyömme olisi tarkoitus antaa selvitystä.

Opinnäytetyömme tarkoituksena on selvittää, millainen NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma on. Tehtävänä on koota kirjallinen tietopaketti NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmasta Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion henkilökunnan käyttöön. Jotta voimme ymmärtää hoito-ohjelman sisällön, meidän on tutustuttava myös lasten akuutin lymfaattisen leukemian taudinkuvaan. Tästä syystä opinnäytetyömme tulee sisältämään perustietoa lasten ALL:stä.

Akuutin lymfaattisen leukemian hoito perustuu kliinisen hematologian, genetiikan ja kliinisen kemian laboratoriotutkimuksista saataviin tuloksiin. Opinnäytetyöprosessin aikana tulemme tutustumaan näiden laboratorioden toimintaan niiltä osin, mitä laboratoriotutkimuksia ja tutkimusmenetelmiä niissä käytetään ALL:n diagnosointiin ja hoidon seurantaan.

Lopputuloksena syntyvän selvityksen tavoitteena on helpottaa laboratorihenkilökunnan tutustumista hoito-ohjelmaan. Omin tavoitteinamme on, että opinnäytetyöprosessi tulee tarjoamaan paljon uutta tietoa ALL:stä, itse hoito-ohjelmasta sekä tutkimusmenetelmistä, kuten immunofenotyyppityksestä ja FISH-menetelmästä.

7 TOIMINNALLINEN OPINNÄYTETYÖ MENETELMÄNÄ

Toiminnallinen opinnäytetyö on vaihtoehto tutkimukselliselle opinnäytetyölle. (Vilka & Airaksinen 2004, 9; Virtuaaliammattikorkeakoulu 2008.) Se ei sisällä tutkimuskysymyksiä, eikä tutkimusongelmaa. Se rakentuu kahdesta osasta; toiminnallisesta osuudesta eli tuotoksesta sekä opinnäytetyöraportista eli opinnäytetyöprosessin dokumentoinnista. (Virtuaaliammattikorkeakoulu 2008.) Koska toiminnallisen opinnäytetyön lopullisena tuotoksena syntyy yleensä konkreettinen tuote, on raporttiosuuden käsiteltävä tuotoksen saavuttamiseksi käytettyjä keinoja (Vilka & Airaksinen 2004, 51).

Toiminnallinen opinnäytetyö on työelämän kehittämistyö ja sillä on siten yleensä toimeksiantaja. Toimeksiannetun opinnäytetyön avulla opiskelijalla on mahdollisuus näyttää osaamistaan ja herättää työelämän kiinnostusta itseensä. Toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena on tavoitella käytännön toiminnan opastamista, ohjeistamista, järjestämistä tai järjeistämistä. Sen tulee olla ammattillisesti kiinnostava ja merkittävä kohderyhmälle. Tekijältä edellytetään tutkivaa ja kehittävää otetta, joka näkyy muun muassa teoreettisen lähestymistavan perusteltuna valintana sekä kriittisenä suhtautumisena omaan tekemiseen ja kirjoittamiseen. Ideana on pyrkiä yhdistämään ammatillinen teoreettinen tieto ammatilliseen käytäntöön. (Vilka & Airaksinen 2004, 9, 16; Virtuaaliammattikorkeakoulu 2008.)

Toiminnallisen opinnäytetyön tuotos voi ammattialasta riippuen olla esimerkiksi ammatilliseen käyttöön suunnattu ohjeistus, kuten perehdyttämiso-oppas tai turvallisuusohjeistus. Toteutustapana voi olla esimerkiksi kirjan, oppaan, CD-romin tai muun tuotoksen tekeminen kohderyhmän tarpeiden mukaan. Syntyvän tuotoksen tulee aina pohjautua ammattiteorialle ja sen tuntemukselle. (Vilka & Airaksinen 2004, 9; Virtuaaliammattikorkeakoulu 2008.) Tämän toiminnallisen opinnäytetyön lopullisena tuotoksena syntyy kirjallinen tietopaketti NOPHO ALL – 2008 hoito-ohjelmasta.

7.1 Toiminnallisen opinnäytetyön suunnitteluvaihe

Toiminnallista opinnäytetyötä varten luodaan toimintasuunnitelma, jotta opinnäytetyön idea ja tavoitteet olisivat tiedostettuja, harkittuja ja perusteltuja. Sen tehtävänä on muun muassa jäsentää opinnäytetyön tekijälle, mitä hän on tekemässä. Suunnitelma on myös lupaus siitä, mitä aiotaan tehdä. Suunnitellut toteuttamistavat voivat toki osoittautua jopa mahdottomiksi, mutta aihetasolla opinnäytetyön tekijän pitäisi pystyä sitoutumaan siihen, mitä hän on toimintasuunnitelmassaan luvannut tehdä. (Vilkkä & Airaksinen 2004, 26–27.)

Opinnäytetyöprosessi alkoi syksyllä 2008, jolloin työlle saatiin aihe Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion. Opinnäytetyön työelämäohjaajaksi ryhtynyt laboratorionhoitaja Leena Pankko ehdotti aiheeksi lasten akuutin lymfaattisen leukemian hoito trial -kokeilua Taysissa. Tämän aiheen valintaan vaikutti osin se, että se oli tarkoitettu kolmen hengen ryhmälle. Aiheen valinnan jälkeen päätettiin ohjaajat ja opponentit. Opettajaohjaajiksi tälle opinnäytetyölle tulivat Pirkanmaan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman koulutusvastaava lehtori Leena Mattila-Oksanen sekä lehtori Ritva Kröpi. Opiskelijaopponenteiksi tulivat Liisa Venho ja Miia Viheriäkoski.

Tiedonhaku opinnäytetyön ”ideapaperia” varten alkoi syyskuussa 2008. Tuolloin tekijät eivät vielä tienneet aiheesta juuri muuta kuin sen, että se koskee lasten akuutin lymfaattisen leukemian hoitokokeilua ja vuodenvaihteessa alkavaa hoitoa. Ensimmäisessä opinnäytetyöseminaarissa ideapaperi esiteltiin ryhmän muille opiskelijoille. Se sisälsi opinnäytetyön aiheen ja kertoi, mitä siihen mennessä oli saatu selville muun muassa työn tarkoituksesta ja menetelmästä. Tuolloin tiedettiin, että työssä tullaan käsittelemään ainakin lasten akuuttia lymfaattista leukemiaa ja sen hoitoa sekä leukemian diagnosointia kliinisen hematologian, kliinisen kemian ja genetiikan osalta.

Toimintasuunnitelmaa tehtäessä on suunniteltava opinnäytetyön aikataulu. Tällöin myös opinnäytetyön ohjaajat saavat ideat ja tavoitteet huomioon ottaen arvioida,

onko aikataulu realistinen. Se, kuinka paljon aikaa toiminnallisen opinnäytetyön toteuttaminen vaatii, riippuu muun muassa toteutustavasta. Aikatauluun on hyvä lisätä myös joustonvaraa sitä enemmän, mitä useampi henkilö prosessissa tarvitaan. (Vilka & Airaksinen 2004, 27–28.)

Kun opinnäytetyön suunnitelmaa esiteltiin ensimmäisessä seminaarissa muulle ryhmälle, oli alustava aikataulu tehty. Tuossa vaiheessa oli suunniteltu, että sopimus- ja lupapaperit saadaan allekirjoitettua joulukuuhun 2008 mennessä. Itse kirjoitusprosessia varten oli tuolloin myös olemassa aikataulusuunnitelma. Joulukuun 2008 ja tammikuun 2009 aikainen joululoma sekä maaliskuun 2009 urheiluloma suunniteltiin käytettävän opinnäytetyön kirjoittamiseen. Aikataulun mukaan työn oli määrä valmistua lokakuuhun 2009 mennessä.

Ensimmäisen kerran työelämäohjaaja Leena Pankko tavattiin yhdessä opettajaohjaaja Leena Mattila-Oksasen kanssa 24.9.2008. Tapaamisessa selvisi, että tarkoituksena on tehdä selvitys tulevasta lasten akuutin lymfaattisen leukemian NOPHO-hoito-ohjelmasta Pirkanmaan sairaanhoitopiirin hematologian laboratorion työntekijöiden käyttöön. Samalla tekijät saivat ensimmäiset materiaalit NOPHO-hoito-ohjelmasta. Tapaamisen myötä toimintasuunnitelman laatiminen pääsi jatkumaan.

Vilkan ja Airaksisen (2004, 72) mukaan opinnäytetyöprosessissa käytettävän lähdeaineiston luotettavuutta voi arvioida alustavasti jo ennen varsinaista tekstiin perehtymistä. Etukäteen voi selvittää muun muassa, mikä on tiedonlähteen auktoriteetti ja tunnettuus, kuinka vanha lähde on sekä onko se laadukas ja uskottava. Parhaita lähteitä ovatkin tunnetun ja asiantuntijaksi tunnustetun tekijän tuoreet ja ajantasaiset lähteet.

Tämänkin opinnäytetyöprosessin yhteydessä tekijät pyrkivät aina löytämään mahdollisimman uutta lähdemateriaalia. Kun tiedonhakuja oli tehty jo jonkin aikaa ja alan teokset käyneet tutummiksi, oli helpompi arvioida lähteiden luotettavuutta. Hyviä lähteitä löytyi myös tarkastelemalla luotettavaksi havaitun lähteen sisältämiä

lähde- ja kirjallisuusluetteloita. Opinnäytetyön aiheista löytyi runsaasti materiaalia ja kirjoitusprosessin edetessä oli myös rajattava sitä, kuinka montaa eri lähdetä kerralla käytetään.

Lähteitä arvioitaessa etenkin Veritaudit ja Syöpätaudit kirjojen käyttäminen lähteenä arvellutti tekijöitä, sillä ne ovat molemmat oppikirjoja. Myös Vilka ja Airaksinen (2004, 73) sanoo, että oppikirjojen käyttöä lähteinä tulisi välttää. Oheisaineistona ja oman työn tukena niitä voi kuitenkin käyttää (Vilka & Airaksinen 2004, 73). Edellä mainittujen oppikirjojen sisältämää tietoa ei ole juurikaan kirjoitettu suomen kielellä, joten tekijät kokevat näiden teosten käytön lähteenä perustelluksi, kun niiden rinnalla käytettiin muitakin lähteitä, jotta voitiin varmistua asiasisällön oikeellisuudesta.

Suunnitelmaa varten etsittiin tietoa lasten akuutista lymfaattisesta leukemiasta, sekä selvitettiin, millaisia riskiryhmiä on käytetty aiemmissa hoito-ohjelmissa. Edellisessä tapaamisessa työelämäohjaajalta saatujen materiaalien pohjalta alkoi myös tutustuminen NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmaan. Hoito-ohjelmaa käsittelevä teksti on hyvin vaikeaselkoista ja sisältää paljon vierasperäisiä sanoja sekä lyhenteitä. Tämän vuoksi tekijät päätyivät siihen, että suunnitelman ja opinnäytetyön on hyvä sisältää sanakirja.

Valmis suunnitelma esitettiin muulle ryhmälle 2.10.2008. Suunnitelmassa tuotiin esille opinnäytetyön tehtävä, tarkoitus ja tavoitteet. Sen teoreettinen viitekehys käsitteli lasten akuuttia lymfaattista leukemiaa sekä NOPHO-hoito-ohjelmaa. Suunnitelma sisälsi myös tiedot kustannuksista ja tarvittavat yhteystiedot. Sopimus opinnäytetyöstä allekirjoitettiin 4.12.2008, jonka jälkeen opinnäytetyön suunnitelma sekä tutkimuslupa opinnäytetyölle toimitettiin allekirjoitettavaksi Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen henkilöstöasiainpäällikkö Eija Salo-Lievoselle. Tutkimuslupa sekä kopio suunnitelmasta toimitettiin Pirkanmaan ammattikorkeakoululle 7.1.2009.

7.2 Toteutus

Toiminnallista opinnäytetyötä tehdessä työprosessin kulkua kirjataan vähitellen opinnäytetyöraportiksi, joka taustoittaa varsinaista tuotosta. Toiminnallisen opinnäytetyön raportin on täytettävä tutkimusviestinnän vaatimukset. Tekstistä on löydettävä vastaukset kysymyksiin mitä, miksi ja miten työtä tehtiin sekä millaisiin johtopäätöksiin päädyttiin. Raportista on käytävä ilmi lisäksi se, miten opinnäytetyön tekijä arvioi omaa prosessiaan, tuotostaan sekä oppimistaan. Lukijalla on näin raportin perusteella mahdollisuus päätellä, miten opinnäytetyössä on onnistuttu. Opinnäytetyö on ammatillisen ja persoonallisen kasvun väline, joka kertoo lukijalle tekijän ammatillisesta osaamisesta. Se osoittaa myös, että tekijä hallitsee riittävästi alansa teoriakirjallisuutta. Kuten tässäkin opinnäytetyössä, on toimeksiantaja yleensä kiinnostunut vain valmiista tuotoksesta, mutta raportin tekeminen kuuluu osaksi toiminnallisen opinnäytetyön toteuttamista. (Hakala 2004, 28–29; Vilka & Airaksinen 2004, 65.)

Raporttiosuuden teoreettiset viitekehykset olivat selvinneet jo suunnitelmaa tehtäessä. Sen valmistuttua ryhdyttiin edelleen suunnittelemaan ja rajaamaan sitä, mitä asioita leukemiaan liittyen tulisi käsitellä, jotta viitekehystä tulisi selkeä tuotosta tukeva kokonaisuus. Työelämäohjaaja Leena Pankko auttoi varsinaisesta hoito-ohjelmasta tarvittavan tiedon rajaamisessa. Heti alussa päätettiin esimerkiksi se, ettei bioanalyttikko-opiskelijoiden tekemän opinnäytetyön tarvitse käsitellä hoito-ohjelmaan liittyviä lääkehoitoja. Muilta osin tuotoksen eli hoito-ohjelmasta tehtävän selvityksen sisältö alkoi muodostua, kun tekijät ryhtyivät kirjoittamaan raportin NOPHO-hoito-ohjelmaa käsittelevää osuutta.

Kirjoitusprosessi eteni alkuperäisen suunnitelman mukaisesti joululoman aikana joulukuussa 2008 ja tammikuussa 2009. Ensimmäisen kerran tuotettua tekstiä tarkasteltiin ja jäseneltiin yhdessä opinnäytetyön opettajaohjaajien kanssa 7.1.2009. Tämän jälkeen kirjoitusprosessi jatkui siten, että tekstiin tehtiin ehdotetut korjaukset ja kirjoittamista jatkettiin. Toinen neuvottelu opettajaohjaajien kanssa käytiin 26.3.2009. Kevään aikana kävi ilmi, ettei opinnäytetyötä ehditä saada

valmiiksi ennen kesäkuuta. Tämä olisi ollut suotavaa, sillä työelämäohjaaja Leena Pankko oli jäämässä eläkkeelle. Näin ollen tekijät ryhtyivät myös suunnittelemaan, kuinka laaja osuus jäisi kirjoitettavaksi kesän aikana.

Tekijät tutustuivat virtausytometrilaite FACSCanto II:een 7.4.2009 työelämäohjaaja Leena Pankon ohjauksessa. Tällöin otettiin myös valokuvia virtausytometrilaitteesta sekä vasta-ainereagenssipulloista. Seuraavana päivänä kuvattiin Pirkanmaan ammattikorkeakoululla opettajaohjaaja Leena Mattila-Oksasen opastuksella lymfoblasteja.

Tekijät tapasivat työelämäohjaaja Leena Pankon jälleen 11.5.2009. Tuolloin hän antoi omat korjausehdotuksensa tekstiin. Työelämäohjaajan toivomuksesta lopulliseen selvitykseen tulisi tietoa ainoastaan NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmasta. Hematologian laboratoriohenkilökunnalla ei ollut tarvetta saada esimerkiksi perustietoa lasten akuutista lymfaattisesta leukemiasta. Tapaamisessa selvisi myös, että lopullinen hematologian laboratorion käyttöön tuleva selvitys tulee palauttaa paperiversiona. Lisäksi teksti tallennettaisiin CD-ROM:ille Microsoft Word -muodossa, johon laboratoriohenkilöstöllä on halutessaan mahdollisuus tehdä tarvittavia muutoksia ja tulostaa käyttöönsä työn päivitetty versio. Tekijät tapasivat opettajaohjaajat 27.5.2009. Neuvottelun tarkoituksena oli tehdä suunnitelma siitä, miten opinnäytetyöprosessi etenisi kesän 2009 aikana.

Tekijät olivat aiemmin tiedonhaun yhteydessä sattumalta löytäneet tiedon, että Pirkanmaan sairaanhoitopiiri järjestäisi opinnäytetyön aiheeseen liittyvän koulutuspäivän 29.5.2009. Päivän aiheena oli TAYS:n erityisvastuualueen syöpää sairastavia lapsia hoitavien työntekijöiden koulutus. Työelämäohjaaja järjesti tekijöille mahdollisuuden osallistua kyseiseen koulutukseen. Koulutuksesta oli suurta hyötyä, sillä suurin osa NOPHO-hoito-ohjelmaa käsittelevästä tiedosta on kirjoitettu englanniksi. Siksi koulutus tarjosi erityisesti mahdollisuuden tarkistaa, olivatko tekijät ymmärtäneet hoito-ohjelman sisältämää tietoa oikein. Koulutuksen jälkeen tekijät kävivät uudelleen läpi jo aiemmin kirjoittamaansa hoito-ohjelmaa käsittelevää tekstiä, jonka sisältöalueet alkoivat nyt jäsentyä parempaan muotoon.

Kun raporttiosuuden NOPHO-hoito-ohjelmaa käsittelevä teksti oli saatu valmiiksi, tulivat tekijät siihen tulokseen, että kirjallinen tietopaketti NOPHO ALL – 2008 hoito-ohjelmasta tulisi sisältämään melko saman tekstin. Tekstin sisältöä muokattiin ja selvityksen visuaalinen ulkonäkö muutettiin opinnäytetyön muotovaatimuksista poikkeavaksi sekä käyttötarkoitustaan paremmin vastaavaksi.

Selvitys annettiin luettavaksi Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratoriossa työskentelevälle laboratoriohoitaja Henna Korhoselle. Kun tekstin toimivuus oli testattu yhden tuotoksen käyttäjän edustajan avulla, tehtiin selvitykseen vielä hänen ehdottamiaan muutoksia. Viimeisen kerran opettajaohjaajat sekä työelämäohjaaja tarkastivat työn palautuspäivää edeltävien viikkojen aikana. Opinnäytetyö tullaan palauttamaan suunnitelman mukaisesti 1.10.2009 ja se esitetään muulle vuonna 2006 aloittaneelle bioanalytiikan koulutusohjelman ryhmälle 23.10.2009. Tuotos luovutetaan toimeksiantajalle lokakuussa 2009.

8 SELVITYS LASTEN NOPHO – ALL 2008 -HOITO-OHJELMASTA

Opinnäytetyön tuotoksena syntyi selvitys lasten NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmasta (liite 3). Selvityksessä on 37 sivua ja työ jakautuu kahteentoista (12) kappaleeseen. Selvityksen alkuun kirjoitettiin saatesanat lukijalle, josta selviää muun muassa se, että työ luovutetaan toimeksiantajalle paperiversiona sekä CD-ROM-tallenteena. Näin ollen hematologian laboratorion henkilökunnalla on tarvit- taessa mahdollisuus päivittää selvitystä. Laboratorion henkilökunnan niin halutessa työ voidaan laittaa myös intranettiin.

Lukemisen helpottamiseksi selvityksen liitteeksi lisättiin aiempien suunnitelmien mukaisesti sanakirja. Sanakirjasta toivotaan olevan apua myös luettaessa NOPHO -hoito-ohjelmasta kertovaa alkuperäistä englanninkielistä tekstiä. Selvityksessä on jonkin verran taulukoita ja kaavioita, sillä osa asioista on helpompi esittää tässä muodossa kuin luettelona muun tekstin joukossa.

Tuotoksesta pyrittiin saamaan mahdollisimman selkeä ja helppolukuinen. Kunkin kappaleen alkuun laitettiin muutama ydinlause tiivistämään kappaleen pääajatusta. Tämän tarkoituksena oli helpottaa tuotoksen lukua siinä tapauksessa, kun lukijalla on aikaa vain selailla selvitystä läpi. Värejä käytettiin tehosteena, jotta tärkeät asiat korostuisivat muun tekstin joukosta. Myös kuvia käytettiin piristämään tekstiä.

9 POHDINTA

Lasten akuutti lymfaattinen leukemia ja sen hoitoon käytettävä NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma oli aiheena erittäin haastava, sillä ALL:stä oli tietoa saatavilla yli tarpeen. Itse hoito-ohjelmasta puolestaan oli saatavilla vain englanninkielinen NOPHO – ALL 2008 -protokolla sekä suomenkieliset tiivistelmät hoitohenkilökunnalle ja potilaille. Pohjatietomme lasten akuutista leukemiasta olivat melko vähäiset, eikä tietoa ollut juurikaan saatavilla suomenkielisenä. Ainoa suomenkielinen kirjallisuus oli Ruudun ym. Veritaudit, joka on oppikirja. Lähdesynteetin teko tuotti välillä ongelmia, sillä suurin osa englanninkielisistä lähteistä oli kirjoitettu yhdysvaltalaisen käytäntöjen mukaan. Koska aiheena oli yhteispohjoismainen hoito-ohjelma, ei näissä lähteissä ollut tietoa voinut käyttää sellaisenaan varmistamatta ensin, ovatko mainitut käytännöt samoja myös Pohjoismaissa. Veritaudit -oppikirja oli lähes ainoa lähde NOPHO – ALL 2008 -protokollan lisäksi, josta pystyimme tarkistamaan, mitä hoitokäytäntöjä toteutetaan Suomessa.

Tutustuessamme ALL:n diagnostiikkaan, saimme huomata, että diagnosointimenetelmät vaihtelevat maittain ja lähteittäin. Tämän vuoksi jouduimme myös itse päättämään, mitä menetelmiä painotamme omassa opinnäytetyössämme. Etenkin sytokemialliset värjäykset ja FAB-luokitus olivat aiheita, joiden kohdalla jouduimme miettimään niiden tarpeellisuutta. Esimerkiksi Pirkanmaan sairaanhoitopiirissä ei käytetä sytokemiallisia värjäyksiä ALL:n diagnostiikassa lainkaan, eikä FAB-luokitus ole enää pääasiallinen luokitteluperuste. Mielestämme näiden aiheiden sisällyttäminen opinnäytetyöhömme oli kuitenkin perusteltua, sillä NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmassa ne mainitaan yhtenä riskiluokituksen perusteena. Sytokemiallisia värjäyksiä käytetään myös edelleen ALL:n diagnosointiin joissain suomalaisissa laboratorioissa. Lisäksi FAB-luokitus otettiin työhön mukaan yhtenä luokitteluperusteena siksi, että suurimmassa osassa lähteistä blastisoluja kuvaillaan FAB-luokkien mukaan.

Immunofenotyypitys mikroskoipimalla sekä PCR:n modernit sovellutukset olivat myös aihealueita, joiden kohdalla jouduimme miettimään, kuinka laajasti niitä esittelemme. Immunofenotyypityksen mikroskoipimalla sisällytimme työhömmesimerkkinä menetelmän kehittymisestä. PCR puolestaan on tulevaisuuden menetelmä, jonka käyttömahdollisuuksia ALL:n diagnostiikassa halusimme esitellä. Koimme hyödyllisemmäksi nostaa työssämme esille useampia eri diagnosointimenetelmiä kuin painottaa vain muutamia. Useiden eri menetelmien käsittely oli perusteltua muun muassa siksi, että opinnäytetyön kirjoittajia oli kolme ja tämän vuoksi opinnäytetyön tuli olla laajempi.

Virtaussytometriasta on Pirkanmaan ammattikorkeakoulussa vuonna 2008 valmistunut opinnäytetyö. Tämä oli yksi syy, minkä vuoksi emme käsitelleet virtaussytometriaa niin laajasti, vaikka se onkin merkittävä menetelmä ALL:n diagnosoinnissa ja jäännöstautitason seurannassa. Virtaussytometrian tärkeys korostui kuitenkin koko opinnäytetyöprosessin ajan muun muassa siten, että se oli ainoa diagnosointimenetelmä, johon kävimme henkilökohtaisesti tutustumassa hematologian laboratoriossa.

Tärkeimpiä diagnosointimenetelmiä ja luokitteluperusteita halusimme korostaa myös kuvin. Virtaussytometrista ja vasta-ainereagenssipulloista otimme kuvat tekijänoikeudellisista syistä itse. Lasten akuutin lymfaattisen leukemian alaryhmät ja luokittelu -kappaleessa liitimme FAB-luokittelun yhteyteen itse ottamiämme kuvia blastisolusta. Kuvien ottaminen tähän kappaleeseen oli tärkeää, sillä morfologian havainnollistaminen vain sanoin ei ole mahdollista. Suurin osa käyttämistämme kuvista on skannattu kirjoista ja muokattu paremmin käyttötarkoitukseemme sopiviksi. Muokkauksen myötä kuvien julkaisu on ollut luvallista. Käytimme opinnäytetyössämme melko paljon erilaisia taulukoita ja kuvioita havainnollistaaksemme asioita, jotka olisivat muun tekstin joukossa olleet hankalalukuisia luetteloita.

Opinnäytetyöprosessin alussa lähdetekstien lukeminen oli haastavaa, sillä leukemiaan liittyvä termistö ei ollut ennalta tuttua. Kun tekstin merkityksen oli ymmärtänyt englanniksi, tuotti lisähaastetta erityisesti yksittäisten termien kääntäminen suomeksi. Pirkanmaan ammattikorkeakoulun opinnäytetyön kirjalliset muotovaatimukset edellyttävät, että vierasperäiset sanat käännetään tekstissä aluksi suomenkielelle. Tämä oli erityisen hankalaa siksi, että kaikille sanoille ei löytynyt suoraa suomenkielistä vastinetta. Esimerkiksi sanan protokolla jouduimme suomentamaan hoito-ohjelmaksi, vaikka protokolla-sana on todellisuudessa käsitteenä paljon laajempi. Osa sanoista tuotti ongelmia siksi, että niiden vierasperäinen muoto on laboratoriossa yleisesti käytössä ”laboratorioslangina”. Muun muassa sanojen blokki ja markkeri käyttöä jouduimme tästä syystä pohtimaan. Sana markkeri tuotti ongelmia myös sen monitulkintaisuuden vuoksi. Osa lähteistä käytti sanaa markkeri puhuessaan vasta-aineesta, kun taas toiset lähteet tarkoittivat sillä antigeenia.

Pidämme opinnäytetyötämme luotettavana, sillä olemme käyttäneet lähteitä erittäin laajasti. Tieto on myös ajantasaista, sillä suurin osa lähteistä on 2000-luvulta. Itse hoito-ohjelmasta saimme hyvin ajankohtaista tietoa osallistumalla syöpää sairastavia lapsia hoitavien työntekijöiden koulutuspäivään. Lähteiden laaja käyttö opetti meitä kirjallisuuden kriittiseen tarkasteluun. Prosessin edetessä opimme arvioimaan lähteiden luotettavuutta ja ajantasaisuutta. Lisäksi kielitaitomme erityisesti hematologisen sanaston osalta kehittyi, sillä suurin osa lähteistä oli kirjoitettu englanniksi. Samalla taitomme kääntää lähdetekstiä sujuvalle suomenkielelle kehittyi.

Opinnäytetyöhömmme liittyviä aiheita on käsitelty melko monessa bioanalytiikan koulutusohjelman opinnäytetyössä. Tästä syystä jatkotutkimusaiheita kyseiseen koulutusohjelmaan liittyen ei ilmennyt. Olemme kuitenkin kirjoitusprosessin aikana huomanneet, että hoitotyön koulutusohjelman opiskelijoille saattaisi olla hyödyllistä toteuttaa samantapainen työ sairaanhoitajan näkökulmasta. NOPHO -hoito-ohjelmasta voisi tehdä selvityksen esimerkiksi lasten syöpäosaston hoitajien käyttöön tai oppaaksi ALL-lapsen vanhemmille.

Pyrimme laatimaan selvityksestä helppolukuisen ja loogisesti etenevän. Tarkoituksena oli, että selvityksestä voi tarpeen mukaan etsiä yksittäisen tiedon melko nopeasti. Tätä pyrimme helpottamaan mahdollisimman kuvaavilla otsikoilla sekä otsikoiden alle laadituilla tietoiskunomaisilla lauseilla. Myös taulukoiden ja kuvioiden on tarkoitus helpottaa ja nopeuttaa lukemista ja asioiden sisäistämistä. Päädyimme tekemään useita taulukoita, sillä koimme, että luettelot ovat näin mielekkäämmässä esitysmuodossa. Käytimme selvityksen teossa värejä ja kuvia elävöittämään tekstiä. Tekstissä korostimme väreillä mielestämme laboratoriohoitajille tärkeitä tietoja. Lasten piirtämien kuvien käyttäminen oli mielestämme sopivaa, sillä selvitys liittyy aiheeltaan lapsiin. Kiitos kuvittamisesta kuuluu Emilialle, Anniinalle ja Ainomajalle.

Tuotoksena syntyneeseen selvitykseen olemme itse tyytyväisiä. Mielestämme se vastaa opinnäytetyölle asetettuun tarkoitukseen ja tavoitteeseen. Nähtäväksi jää, vastaako selvitys hematologian laboratorion tarpeisiin. Selvitykseen tuleva teksti testattiin työelämän edustajalla laboratoriohoitaja Henna Korhosella, jolta saamamme palaute oli rohkaisevaa. Tämän perusteella voimme jo osittain olettaa, että opinnäytetyömme vastaa työelämänedustajan tarpeisiin.

Haluamme kiittää laboratoriohoitaja Leena Pankkoa, jolta saimme opinnäytetyömme aiheen. Hän toimi myös opinnäytetyömme työelämäohjaajana antaen ehdotuksiaan opinnäytetyön kehittämiseksi. Kiitos myös laboratoriohoitaja Henna Korhoselle, joka ystävällisesti luki tuotoksemme ennen sen lopullista valmistumista.

LÄHTEET

Aho, H. 2000. Sytologiset värjäykset. *Moodi* 24 (4–5), 146–147.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 4. painos. New York: Garland Science.

Arola, M. 2009. NOPHO ALL – 2008 käytännössä. Luento. Syöpää sairastavia lapsia hoitavien työntekijöiden koulutuspäivä 29.5.2009. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Tampereen yliopistollinen sairaala. Tampere.

Bain, B. J. 2003. *Leukaemia Diagnosis*. 3. painos. Lontoo: Blackwell Publishing.

Bates, I. 2006. Bone marrow biopsy. Teoksessa Lewis, S. M., Bain, B. J. & Bates, I. (toim.) *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 10. painos Philadelphia: Churchill Livingstone, 115–130.

Beglinger, S. S. 2004. Nonmalignant Lymphocyte Disorders. Teoksessa McKenzie, S. B. (toim.) *Clinical Laboratory Hematology*. New Jersey: Prentise Hall, 403–418.

Berg, S. L., Steuber, C. P. & Poplack, D. G. 2005. Clinical Manifestations of Acute Lymphoblastic Leukemia. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) *Hematology. Basic Principles and Practice*. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 1155–1162.

Chronic Myeloid Leukemia and evolving treatment options. 2009. Luettu 17.7.2009. http://intmedweb.wfubmc.edu/grand_rounds/2001/Image28.gif.

Clare, C. N. & Hansen K. 2004. Chromosome Analysis of Hematopoietic Disorders. Teoksessa McKenzie, S. B. (toim.) *Clinical Laboratory Hematology*. New Jersey: Prentise Hall, 436–458.

Craig, F. E. 2004. Flow Cytometry. Teoksessa McKenzie, S. B. (toim.) *Clinical Laboratory Hematology*. New Jersey: Prentise Hall, 419–435.

Czader, M. 2007. Flow Cytometric Analysis in Hematologic Disorders. Teoksessa Rodak, B. F., Fritsma, G. A. & Doig K. (toim.) *Hematology. Clinical Principles and Applications*. 3. painos. Philadelphia: Saunders Elsevier, 451–470.

Dewald, G. W. & Ketterling, R. P. 2005. Conventional Cytogenetics and Molecular Cytogenetics in Hematologic Malignancies. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) *Hematology. Basic Principles and Practice*. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 928–939.

Elonen, E. 2007. Akuutit leukemiat. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 285–309.

Event-Free Survival (EFS). 2007. About.com: Lymphoma. Päivitetty 19.3.2007. Luettu 3.3.2009. <http://lymphoma.about.com/od/glossary/g/eventfreesurv.htm>.

Frequently asked questions. 2006. Reporting events/adverse reactions with medicinal product trials. Päivitetty 6.4.2006. Luettu 1.10.2008. http://www.ccmo-online.nl/hipe/uploads/downloads_cati/Veel%20gestelde%20vragen%20SUSAR_ENG.pdf. CCMO.

Goldberg C. 2008. Bone Marrow Aspiration and Biopsy. Päivitetty 7.4.2008. Luettu 7.5.2009. <http://emedicine.medscape.com/article/207575-overview>.

Gulley, M. L. 2004. Molecular Analysis of Hematologic Diseases. Teoksessa McKenzie, S. B. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Prentise Hall, 459–476.

Hakala, J. T. 2004. Opinnäytetyöopas ammattikorkeakouluille. Helsinki: Gaudeamus.

Harris, N. L., Jaffe, E. S., Vardiman, J. W., Stein, H., Diebold, J., Müller-Hermelink, H. K. & Flandrin, G. 2001. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues: Introduction. Teoksessa Jaffe, E. S., Harris, N. L., Stein, H. & Vardiman, J. W. (toim.) Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: WHO, 12-13.

Hirvelä, E., Oravala, J. & Pesu, K. 2008. Pirkanmaan ammattikorkeakoulu. Bioanalytiikan koulutusohjelma. K06MBIOAN.

Hoelzer, D. & Gökbuget, N. 2005. Acute Lymphocytic Leukemia in Adults. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) Hematology. Basic Principles and Practice. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 1175–1194.

Hoffbrand, A. V., Moss, P. A. H. & Pettit J. E. 2006. Essential Haematology. 5. painos. Oxford: Blackwell Publishing.

IMPAKTI. 2006. Terveystieteiden tutkimuskeskuksen lehti. 4/2006, 9. FinOHTA.

Intratekaalinen hoito (IDD). 2009. Medtronic. Luettu 4.3.2009. http://www.medtronic.fi/FI/health/pain_treatment_intra.html.

Irving, J., Jesson, J., Virgo, P., Case, M., Minto, L., Eyre, L., Noel, N., Johansson, U., Macey, M., Knotts, L., Helliwell, M., Davies, P., Whitby, L., Barnett, D.,

Hancock, J., Goulden, N & Lawson, S. 2009. Establishment and validation of a standard protocol for the detection on minimal residual disease in B lineage childhood acute lymphoblastic leukemia by flow cytometry in a multi-center setting. *Haematologica the hematology journal*, 127–131.

Isola, J. 2007. Syövän synty, kasvu ja leviäminen. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P. J., Teppo, L. & Tenhunen, M. (toim.) *Syöpätaudit*. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 16–33.

Jalanko, H. 2005. Veritauteja. Duodecim. Terveyskirjasto. Luettu 19.12.2008. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=skl00036.

Jansson, S-E. 2000. Morfologiset tutkimukset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) *Veritaudit*. 2. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 40–49.

Jantunen, E., Kauppila, M. & Mäkipernaa, A. 2007. Hematologiset erityiskysymykset muiden sairauksien yhteydessä. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka K. (toim.) *Veritaudit*. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 734–746.

Kanerva, J., Vettenranta, K., Autio, K., Knuutila, S. & Saarinen-Pihkala, U. M. 2002. Minimal residual disease by metaphase FISH in children with ALL: clonal cells during or after chemotherapy may not predict relapse. *Leukemia research* (26), 545–550.

Karhu, R. 2009. Syöpätaudit – kliininen genetiikka. Luento. 15.5.2009. Tampere.

Karp, G. 2005. *Cell and Molecular Biology. Concepts and Experiments*. 4. painos. John Willey & Sons, Inc.

Klosinski, D. D. 2002. Bone Marrow Failure. Teoksessa Rodak, B. F. (toim.) *Hematology. Clinical Principles and Applications*. 2. painos. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 241–249.

Knuutila, S. 2007. DNA-sirut nykypäivän syöpädiagnostiikassa. *Moodi* (6), 209–212.

Knuutila, S., Kairisto, V. & Porkka, K. 2007. Syto- ja molekyyli-genetiikka. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 112–133.

Kobayashi, N., Matsuda, K., Sakashita, K., Matsuzaki, S., Iwasaki, R. & Koike, K. 2004. Bilineage acute leukemia of T-lymphoid and myeloid lineages. *Haematologica* 89 (9), 1139-1141.

Kotlyo, P. K. 2002. *Flow Cytometric Analysis in Diagnostic Hematology*. Teoksessa

Rodak, B. F. (toim.) Hematology. Clinical Principles and Applications. 2. painos. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 545–558.

Koukkunen, K., Hosia, V. & Keränen, J. 2001. Sivistyssanakirja. Helsinki: WSOY.

Kramer, K. & Cohen H. J. 2005. Antenatal Diagnosis of Hematologic Disorders. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) Hematology. Basic Principles and Practice. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2697–2712.

Krause, J. R. 2002. Bone Marrow Overview. Teoksessa Rodak, B. F. (toim.) Hematology. Clinical Principles and Applications. 2. painos. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 185–196.

Kubista, M., Andrade, J.M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jona, J., Lind, K., Sindelka, R., Sjöback, R., Sjögreen, B., Strömbom, L., Ståhlberg, A. & Zoric, N. 2006. The real-time polymerase chain reaction. Luettu 31.12.2008. Molecular Aspects of Medicine, 2006; 27(2–3), 95–125. <http://www.gene-quantification.de/kubista-qpcr-review-mam-2006.pdf>.

Laboratoriokeskus. 2006. Ohjekirja. Hematologinen markkeritutkimus (fenotyyppitys). Päivitetty 30.10.2006. Luettu 7.5.2009. http://www.laboratorio.fi/lake/laboratoriotutkimukset/nayta.tmpl?sivu_id=34;id=2115;talleta_url=1.

Laboratoriotutkimusten ohjekirja. 2003. Vaasan keskussairaala. Luettu 18.12.2008. www.vshp.fi/medserv/.

Laboratoriokeskus. Potilastuloste. 2009. FacsCanto II -tuloste. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorio.

Lanzkowsky, P. 2005. Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 4. painos. New York: Elsevier Academic Press.

Laurent, E., Talpaz, M., Kantarjian, H. & Kurzrock, R. 2001. The BCR Gene and Philadelphia Chromosome-positive Leukemogenesis. Cancer Research (61), 2342–2355.

Leclair, S. J. 2002a. Acute Leukemias. Teoksessa Rodak, B. F. (toim.) Hematology. Clinical Principles and Applications. 2. painos. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 459–468.

Leclair, S. J. 2002b. Introduction to Leukocyte Neoplasms. Teoksessa Rodak, B. F. (toim.) Hematology. Clinical Principles and Applications. 2. painos. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 451–458.

Leclair, S. J. 2004a. Acute Lymphoblastic Leukemias. Teoksessa McKenzie, S. B. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Prentise Hall, 571–583.

Leclair, S. J. 2004b. Acute Myelogenous Leukemias. Teoksessa McKenzie, S. B. (toim.) *Clinical Laboratory Hematology*. New Jersey: Prentise Hall, 550–570.

Leclair, S. J. 2007. Acute Leukemias. Teoksessa Rodak, B. F., Fritsma, G. A. & Doig, K. (toim.) *Hematology. Clinical Principles and Applications*. 3. painos. Missouri: Saunders Elsewier.

Leukemia. 2008. UCSF Children's Hospital. Päivitetty 5.5.2008. Luettu 24.4.2009. http://www.ucsfhealth.org/childrens/medical_services/cancer/leukemia/conditions/leukemia/signs.html.

Leukemia. 2009. Oncologychannel. Päivitetty 16.3.2009. Luettu 7.5.2009. <http://www.oncologychannel.com/leukemias/diagnosis.shtml>.

Lilleyman, J. S., Britton, J. A., Anderson, L. M., Richards, S. M., Bailey, C. C. & Chessells, J. M. 1994. Periodic acid Schiff reaction in childhood lymphoblastic leukaemia. The Medical Research Council Working Party on Childhood Leukaemia. Sheffield: *Journal of Clinical Pathology* 1994: 47(8).

Lodish, H., Berk, A. & Zipursky L. 2001. *Molecular Cell Biology*. New York: W. H. Freeman and Company.

Lymphoma and Clinical Trials. 2008. About.com: Lymphoma. Luettu 3.3.2009. http://lymphoma.about.com/od/clinicaltrials/Lymphoma_and_Clinical_Trials.htm.

Mahlamäki, E. K. 2004. Luuydintutkimukset. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) *Kliiniset laboratoriotutkimukset*. Helsinki: WSOY, 282–289.

Matutes, E., Morilla, R. & Catovsky, D. 2006. Immunophenotyping. Teoksessa Lewis, S. M., Bain, B. J. & Bates, I. (toim.) *Dacie and Lewis Practical Haematology*. 10. painos Philadelphia: Churchill Livingstone, 335–355.

Miettinen, M. Lehtori. 2009. Henkilökohtainen tiedonanto. 9.9.2009. Tampere. Pirkanmaan ammattikorkeakoulu.

MOT Sanakirjasto. 2007. Luettu 1.10.2008. <http://mot.kielikone.fi/mot/piramk/netmot.exe?UI=figr>.

Mäntymaa, P. 2002. Akuuttien leukemioiden luokitus. *Moodi* 26 (1), 7-8.

Mäntymaa, P. 2008. PSHP. Laboratoriokeskus. Työohje. Hematologinen markkeritutkimukseen liittyvät vasta-ainepaneelit. Versio 1.2 (luonnos).

Nested PCR. 2007. PCR Station. Luettu 27.4.2009. <http://www.pcrstation.com/nested-pcr/>.

NINDS Ataxia Telangiectasia Information Page. 2009. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Päivitetty 24.4.2009. Luettu 15.7.2009. http://www.ninds.nih.gov/disorders/a_t/a-t.htm.

NOPHO – ALL 2008. 2008a. Final protocol version 1c-1.

NOPHO – ALL 2008. 2008b. Keskiriski (IR). Lyhennetty versio.

NOPHO – ALL 2008. 2008c. Keskiriski (IR). Lyhennetty versio potilaalle/vanhemmille.

NOPHO – ALL 2008. 2008d. Standardiriski (SR). Lyhennetty versio potilaalle/vanhemmille.

Overall Survival (OS). 2007. About.com: Lymphoma. Päivitetty 19.3.2007. Luettu 3.3.2009. <http://lymphoma.about.com/od/glossary/g/overallsurvival.htm>.

Pahlanen, A. 2009. Amgenin puheenvuoro. Luento. Syöpää sairastavia lapsia hoitavien työntekijöiden koulutuspäivä 29.5.2009. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Tampereen yliopistollinen sairaala. Tampere.

Pankko, L. Laboratoriohoitaja. 2008. Henkilökohtainen tiedonanto 24.9.2008. Tampere. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskus.

Pankko, L. Laboratoriohoitaja. 2009. Henkilökohtainen tiedonanto 11.5.2009. Tampere. Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskus.

Pelliniemi, T-T. 2000. Virtaussytometriset tutkimukset kliinisessä laboratoriossa. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) Veritaudit. 2. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 64–73.

Pelliniemi, T-T. 2002. Akuutin leukemian jäännöstautianalytiikka. Moodi 26 (1), 8–9.

Pelliniemi, T-T. & Tienhaara, A. 2007. Leukemioiden immunofenotyypitys. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 134–144.

Pihkala, U. 2007. Lasten leukemiat ja myelodysplastiset oireyhtymät. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 613–630.

Real-Time PCR. 2007. PCR Station. Luettu 27.4.2009. <http://www.pcrstation.com/real-time-pcr/>.

Ruutu, T. 2007. Leukemiat, myelodysplastiset oireyhtymät ja myeloproliferatiiviset tilat. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P.J., Teppo, L. & Tenhunen, M. (toim.) Syöpätaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 651–679.

Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) 2007. Liite 5. Primaarisia kromosomipoikkeavuuksia tautiryhmittäin. Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 754–766.

Ryan, D. H. & Cohen, H. J. 2005. Bone Marrow Examination. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) Hematology. Basic Principles and Practice. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2656–2672.

Salmi, T. T. & Perkkiö, M. 2000. Lasten leukemiat ja lymfoomat. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) Veritaudit. 2. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 366–376.

Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim. 2008. Lääketieteen termit. Luettu 01.10.2008. http://www.terveysportti.fi/terveysportti/sanakirjat.koti?p_kirja_id=32.

Sancho, J. M., Ribera, J. M., Romero, M. J., Martin-Reina, V., Giraldo, P. & Ruiz, E. 2006. Compassionate use of intrathecal depot liposomal cytarabine as treatment of central nervous system involvement in acute leukemia: report of 6 cases. *Haematologica* 91 (1), 3–5.

Seiter, K. 2006. Acute Lymphoblastic Leukemia: Differential Diagnoses & Workup. Luettu 18.12.2008. <http://emedicine.medscape.com/article/207631-diagnosis>.

Shaffer, L. G. & Tommerup N. 2005. ISCN 2005. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (2005). Basel: S. Karger.

Siitonen, S. & Jansson, S-E. 2007. Morfologiset tutkimukset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) Veritaudit. 2. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 100–111.

Siitonen, S. & Pelliniemi, T. T. 2005. Virtaussytometria hematologian laboratoriossa: nelivärianalyysistä kuusivärianalyysistä. *Moodi* 29 (6), 206–209.

Solunetti. 2006a. Deleetio. Luettu 30.12.2008. http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/deleetio_1/2/.

Solunetti. 2006b. Interfaasi. Luettu 31.12.2008. <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/interfaasi/>.

Solunetti. 2006c. Neoplasia. Luettu 14.8.2009. <http://www.solunetti.fi/fi/patologia/neoplasia/>.

Solunetti. 2006d. Translokaatio. Luettu 29.12.2008. http://www.solunetti.fi/fi/solu/biologia/translokaatio_1/2/.

Sparks, J., Ehsan, A. & McKenzie, S. B. 2004. Introduction to Hematopoietic Neoplasms. Teoksessa McKenzie, S. B. (toim.) Clinical Laboratory Hematology. New Jersey: Prentise Hall, 477–500.

Statistics.com. 2007. Statistical Glossary. Luettu 01.10.2008. <http://www.statistics.com/resources/glossary/s/stratsamp.php>.

Suominen, I. & Ollikka, P. 2006. Yhdistelmä-DNA-tekniikan perusteet. 3. painos. Helsinki: Opetushallitus.

Tienhaara, A., Kairisto, V. & Pelliniemi, T-T. 2003. Akuutin leukemian jäännöstautianalytiikka. *Moodi* 27 (2), 66–71.

Tuki- ja liikuntaelimestö: Luusto. 2009. Luettu 7.9.2009. <http://ffp.uku.fi/vanhateens/youme.htm>.

Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Turgeon, M.L. 2005. Clinical hematology. Theory and Procedures. 4. painos. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Tyybäkinoja, A. & Knuutila, S. 2006. Molekyyliryöpytyypitys – raja sytogenetiikan ja molekyylibiologian väliltä häviämässä. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 122(16), 2018–2022.

Vettenranta, K. 2000. Istukkaveri kantasolusiirtotoiminnan kokonaisuudessa. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 116 (21), 2392–2393.

Vettenranta, K. 2009. NOPHO ALL – protokolla ja taustaa sille. Luento. Syöpää sairastavia lapsia hoitavien työntekijöiden koulutuspäivä 29.5.2009. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Tampereen yliopistollinen sairaala. Tampere.

Vierstraete, A. 1999. Principle of the PCR. University of Ghent. Luettu 17.7.2009. <http://users.ugent.be/~avierstr/principles/pcrsteps.gif>.

Viitapohja, K. 2007a. Bloomin oireyhtymä. Kehitysvammahuollon tietopankki. Päivitetty 15.4.2007. Luettu 2.3.2009. <http://www.saunalahti.fi/kup/syndroma/bloom.htm>.

Viitapohja, K. 2007b. Fanconin anemia. Kehitysvammahuollon tietopankki. Päivitetty 18.3.2007. Luettu 2.3.2009. http://www.saunalahti.fi/kup/syndroma/fancon_a.htm.

Vilka, H. & Airaksinen, T. 2004. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Vilpo, J. & Franssila, K. 2003. Hematopoieettisten ja lymfoidisten kasvainten uusi WHO:n luokitus. Suomen Lääkärilehti 58 (8), 917–929.

Virtuaaliammattikorkeakoulu. 2008. Opinnäytetyön ohjausprosessi. Luettu 30.9.2008. <https://www.amk.fi/opintojaksot/030906/1113558655385.html.stx>.

Wayne, A. S. 2005. Acute Lymphoblastic Leukemia. Teoksessa Rodgers, G. P. & Young, N. S. (toim.) Bethesda Handbook of Clinical Hematology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

What is Randomization? 2006. About.com: Lymphoma. Päivitetty 22.10.2006. Luettu 3.3.2009. <http://lymphoma.about.com/od/clinicaltrials/f/randomization.htm>.

SANASTOA

1 CR (First Complete Remission) ensimmäinen täydellinen remissiovaihe

Ataxia-teleangiektasia on harvinainen lapsuusiän neurologinen sairaus. Sen myötä aivoista rappeutuu alueita, jotka kontrolloivat motorisia liikkeitä ja puhetta. (NINDS Ataxia Telangiectasia Information Page 2009.)

Bilineage kaksilinjainen leukemia. Akuutin leukemian tyyppi, jossa potilaalla on havaittavissa sekä lymfaattisen että myeloisen solulinjan solujen epätyypillistä lisääntymistä. (Kobayashi ym. 2004, 1139.)

EFS (Event-Free Survival) tapahtumavapaa eloonjääminen. Tiettyinä ajankohtana niiden ihmisten prosentuaalinen määrä, joilla tauti ei ole uusiutunut sen jälkeen, kun heitä on lääkitty kyseistä tautia lykkäävällä tai sitä estävällä lääkityksellä. (Vettenranta 2000, 2392; Event-Free Survival (EFS) 2007.)

Hoitoblokki on ryhmä tietynlaisia hoitoja (MOT sanakirjasto. 2007).

Hoito-trial hoitokokeilu, saadaan näyttöä uusien hoitojen laadukkuudesta ja luotettavuudesta ennen varsinaisen hoito-ohjelman käyttöönottoa (Lymphoma and Clinical Trials 2008).

Induktio käynnistäminen (Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim. 2008), hoidon ensimmäinen vaihe (NOPHO – ALL 2008c, 3).

Infiltraatio vieraiden solujen kertyminen tai tunkeutuminen kudokseen (MOT sanakirjasto. 2007).

Inklusio kuuluminen johonkin joukkoon (MOT sanakirjasto. 2007).

Interfaasi solusyklin välivaihe, johon sisältyy vaiheet G1 eli kasvuvaihe, S eli DNA:n replikoituminen sekä G2 eli solun genomien tarkistus (Solunetti 2006b).

Intratekaalinen hoito katetrin avulla selkäyttimeen annosteltava lääkehoito, joka mahdollistaa pienemmät lääkeannokset ja vähentää näin mahdollisia haittavaikutuksia (Intratekaalinen hoito (IDD) 2009).

MRD (Minimal Residual Disease) jäännöstauti. Leukemiapotilaan verenkierrassa jäljellä olevien leukemiasolujen määrä. (IMPAKTI. 2006.)

Neoplasia on solujen lisääntymistä eli proliferaatiota. Siinä osa kudoksen solukosta muodostaa kasvainsolukkoa, sillä elimistön kasvua säätelevät mekanismit eivät enää hallitse solukon jakautumista. (Solunetti 2006c.)

(jatkuu)

LIITE 1: 2(2)

OS (Overall Survival) kokonaiseloonjääminen. Ryhmän niiden yksilöiden prosentuaalinen osuus, jotka ovat todennäköisesti elossa tietyn pituisen ajanjakson jälkeen. (Overall Survival (OS) 2007.)

Proгноosi ennuste (MOT sanakirjasto. 2007).

Protokolla menettelyohjeet (Koukkunen ym. 2001).

Randomoida, randomisaatio satunnaistaminen, tutkittavien valikoitumiseen liittyvän harhan poistamiseen tähtäävä prosessi (tutkimuksessa), jossa jokaisella koeobjektilla on yhtä suuri mahdollisuus tulla valituksi koeryhmään sekä yhtä suuri mahdollisuus tulla valituksi verrokkiryhmään (Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim 2008). Hoitokokeilujen randomisaatiossa potilaat jaetaan ryhmiin ja ryhmät saavat keskenään eri hoitoa, jolloin voidaan helpommin löytää tehokkain hoitomenetelmä (What is Randomization? 2006).

Rekrytoida hankkia, ottaa, värvätä, palkata väkeä työhön, palvelukseen tms (MOT sanakirjasto. 2007).

Relapsi uusiutuma, taudin uusiutuminen, tautioireiden palaaminen remission jälkeen (Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim. 2008).

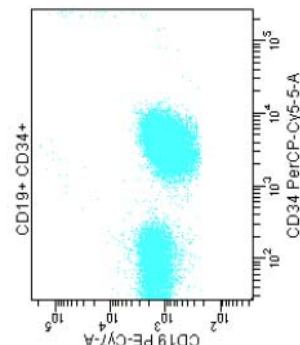
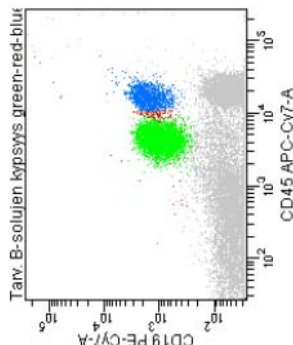
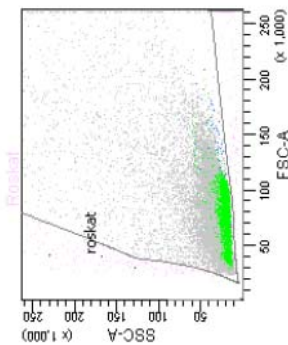
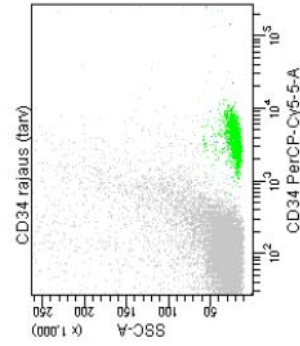
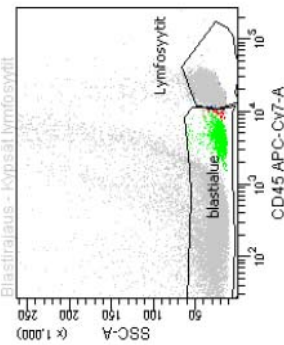
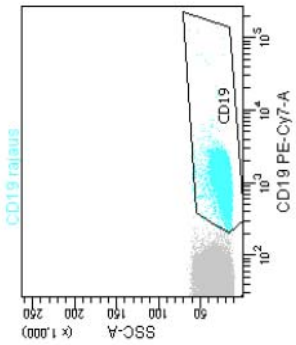
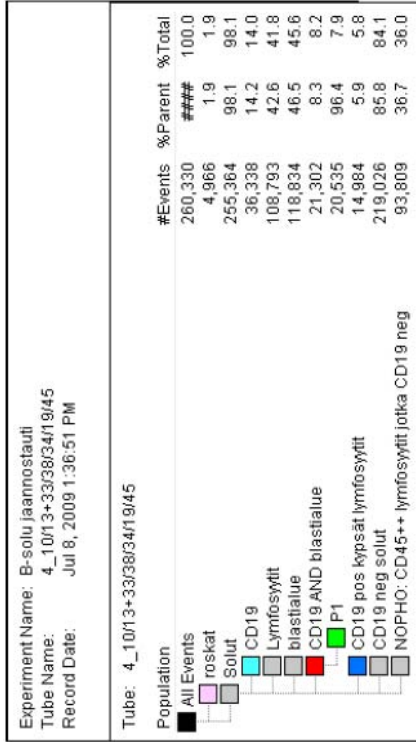
Remissio elpymävaihe, taudin oireiden mahdollisesti väliaikainen lieveneminen (Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim. 2008).

SCT (Stem Cell Transplantation) kantasolusiirto (MOT sanakirjasto. 2007).

Stratifikaatio, stratified sampling suuren tutkimusjoukon jako pienempiin homogeenisiin ryhmiin, joiden sisällä tehdään randomisaatio (Statistics.com. 2007).

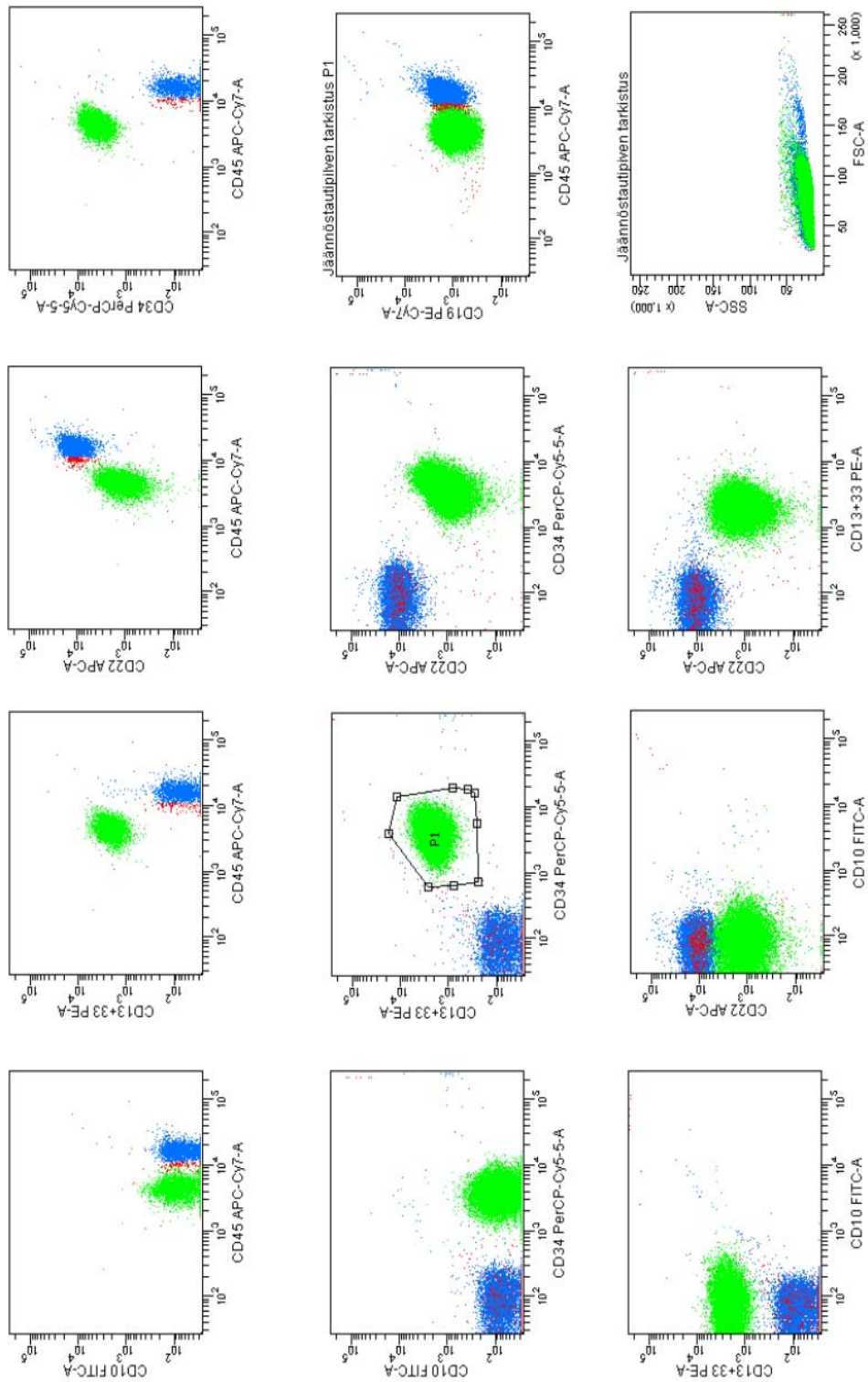
SUSAR (Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction) epäilty odottamaton vakava haitallinen reaktio. Tapahtuma, joka ilmenee kesken potilaan hoidon ja täyttää seuraavat kriteerit: on vakava ja odottamaton sekä on olemassa jonkin asteinen mahdollisuus sille, että tapahtuma on potilaalle vahingollinen. (Frequently asked questions. 2006.)

TULOSTE FACSCANTO II -VIRTAUSSYTOMETRILTA



(jatkuu)

LIITE 2: 2(2)



Esimerkki B-solulinjaisen CD10 -negatiivisen ALL:n tulosteesta (Laboratoriokeskus potilastuloste 2009)



SELVITYS LASTEN *NORHO* -ALL 2008 -
HOITO-OHJELMASTA



EMILIA 4 v.

Emmi Hirvelä, Jenni Oravala & Krista Pesu
Pirkanmaan ammattikorkeakoulu
Syyskuu 2009

Sisälllys

| | |
|---|-----------|
| 1 Lukijalle | 3 |
| 2 Mikä on lasten akuutti lymfaattinen leukemia? | 5 |
| Oireet | 6 |
| Näytemuodot | 6 |
| Laboratoriolöydökset | 7 |
| Diagnostiikka | 8 |
| 3 Taustatietoa NOPHO ALL -hoito-ohjelmasta | 9 |
| 4 Nykyinen NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma | 11 |
| 5 Hoito-ohjelman aikataulu | 13 |
| 6 Inklusio ja poissuljentakriteerit | 14 |
| 7 NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman riskiryhmät | 16 |
| Standardiriski | 16 |
| Keskiriski | 16 |
| Korkeariski | 16 |
| 8 Potilaiden rekisteröinti | 18 |
| 9 Hoidon aikaiset tutkimukset | 19 |
| Diagnoosivaiheen tutkimukset | 20 |
| Hoidonaikaiset tutkimukset | 21 |
| Tutkimukset relapsin aikana | 21 |
| 10 Kuinka potilaan hoito etenee? | 22 |
| Induktio | 23 |
| Konsolidaatio I | 23 |
| Myöhäinen tehostusvaihe I ja konsolidaatio II | 24 |
| Blokkihoidot | 24 |
| Ylläpitohoito I | 25 |
| Myöhäinen tehostusvaihe II ja konsolidaatio III | 26 |
| Ylläpitohoito II | 26 |
| Kantasolusiirto | 27 |
| 11 Hoito-ohjelman randomoidut tutkimusosiot | 28 |
| Mitä randomoitujen tutkimusosioiden avulla selvitetään? | 29 |
| 12 NOPHO ALL -hoito-ohjelmissa tapahtunut muutos | 30 |

1 Lukijalle

Tämä selvitys tehtiin Pirkanmaan sairaanhoitopiirin Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion käyttöön laboratoriohoitaja Leena Pankon toivomuksesta. Selvitys syntyi toiminnallisen opinnäytetyön tuotoksena. Varsinainen opinnäytetyö käsittelee NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman lisäksi lasten akuuttia lymfaattista leukemiaa, sen diagnosointia ja luokitte-
telua. Tarkoituksena oli laatia tietopaketti, jonka avulla hoito-ohjelmaan perehtymätön laboratorion työntekijä voi helposti tutustua aiheeseen. Hoito-ohjelmaa käsittelevä suomenkielinen kirjallisuus sisältää paljon lyhenteitä ja käsitteitä. Lukemista helpottaaksemme liitimme selvityksen loppuun sanakirjan, josta saattaa olla apua myös luettaessa hoito-ohjelman alkuperäistä englanninkielistä hoito-ohjelmaa.

Opinnäytetyön tekijöillä on ollut käytössään NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman vuoden 2008 marraskuussa päivitetty versio. Tällöin hoito-ohjelma oli vasta kokeiluvaiheessa, joten on luonnollista, että hoitokäytännöt tulevat muuttumaan. Jo opinnäytetyön kirjoitusprosessin aikana tapahtui joitakin muutoksia. NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma voi muuttua voimassaoloaikanaan merkittävästi. Hematologian laboratorion työntekijöillä onkin mahdollisuus päivittää tätä selvitystä, sillä työn paperiversion lisäksi laboratorioon luovutetaan myös Microsoft Word -muotoon tallennettu CD-ROM-versio.

Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion on ennenkin saatu opinnäytetyön aiheita Pirkanmaan ammattikorkeakoulun bioanalyttiko-opiskelijoille. Osa näistä töistä liittyy olennaisesti tämän työn aiheeseen. Esimerkiksi luuydinnäytteenotosta saa lisätietoa tutustumalla Saarelan ja Haapamäen (2007) opinnäytetyöhön Bioanalyttikon tehtävät luuydinnäytteenotossa. Työn tuotos löytyy hematologian laboratorion DVD-tallenteena. Luuydinnäytteiden tutkimisesta hematologian, patologian ja genetiikan laboratorioissa saa tietoa Holopaisen, Peuralan ja Syvä-

Pitkäsen (2008) opinnäytetyöstä Luuydintä tutkimassa. Laboratorion käytössä olevasta virtausytometrillä voi lukea Hyttisen ja Kyllätisen (2008) opinnäytetyöstä Virtausytometrin FACS Canto™ II perehdytysohje Laboratoriokeskuksen hematologian laboratorion työntekijöille ja harjoittelussa oleville opiskelijoille. Lukija voi lisätietoa halutessaan tutustua näihin töihin. Lisäksi tämän työn teoriaosasta saa tietoa muualla kuin hematologian laboratoriossa tehtävistä tutkimuksista.

Selvityksen alussa on perustietoa lasten akuutista lymfaattisesta leukemiasta. Osalle selvityksen lukijoista tieto saattaa olla ennestään tuttua. Ensimmäisen kappaleen lukeminen ei olekaan välttämätöntä hoito-ohjelman ymmärtämiseksi, mutta siitä saattaa olla hyötyä, mikäli nykytietämys lasten ALL:stä on vähäistä. Näin ollen selvityksestä on hyötyä laajemmalle lukijajoukolle.



2 Mikä on lasten akuutti lymfaattinen leukemia?

- * **Akuutti leukemia on pahanlaatuinen verisairaus**
 - ✓ Leukemian etiologiaa ei tunneta
 - ✓ Oireisto on laaja ja epäspesifi
- * **Diagnoosi perustuu oireiden sekä veri- ja luuydinnäytteestä tehtävien tutkimusten muodostamaan kokonaiskuvaan**
- * **Leukemiadiagnostiikka on kehittynyt viime vuosina valtavasti**

Lasten akuutille lymfaattiselle leukemialle on ominaista, että normaalien verisolujen muodostuminen on estynyt, ja blastisolut lisääntyvät luuytimessä hallitsemattomasti. Luuytimestä pahanlaatuiset solut leviävät vereen ja muualle elimistöön. Leukeemiset solut syrjäyttävät luuytimen normaalin solutuotannon ja voivat tunkeutua muihin elimiin. Tällainen selkäytimenulkoisen eli ekstramedullaarinen tauti voi joskus esiintyä jo diagnoosivaiheessa. Useimmiten se kuitenkin ilmaantuu vasta relapsivaiheessa. Yleisimmin ekstramedullaarinen leukemia leviää keskushermostoon, kiveksiin, imusolmukkeisiin, maksaan, pernaan tai munuaisiin. Näistä keskushermostoon levinneellä leukemialla eli neuroleukemialla ja kivesleukemialla on suurin kliininen merkitys. Hoitamattomana leukemia johtaa lopulta lapsen kuolemaan.

Kyseessä on monesta eri tekijästä johtuva sairaus, jonka syntyyn tarvitaan jokin altistava tekijä sekä virhe elimistön puolustusmekanismeissa. Leukemia ei varsinaisesti periydy, mutta on todettu, että geneettisillä tekijöillä on merkitystä. Sen aiheuttajaksi on epäilty muun muassa seuraavia tekijöitä:

- ✓ virusinfektioita
- ✓ kemikaaleja
- ✓ ionisoiva säteily
- ✓ sairauksia, joissa suurentunut riski: Bloomin oireyhtymä, Fanconin anemia ja Ataxia-teleangiektasia sekä Downin oireyhtymä

Oireet

Oireiden aiheuttajina ALL:ssä ovat yleensä leukeemisten solujen lisääntyminen luuytimessä sekä niiden leviäminen imusuonistoon ja muualle luuytimen ulkopuolelle. Ne voivat saada aikaan spesifejä oireita, mutta yleisempää on, että oireet ovat epäspesifejä.

Taulukko 1. ALL:n yleisimmät oireet ja löydökset prosentteina (%) Suomessa

| Kliiniset oireet ja löydökset | Esiintymistiheys prosentteina kaikista ALL:ään sairastuneista lapsista |
|-------------------------------|--|
| Pahoinvointi ja uupumus | 50 |
| Kuumeilu ja infektiot | 43 |
| Kalpeus | 39 |
| Hepatosplenomegalia | 36 |
| Luukivut ja nivelkivut | 31 |
| Vuototaipumus | 24 |
| Ekkymoosit, petekiat | 24 |
| Anoreksia | 17 |
| Lymfadenopatia | 12 |
| Vatsan alueen kivut | 9 |
| Keskushermosto-oireet | 3 |

Näytemuodot

Diagnosivaiheessa lapselta otetaan veri- ja luuydinnäytteitä. Neuroleukemian diagnosoinnissa näytteenä käytetään selkäydinnestettä.

EDTA-veri → TVK, MGG-värijäys

Plasma → elektrolyytit, maksa-arvot, kreatiniini ja urea

Luuydinnäyte → MGG-värijäys, immunofenotyyppitys, jäännöstautianalytiikka, syto- ja molekyylogeneettiset tutkimukset ja rauta (Fe) -värijäys

Selkäydinneste → neuroleukemiadiagnostiikka, esimerkiksi likvorin blastien tutkiminen

Laboratoriolöydökset

Laboratoriolöydökset ALL-tapauksissa ovat hyvin epäspesifejä. Löydösten vaihtelevista arvoista johtuen myös kliininen oireisto on laaja. Leukemiaepäily voi herätä jo silloin, kun veren leukosyytit ovat normaalit, mutta kahden muun solulinjan arvot poikkeavat normaalista. ALL:ää voidaan esimerkiksi epäillä, kun potilaalla on sekä anemiaa että trombositopeniaa. Lisäksi epäilyä vahvistavat muun muassa korkea lasko sekä muut kliiniset löydökset.

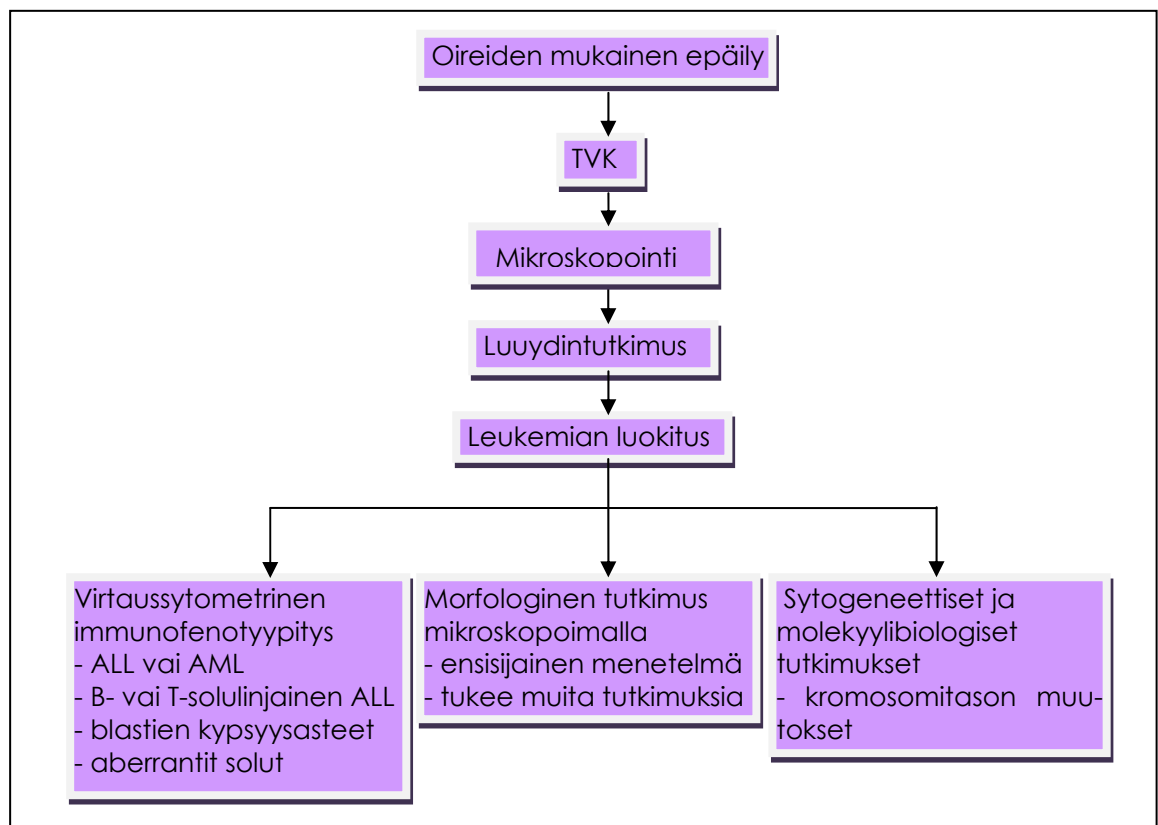
ALL:ssä tavattavia laboratoriolöydöksiä sekä kliinisiä oireita:

- ✓ Normokrominen ja normosytaarinen anemia → kalpeus, väsymys, hengenahdistus, sydänperäiset oireet (esimerkiksi takykardia)
- ✓ Hemoglobiinipitoisuus voi olla viitearvojen sisällä
- ✓ Suurimmalla osalla potilaista jonkin asteista trombositopeniaa → petekiat, helposti muodostuvat mustelmat, verenvuodot limakalvoilla sekä joskus sisäiset vuodot, kuten kallonsisäiset verenvuodot
- ✓ Perifeerisen veren leukosyyttimäärä voi olla kohonnut, normaali tai pienentynyt
- ✓ Blastveja voi esiintyä perifeerisessä veressä hyvin vaihtelevia määriä → riippuu perifeerisen veren leukosyyttimäärästä siten, että leukosyyttimäärän ollessa matala ei blastveja välttämättä esiinny, kun taas perifeerisen veren leukosyyttimäärän suurentuessa blastimäärä kasvaa
- ✓ Neutropenia → kuume, suun limakalvon haavaumat sekä infektioherkkyys

Diagnostiikka

Akuutin lymfaattisen leukemian diagnosointi alkaa perifeerisestä verestä tehdyn MGG-värjätyn sivelyvalmisteen mikroskopoinnista. Lopullinen diagnoosi tehdään kuitenkin aina luuydinlöydöksen perusteella. Tutkimusten tarkoituksena on saada tarkka diagnoosi oikean hoidon aloittamiseksi, taudin ennusteen arvioimiseksi sekä tautisolukon tyypittämiseksi myöhempää jäännöstautiseurantaa varten.

Kaavio 1. Leukemian diagnosointi

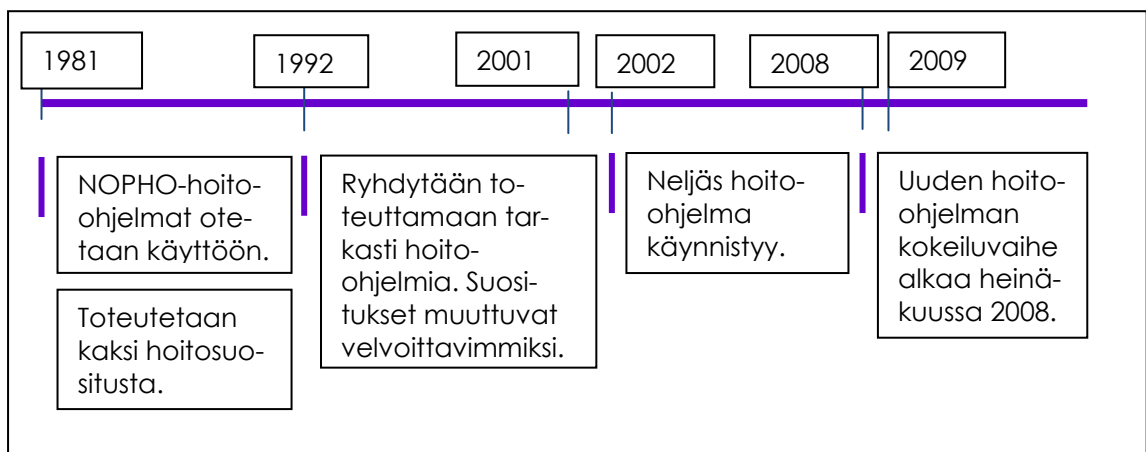


3 Taustatietoa NOPHO ALL -hoito-ohjelmasta

- * Nordic Society of Paediatric Haematology and Oncology (NOPHO) -yhdistys perustettiin vuonna 1981
 - ✓ Yhdistys laatii yhteispohjoismaisia hoito-ohjelmia
- * Usean maan yhteistä hoito-ohjelmaa ei muualla maailmassa ole käytössä
- * NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelman hoidon teho oli heikompi kuin muissa kansainvälisissä hoito-ohjelmissa
 - ✓ Tarvittiin uusi hoito-ohjelma

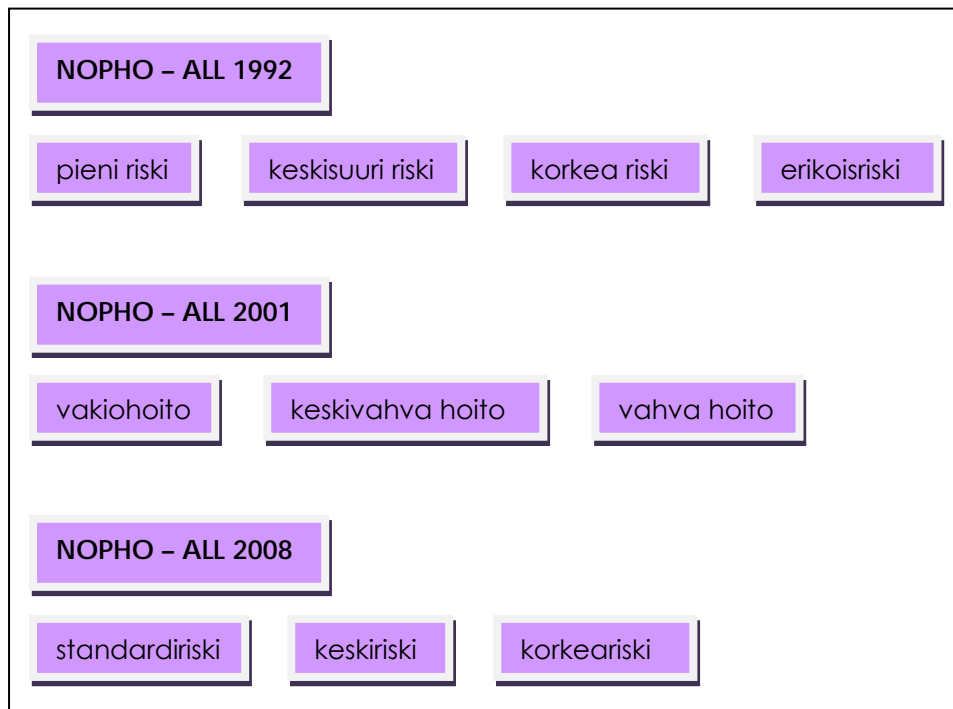
Vuoden 1981 heinäkuusta lähtien kaikki pohjoismaalaiset alle 15-vuotiaat akuuttiin lymfaattiseen leukemiaan sairastuneet lapset on rekisteröity NOPHO-leukemiarekisteriin (NOPHO Leukemia Registry). Yhteispohjoismaiset NOPHO-yhdistyksen laatimat hoito-ohjelmat eli protokollat lasten ALL:n hoitoon ovat olleet käytössä 1980-luvulta lähtien. Yhteispohjoismainen hoito-ohjelma luotiin, jotta pienten valtioiden ALL:n hoidot olisivat keskenään yhteneviä ja näin vertailtavissa muiden suurten valtioiden hoito-ohjelmien kanssa. Kaksi ensimmäistä hoito-ohjelmaa laadittiin yhteistyössä Pohjoismaiden kesken, mutta ne olivat kuitenkin vain hoitosuosituksia. NOPHO-hoito-ohjelmia kehitettiin vuosien aikana asteittain erilaisista paikallisista ja kansallisista hoito-ohjelmista yhtenäiseksi yhteispohjoismaiseksi hoito-ohjelmaksi.

Kaavio 2. NOPHO -hoito-ohjelmat



Hoito-ohjelmat eroavat toisistaan muun muassa sen mukaan millaisiin riskiluokkiin sairastuneet jaetaan, ja mihin riskiluokitus perustuu. Potilaat jaetaan hoito-ohjelmissa eri riskiryhmiin, jotta jokaiselle sairastuneelle voidaan antaa taudin vakavuuden vaativaa hoitoa.

Kaavio 3. Riskiluokat



Pohjoismaisen yhteistyön myötä ALL:n hoitotulokset ovat parantuneet vuosikymmenien aikana huomattavasti. Esimerkiksi "tapahtumavapaan eloonjäämisen" -osuus eli Event Free Survival (EFS) -arvo on kohentunut merkittävästi. EFS-arvolla tarkoitetaan niiden potilaiden määrää, jotka jäävät eloon ilman, että tauti uusiutuu tai potilas kuolee hoidon toksisuuteen.



4 Nykyinen NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma

- * Tarkoitettu lapsuus- tai nuoruusiällä (1.0–17.9-vuotta) sairastuneille
- * Uuden hoito-ohjelman riskiluokat:
 - ✓ Standardiriski (SR, Standard Risk)
 - ✓ Keskiriski (IR, Intermediate Risk)
 - ✓ Korkeariski (HR, High Risk)
- * Tavoitteena edistää parantumista erityisesti korkeariskiryhmässä
- * Osallistuvien maiden hoito-ohjelmaa toteuttavat sairaalat kuuluvat NOPHO-yhdistykseen

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelma on viimeisin NOPHO-yhdistyksen kehittämä lasten ALL:n hoitoon suunniteltu ohjeistus. Riskiryhmien nimet viittaavat potilaan taudin uusiutumisen vaaraan, mutta luokitus perustuu kuitenkin hoidon vahvuuteen.

Uuden hoito-ohjelman päämääränä on parantaa pohjoismaalaisten ALL:ään sairastuneiden lasten ja nuorten lopullisia hoitotuloksia aiempiin yhteispohjoismaisiin hoito-ohjelmiin verrattuna. Uusi hoito-ohjelma tarvittiin erityisesti siksi, että korkeariskiryhmän ennusteessa ei ollut tapahtunut edistystä vuoden 1992 jälkeen. Tarkoituksena on nyt edistää erityisesti korkean riskin potilaiden parantumista. Kaikissa ryhmissä tavoitteena on hoitaa suurin osa potilaista mahdollisimman lievällä hoidolla.

Uuden NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman on kehittänyt komitea, jossa on jäseniä kaikista viidestä Pohjoismaasta sekä lisäksi Virosta, Latviasta ja Liettuaista. Tämä on ensimmäinen kerta, kun myös Baltian mailla on edellytykset ottaa osaa hoito-ohjelmaan. Nämä maat eivät kuitenkaan osallistu ohjelmaan yhtä intensiivisesti, sillä heidän käytössä olevat diagnoosimenetelmänsä ovat osin erilaisia kuin muissa NOPHO-yhdistykseen kuuluvissa maissa.

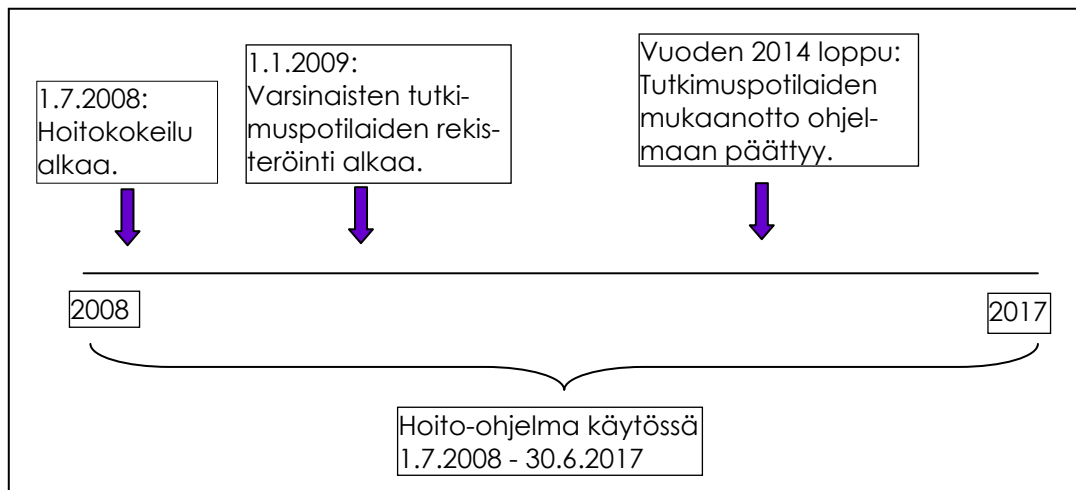
Suomen kaikki yliopistolliset sairaalat Helsingissä, Tampereella, Turussa, Kuopiossa sekä Oulussa kuuluvat hoito-ohjelman piiriin. Suomessa käytäntönä on, että kaikki leukemiaan sairastuneet lapsipotilaat hoidetaan ensisijaisesti yliopistollisissa sairaaloissa. Vastuulääkäri kustakin osallistuvasta sairaalasta allekirjoittaa kirjallisen sopimuksen, jolla he sitoutuvat hoito-ohjelman noudattamiseen. Sopimukseen kirjataan myös hoito-ohjelman edellyttämistä tutkimuksista vastuussa olevat laboratoriot.



5 Hoito-ohjelman aikataulu

- * NOPHO – ALL 2008 -hoitokokeilu (hoito-trial) alkoi 1.7.2008
- * Varsinaisten randomisaatioihin osallistuvien potilaiden rekisteröinti alkoi 1.1.2009
 - ✓ hyväksymisprosessi Valtakunnallisen terveydenhuollon eettisen neuvottelukunnan (ETENE) sekä Lääkelaitoksen kanssa oli saatu päätökseen
- * Raportti kliinisestä hoitokokeilusta annetaan kunkin maan viranomaisille vuoden 2017 lopussa

Kaavio 4.



6 Inklusio ja poissuljentakriteerit

- * **Hoito-ohjelman ennustetaan hankkivan eli rekrytoivan:**
 - ✓ 1.0–14.9-vuotiaita ALL-potilaita noin 1100
 - ✓ 15.0–17.9-vuotiaita non-B ja non-Ph+ ALL:ää sairastavia potilaita noin 200

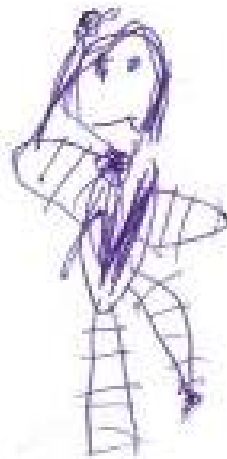
NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelmaan otetaan mukaan kaikki 1.0–17.9-vuotiaat akuuttia lymfaattista leukemiaa sairastavat lapset ja nuoret tiettyin rajoituksin. Potilaiden tulee sairastaa joko non-B ALL tai non-Ph+ -ALL-muotoa. Mikäli potilaan sairaus on muotoa non-Ph+ -ALL, hänet hoidetaan induktiovaiheessa NOPHO – ALL 2008 hoito-ohjelman mukaisesti, mutta siirretään tämän jälkeen EsPhALL-ohjelmaan.

Joitakin potilasryhmiä voidaan hoitaa NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman mukaan, mutta heitä ei oteta mukaan tutkimuspotilaita eli he eivät osallistu randomisaatioihin. Tällaisia potilaita ovat esimerkiksi kaksilinjaista eli bilineage-ALL:ää sairastavat potilaat. Heille tehdään kaikki keskeiset tutkimukset, mutta heille ei anneta standardiriskihoitoa.

Jotkut NOPHO-hoito-ohjelmaa noudattavat keskuskeskukset hoitavat myös yli 17.9-vuotiaita potilaita kyseisellä ohjelmalla. Näitä potilaita ei oteta huomioon randomoiduissa osioissa. NOPHO-hoito-ohjelmaa noudattavista maista Tanska ja Ruotsi toteuttavat tätä käytäntöä. Suomen yliopistollisista sairaaloista ainakin Tampereen yliopistollinen sairaala on kiinnostunut hoitamaan kyseisen hoito-ohjelman mukaisesti niitä potilaita, jotka ikänsä puolesta jäisivät ohjelman ulkopuolelle, mutta joiden ALL sopii parhaiten hoidettavaksi NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmalla.

Poissulkukriteereiksi katsotaan puutteet diagnoosivaiheen sytogeneettisessä diagnostiikassa sekä erilaiset ALL:lle altistavat tilat, kuten Downin syndrooma ja ataxia-teleangiektasia. Hoito-ohjelman ulkopuolelle jäävät

myös potilaat, joilla on ollut jo aiemmin maligni sairaus tai sellaiset fertiiliikäiset nuoret tytöt, jotka kieltäytyvät turvallisesta ehkäisystä. Hoito-ohjelman mukaan ei voida hoitaa myöskään potilaita, joilla on intoleranssi jollekin siinä käytetyille lääkkeelle.



7 NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelman riskiryhmät

- * Potilaat jaetaan riskiryhmiin muun muassa leukeemisen solutyypin, leukosyyttimäärän ja jäännöstautitason perusteella
- * Pääriskiryhmiä on jaettu alaluokkiin:
 - ✓ standardiriski
 - ✓ keskiriski → luokat a–e
 - ✓ korkeariski → luokat 1–5

Standardiriski

Yhtenä tavoitteena on hoitaa yli 50 % potilaista standardiriskiryhmän mukaisilla hoidoilla. Tämän potilasjoukon EFS-tavoitearvo on 90–95 %. Potilaita, joille ei ole suoritettu kaikkia diagnoosivaiheen sytogeneettisiä tutkimuksia tai joilla ei ole käytettävissä tietoa jäännöstautitasosta hoitopäivänä 29, ei voida hoitaa standardiriskiryhmän mukaisesti.

Keskiriski

Keskiriskiryhmän potilaita uskotaan olevan 30–35 % hoidettavista. Tavoitteena on saavuttaa EFS-arvo 80 %. Ne potilaat, joilla on riski keskushermostoon levinneen leukemian relapsoitumiseen, mutta jotka eivät muilta osin täytä korkean riskin kriteerejä, hoidetaan muiden keskiriskipotilaiden tapaan.

Korkeariski

Hoito-ohjelma pyrkii ohjaamaan 10–15 % potilaista korkean riskin ryhmään. Luokitteluun vaikuttaa potilaan non-aplastisen luuytimen blastien määrä kaikista tumallisista soluista. Kansainvälisen luokituksen mukaan luuydin on luokkaa M1, kun blasteja on alle 5 %, luokkaa M2, kun blasteja on yli 5 %, mutta alle 25 % ja luokkaa M3, kun blasteja on yli 25 %.

Taulukko 1. Riskiryhmien kriteerit

| | leuko- syytti- määrä (x10 ⁹ / L) | solu- linja | syto- genetiikka | MRD- taso | luu- ydin luok- ka | CNS- luokka | Muut kriteerit |
|----|---|----------------|--|--|-----------------------------------|---|--------------------------------|
| SR | alle 100 | B-ALL | ei IR-ryhmän syto- genetiikkaa | D29 alle 10 ⁻³ | | ei CNS3- luokan leuke- miaa | ei HR- ryhmän kriteerejä |
| IR | alle 100 | B-ALL | | D29 yli 10 ⁻³ ja alle 5 * | | | ei HR- ryhmän kriteerejä |
| | yli 100 | B-ALL | | yli 10 ⁻³ | | | ei HR- ryhmän kriteerejä |
| | | T-ALL | | yli 10 ⁻³ | | | ei HR- ryhmän kriteerejä |
| | | | | | | CNS3 | ei HR- ryhmän kriteerejä |
| | | | dic(9;20), ic21amp tai t(1;19) | | | | ei HR- ryhmän kriteerejä |
| HR | yli 100 | T-ALL | hypodiploidinen kromosomisto tai MLL-uudelleen- järjestymä | | D15 luokka M3 **** | | |
| | alle 100 | B-ALL | | D79 yli 10 ⁻³ | D29 luokka M2/3 **, **** | | |
| | yli 100 | T-ALL | | D29 yli 10 ⁻³ * | | | |
| | | | hypodiploidinen kromosomisto, kro- mosomiluku alle 45 tai DNA-indeksi alle 0,85, MLL- uudelleenjärjestymä | | | | |
| | | | | | | CNS2/3 *** | |

* Ryhmään otetaan mukaan myös ne potilaat, jotka täyttävät ryhmän kriteerit muilta osin, mutta joiden jäännöstautitason tulosta ei ole käytettävissä.

** Vahvistettu virtausytometrillä.

*** Ryhmän potilaiden likvori puhdistuu hitaasti blasteista hoidon ensimmäisessä vaiheessa.

**** Ei tarkoita FAB:in mukaista AML:n luokittelua.

8 Potilaiden rekisteröinti

- * Potilaiden rekisteröintilomake lähetetään Ruotsiin Tukholman Karoliiniseen instituuttiin tai täytetään vastaava lomake internetissä NOPHO-järjestelmässä
- * Jos vaaditut tiedot eivät ole saatavilla, ei potilaan randomisaatiota voida toteuttaa
- * Tietojen rekisteröinnistä vastaa tutkimushoitaja

Kaavio 5. Pakolliset potilaasta rekisteröitävät tiedot tiettyinä ajankohtina

| |
|---|
| <p>Diagnoosivaihe:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ potilaan nimi, sosiaaliturvatunnus, ikä sekä sukupuoli ✓ potilasta hoitava yksikkö ✓ korkein leukosyyttimäärä ennen hoidon aloittamista ✓ ALL:n immunofenotyyppi ✓ CNS-status ✓ keuhkojen välikarsinan (mediastinaalinen) massa (kyllä/ei) ✓ kivesleukemia (kyllä/ei) ✓ TPMT (tiopuriini metyyli transferaasi) -genotyyppi ✓ mahdolliset poissulkukriteerit |
| <p>Hoitopäivä 15:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ luuytimen morfologisen tutkimuksen tulos eli virtausytometrialla vahvistettu blastiosuus ✓ jäännöstautitaso eli MRD-taso |
| <p>Hoitopäivä 29:</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ luuytimen morfologisen tutkimuksen tulos eli virtausytometrialla vahvistettu blastiosuus ✓ jäännöstautitaso eli MRD-taso ✓ sytogeneettisten tutkimusten tulos ✓ mahdollinen induktiovaiheessa annettu ylimääräinen kemoterapia ✓ mikäli potilaan neuroleukemia on diagnoosivaiheessa luokkaa CNS2/3 tai epäonnistuneen lumbaalipunktion vuoksi likvorin erytrosyyttimäärä on ollut yli $10 \times 10^6/l$, tutkitaan likvorista blastien määrä (sytosentrifugivalmiste) ✓ suostumus randomisaatioihin (kyllä/ei) ✓ vaikeat odotetut sivuvaikutukset (SAE, Severe Adverse Event) |
| <p>Hoitopäivä 79 (SR/IR-ryhmät sekä HR-ryhmä blokin B jälkeen):</p> <ul style="list-style-type: none"> ✓ luuytimen morfologisen tutkimuksen tulos eli virtausytometrialla vahvistettu blastiosuus ✓ jäännöstautitaso eli MRD-taso ✓ mahdollisen kivesleukemian ultraäänitulos ✓ luokan CNS3 neuroleukemiassa magneettikuvauksen tulos ✓ silmän leukeemisessa infiltraatiossa silmäntähystyksen eli oftalmoskopian tulos, pään magneettikuvauksen tai ultraäänien tulos |

9 Hoidon aikaiset tutkimukset

- * Hoito-ohjelmaan sisältyy tiettyjä tutkimuksia, jotka tehdään potilaalle ennalta määrättyinä hoitopäivinä
- * Tutkimusten toteuttaminen on yksi edellytys sille, että potilasta voidaan käyttää hoito-ohjelman tutkimuspotilaana

Mikäli potilas on ollut aiemmin tutkimuspotilas, mutta myöhemmin tutkimusten toteutus viivästyy, voidaan hänet poistaa randomisaatioista. Nii-den potilaita hoitavien keskusten, jotka eivät voi tehdä itse vaadittuja tutkimuksia, on lähetettävä veri- ja luuydinnäytteet niihin NOPHO-hoito-ohjelmaa toteuttaviin keskuksiin, joilla on mahdollisuus analysoida kysei-set näytteet.

Kaavio 6. Potilaasta tehtävät tutkimukset

| |
|--|
| Diagnoosivaiheen tutkimukset: |
| <ul style="list-style-type: none"> ✓ kliiniset tutkimukset: yleisen terveydentilan kartoitus, imusolmukkeiden, pernan, maksan sekä kivesten tutkiminen, verenpaineen mittaus ✓ laboratoriotutkimukset verinäytteestä: verenkuva, elektrolyytit, maksa-arvot, kreatiniini, LDH, uraatti sekä urea ✓ tutkimukset likvorinäytteestä ja luuydinnäytteestä ✓ karyotyyppitys ✓ ultraäänikardiografia ✓ rintakehän röntgenkuvaus ✓ pään magneettikuvaus ✓ kivesten ultraäänitutkimus ✓ TPMT-genotyypin määrittäminen |
| Hoidon aikaiset tutkimukset: |
| <ul style="list-style-type: none"> ✓ luuydintutkimukset |
| Tutkimukset relapsin aikana: |
| <ul style="list-style-type: none"> ✓ kliiniset tutkimukset: yleisen terveydentilan kartoitus, imusolmukkeiden, pernan, maksan sekä kiveksien tutkiminen, verenpaineen mittaus ✓ laboratoriotutkimukset verinäytteestä: verenkuva, elektrolyytit, maksa-arvot, kreatiniini, LDH, uraatti sekä urea ✓ tutkimukset likvorinäytteestä ja luuydinnäytteestä ✓ karyotyyppitys ✓ ultraäänikardiografia ✓ rintakehän röntgenkuvaus ✓ pään magneettikuvaus ✓ kivesten ultraäänitutkimus |

Diagnoosivaiheen tutkimukset

Luuydintutkimuksia varten näytteet otetaan seuraavassa tärkeysjärjestyksessä: morfologia, virtaussytometria, sytogenetiikka / molekyylysytogenetiikka, PCR geenien uudelleenjärjestymä-tutkimusta varten sekä muut näytteet. Poikkeuksena hyperleukosytoositapaukset, joissa potilasta ei voida nukkuttaa. Tällöin edellä mainitut tutkimukset tehdään perifeerisestä verestä. Luuydinnäytteen morfologista tutkimusta varten tehdään näytteen MGG-värjäys. Mikäli edustavaa luuydinnäytettä ei saada, diagnoosi perustuu luuydinbiopsiaan sekä perifeerisen veren tutkimuksiin. Likvori-näytteestä tutkitaan mahdollisten solujen lukumäärä sekä suoritetaan erittelylaskenta. Patologian tutkimusta varten valmistetaan sytosentrifugipreparaatti, josta tehdään likvorin irtosolututkimus. Lisäksi näytteestä määritetään glukoosi- ja proteiinipitoisuudet.

Karyotyypityksen avulla tutkitaan potilaan mahdollisia kromosomipoikkeavuuksia. Se on yksi niistä tutkimuksista, jonka perusteella potilas ohjataan oikeaan riskiryhmään. Jos karyotyypimäärityksiä ei ole tehty, potilasta ei voida hoitaa standardiriskiryhmän mukaisesti. Potilaalle tehdään pään magneettikuvaus, mikäli hänellä on todettu keskushermostoon levinnyt leukemia tai sitä epäillään. Samoin epäiltäessä kivesleukemiaa, tehdään kivesten ultraäänitutkimus.

Taulukko 2. ALL:n yhteydessä tavattavat kromosomipoikkeavuudet sekä niiden diagnosoinnissa käytettävät tutkimusmenetelmät

| | dic(9;20) | hypo-diploidia | t(1;19) (q23;p13) | t(9;22) (q34;q11) | ic21amp | 11q23 | t(12;21) (p13;q22) |
|------------------|-----------|----------------|----------------------|----------------------|----------|----------|-----------------------|
| FISH-menetelmä | | | x | x | x | | x |
| RT-PCR-menetelmä | | | x | x | | | x |
| G-raitaivärjäys | x | x | | x | | x | |

Hoidonaikaiset tutkimukset

Hoidonaikaiset tutkimukset ovat lähinnä luuydintutkimuksia, joista saatujen tulosten avulla voidaan seurata potilaan hoitovastetta sekä jakaa potilaita riskiryhmiin. Luuydinnäytteet otetaan hoitopäivinä 15, 29, 79 sekä 92. Tulosten tulee olla valmiina kahden työpäivän kuluessa. Hoitopäivinä 15 ja 29 luuydinnäyte otetaan kaikilta potilailta riskiryhmästä riippumatta. Tällöin tehdään luuytimen morfologinen tutkimus sekä virtausytometrinen analyysi. Jos hoitopäivänä 15 otetun näytteen perusteella epäillään, että potilaan luuydin on luokkaa M3, otetaan muutaman päivän kuluttua uusi näyte, josta tehdään virtausytometrinen sekä sytogeneettinen analyysi. Jos hoitopäivänä 29 epäillään, että potilas on remisiossa, otetaan myös tässä tapauksessa uusi näyte muutaman päivän kuluttua.

Hoitopäivien 79 ja 92 luuydinnäytteet otetaan vain standardi- ja keskiriskiryhmän potilailta. Mikäli jäännöstautitaso on niin korkea, että potilas olisi syytä siirtää korkeariskiryhmään, otetaan viikon sisällä uusi näyte tuloksen tarkistamista varten. Korkeariskipotilailta otetaan luuydinnäytteet morfologista tutkimusta ja jäännöstautitason seuranta varten hoidon jokaisen hoitoblokin jälkeen. Kun jäännöstautia ei enää virtausytometrisesti voida havaita, määritetään taso enää vain viimeisen hoitoblokin jälkeen. Kantasolusiirron saavilta potilailta jäännöstautitaso määritetään ennen jokaista hoitoblokkia ja ennen kantasolusiirtoa.

Tutkimukset relapsin aikana

Relapsin aikana tehdään vastaavat tutkimukset kuin diagnoosihetkellä, mutta TPMT-genotyyppiä ei enää määritetä. Myös kaikki sytogeneettiset tutkimukset tehdään, sillä karyotyypin muutokset ovat yleisiä relapsissa.

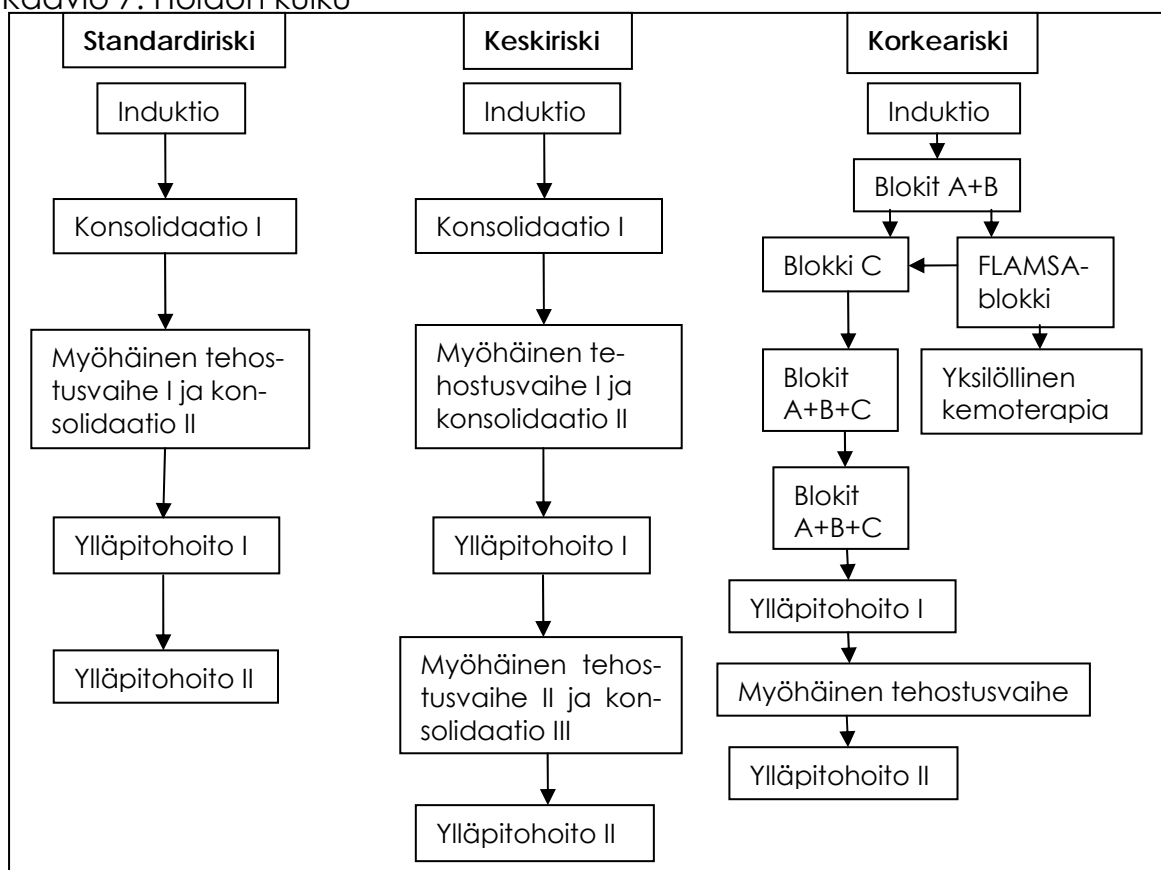
10 Kuinka potilaan hoito etenee?

- * Potilaan sama hoito perustuu diagnoosivaiheessa määritettyyn riskiryhmään, joka voi hoidon edetessä muuttua
- * Hoito-ohjelman kulku ja siinä käytetyt hoitomuodot saattavat muuttua ja kehittyä ajan myötä saatujen kokemusten perusteella

Tarkoituksena on, että potilas saa aina kevyintä mahdollista hoitoa, jotta hoitojen aiheuttamat pitkäaikaisvaikutukset jäisivät mahdollisimman vähäisiksi. Hoitojen edetessä tehtävien pakollisten tutkimusten tulosten perusteella riskiryhmäluokitus arvioidaan potilaan kohdalla aina uudelleen. Siten potilaan riskiryhmä voi hoitojen edetessä muuttua joko raskaampaan tai kevyempään hoitoon.

Standardi- ja keskiriskiryhmissä hoidon kulku on pitkälti samanlainen. Blokkihoidot ovat hoito-ohjelman raskaimpia hoitoja. Niitä annetaan ainoastaan korkeariskiryhmään luokitelluille potilaille.

Kaavio 7. Hoidon kulku



Induktio

Hoito alkaa jokaisessa riskiryhmässä induktiovaiheen hoidolla. Siinä käytettävä lääkehoito on standardi- ja keskiriskiryhmän potilaille täysin samanlainen. Myös korkeariskiryhmän potilaille annettava lääkitys on sama, mutta lisäksi heille annetaan vahvaa immunosuppressiivista lääkettä, dexametasonia.

Ne korkeariskipotilaat, joilla diagnoosivaiheessa havaitaan luuytimeen levinnyt luokan CNS2 tai CNS3 leukemia, saavat keskushermoston sädehoitoa induktion aikana. Jos keskushermostoon levinneelle leukemialle ei saada vastetta millään hoito-ohjelman hoidoilla, se luokitellaan hoitoresistentiksi leukemiaksi.

Konsolidaatio I

Standardi- ja keskiriskipotilailla hoidon seuraava vaihe on konsolidaatio I. Sen tarkoituksena on muun muassa vähentää kiveksiin ja keskushermostoon levinneen leukemian mahdollisuutta. Tässä vaiheessa korkeannosmetotreksaatti voidaan antaa potilaalle, mikäli seuraavat kolme ehtoa täyttyvät:

- ✓ joko neutrofiiliarvo eli ANC on yli $0,5 \times 10^9/L$ tai leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$ sekä trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$
- ✓ plasman kreatiniini on normaali
- ✓ aminotransferaasit ASAT/ALAT eivät ole yli 20 kertaa yli viitealueen ylärajan

Myöhäinen tehostusvaihe I ja konsolidaatio II

Konsolidaatio I:tä seuraa sekä standardi- että keskiriskipotilailla myöhäinen tehostusvaihe I ja konsolidaatio II. Niiden tarkoituksena on vähentää leukeemisten blastien määrää sekä ylläpitää näin saavutettua tasoa. Myöhäinen tehostusvaihe I aloitetaan standardiriskipotilaille veriarvoista riippumatta.

Keskiriskipotilaille myöhäistä tehostusvaihe I:tä aloitettaessa veriarvoilla on merkitystä. Hoito voidaan aloittaa, kun:

- ✓ joko leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$
- ✓ tai neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$
- ✓ sekä trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$ ja nousussa

Mikäli myöhäinen tehostusvaihe I on ehditty aloittaa, se viedään läpi veriarvoista riippumatta.

Keskiriskipotilaille konsolidaatio II aloitetaan, kun:

- ✓ neutrofiiliarvo on alle $0,5 \times 10^9/L$
- ✓ ja trombosyyttiarvo pysyy alle $50 \times 10^9/L$, eikä arvo ole laskussa

Blokkihoidot

Induktiohoidon jälkeen täydellisen remission saavuttaneet korkeariskipotilaat saavat seuraavaksi yhdeksän hoitoblokkia kemoterapiaa (A+B+C, A+B+C ja A+B+C). Hoitoblokit A ja B ovat aina kaksi ensimmäistä blokkia. Mikäli näiden hoitojen jälkeen potilas on edelleen täydellisessä remissiossa, hoidetaan häntä seuraavaksi hoitoblokin C mukaan. Tämän jälkeen jatketaan viimeiset kuusi blokkihoitoa loppuun.

Alkuperäisen hoito-ohjelman mukaisesti potilaalle annetaan FLAMSA-blokin mukaista hoitoa, jos potilaan luuydin on hoitoblokin B jälkeen luokkaa M2/3. Saavutettaessa FLAMSA-blokin mukaisella hoidolla luuydin-

luokka M1, jatketaan potilaan hoito loppuun samalla tavalla kuten niiden potilaiden, jotka ovat saavuttaneet täydellisen remission induktion jälkeen. Tällöin hoito jatkuu ensimmäisestä C hoitoblokista. Blokkihoidon jälkeen korkeariskipotilaat siirtyvät ylläpitohoitoon. FLAMSA-blokista on kuitenkin luovuttu ainakin Tampereen yliopistollisessa sairaalassa.

Ylläpitohoito I

Ylläpitohoitojen merkitys on standardi- ja keskiriskipotilaille suuri, sillä heille annettavat induktio- ja konsolidaatiohoidot ovat kevyempiä kuin korkeariskiryhmän potilaille annettavat hoidot. Ylläpitohoito I aloitetaan standardiriskipotilaille hoitoviikolla 20 ja keskiriskipotilaille viikolla 22. Hoito voidaan aloittaa molemmille riskiryhmille, mikäli:

- ✓ leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$
- ✓ tai neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$

Viikon kuluttua ylläpitohoito I:n aloittamisesta molempien riskiryhmien potilaat saavat korkea-annosmetotreksaatti -lääkityksen, mikäli seuraavat kolme ehtoa täyttyvät:

- ✓ neutrofiiliarvo on yli $0,5 \times 10^9/L$ ja trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$
- ✓ munuaisfunktio on normaali
- ✓ aminotransferaasit ASAT/ALAT eivät ole yli 20 kertaa yli viitealueen ylärajan

Ylläpitohoito I:n tavoitteena molemmille riskiryhmille on saada leukosyyttiarvo tasolle $1.5-3.0 \times 10^9/L$.

Korkeariskiryhmän potilaiden ylläpitohoito I aloitetaan hoitoviikolla 36. Ylläpitohoidon voi aloittaa kolmen viikon kuluttua viimeisen blokin aloittamisesta, mikäli:

- ✓ neutrofiiliarvo on yli $0,5 \times 10^9/L$
- ✓ ja trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$

Myöhäinen tehostusvaihe II ja konsolidaatio III

Keskiriskipotilaille ylläpitohoito I:tä seuraava vaihe on myöhäinen tehostusvaihe II ja konsolidaatio III, jotka toteutetaan hoitoviikoilla 60–66. Myöhäinen tehostusvaihe II voidaan aloittaa ja viedä läpi veriarvoista riippumatta. Konsolidaatio III aloitetaan puolestaan vasta, kun:

- ✓ leukosyyttimäärä on yli $1,5 \times 10^9/L$
- ✓ tai neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$

Korkeariskiryhmän potilaille toteutetaan lähes vastaava hoito, mutta heidän hoito-ohjelmassaan sitä kutsutaan myöhäiseksi tehostusvaiheeksi. Kriteerit hoidon aloitukselle ovat samat, kuin keskiriskipotilailla. Korkeariskiryhmässä myöhäinen tehostusvaihe aloitetaan hoitoviikolla 99. Nämä hoidot eivät kuulu standardiriskipotilaiden hoito-ohjelmaan.

Ylläpitohoito II

Standardiriskipotilaiden hoito jatkuu ylläpitohoito I:n jälkeen suoraan ylläpitohoito II:na. Se aloitetaan hoitoviikosta 58 alkaen. Keskiriskipotilaiden ylläpitohoito II aloitetaan puolestaan hoitoviikolla 66. Ylläpitohoito I:n tavoitteena molemmille riskiryhmille on saada leukosyyttiarvo tasolle $1,5\text{--}3,0 \times 10^9/L$.

Korkeariskipotilailla aloitetaan ylläpitohoito II hoitoviikolla 105. Korkeariskiryhmässä on ylläpitohoito II:n aloittamiselle asetettu veriarvorajat. Hoito voidaan aloittaa, kun:

- ✓ leukosyyttimäärä on yli $1,0 \times 10^9/L$
- ✓ neutrofiiliarvo yli $0,5 \times 10^9/L$
- ✓ ja trombosyytit yli $50 \times 10^9/L$ ja arvo nousemassa

Kaikissa riskiryhmissä ylläpitohoito II:ta jatketaan kunnes diagnoosin teosta on kulunut 2,5 vuotta huolimatta aiempien hoitojen mahdollisesta viivästyntymisestä.

Kantasolusiirto

NOPHO – ALL 2008 -hoito-ohjelmassa kantasolusiirtojen indikaatiot perustuvat yksinomaan hoitovasteeseen. Jos kantasolusiirto joudutaan tekemään, pyritään se toteuttamaan ensimmäisessä täydellisessä remissiossa. Kantasolusiirto tehdään kaikille niille potilaille, jotka eivät saavuta remissiota induktion jälkeen. Kantasolusiirto tehdään myös niille standardi- ja keskiriskipotilaille, joilla hoitopäivän 79 jäännöstautitaso on yli 10^{-3} . Mikäli korkeariskipotilaiden blokin B jälkeinen jäännöstautitaso on vastaava, pidetään sitä myös heillä indikaationa kantasolusiirrolle.



11 Hoito-ohjelman randomoidut tutkimusosiot

- * **Randomoitujen eli satunnaistettujen tutkimusten tavoitteena on lisätä tietämystä hoidon osien tehokkuudesta sekä toksisuudesta**
 - ✓ **Tavoitteena on tutkia tietyn lääkeaineen tai lääkeaineannoksen vaikutusta potilaan hoitovasteeseen**
- * **Hoito-ohjelma sisältää kolme randomoitua tutkimusosiota**
- * **Randomisaatioihin otetaan mukaan kaikki 1.1.2009 jälkeen ALL:ään sairastuneet**

Randomisaatioihin osallistuminen edellyttää mukana olevilta keskuksilta määrättyjä toimenpiteitä. Näitä ovat esimerkiksi velvollisuus rekisteröidä potilas NOPHO-rekisteriin viikon kuluessa ALL:n diagnosoinnista. Myös kaikkien induktiovaiheen ja ensimmäisen täydellisen remission aikana tapahtuvien kuolemien ja SUSARien (epäilty, mutta odottamaton vakava haitallinen reaktio) raportointi NOPHO-rekisteriin tulee tehdä 48 tunnin kuluessa.

Sairaalat, jotka toistuvasti poikkeavat hoito-ohjelman ohjeistuksesta, voidaan sulkea pois randomoiduista tutkimusosioista jatkososalta. He voivat kuitenkin jatkaa potilaidensa hoitoa hoito-ohjelman mukaisesti. Myös hoitava lääkäri voi kieltää potilaan randomisaation. Potilaalla ja hänen perheellään on oikeus kieltäytyä randomisaatioista. Kieltäytymisiä odotetaan tapahtuvan Suomessa kuitenkin todella vähän.

Randomoidut osiot toteutetaan kolmessa keskeisessä stratifikaatiopisteessä, jolloin suuri tutkimusjoukko jaetaan pienempiin homogeenisiin ryhmiin. Stratifikaatio suoritetaan ALL:n diagnoosivaiheessa sekä kuukauden (D29) ja kolmen kuukauden (D79) kuluttua diagnosoista. Stratifikaatiopisteissä tehtävien tutkimusten tulosten perusteella potilaan riskiryhmä voi muuttua. Diagnoosivaiheessa riskiryhmä riippuu potilaan leukeemisten solujen immunofenotyypistä ja valkosolumäärästä. Seuraavassa stra-

tifikaatiopisteessä riskiryhmä määritetään ALL-solukon karyotyypin sekä induktiohoidon jälkeisen jäännöstautitason perusteella. Kolmannessa pisteessä potilaat, joiden jäännöstautitaso on korkea, siirretään korkeariskin hoitoon ja tavoitteena on kantasolusiirto ensimmäisessä täydellisessä remissiovaiheessa.

Mitä randomoitujen tutkimusosioiden avulla selvitetään?

Ensimmäisessä randomoidussa tutkimusosiossa selvitetään, mikä merkitys on induktiovaiheessa annettavan lääkkeen 6-merkaptopuriini annoksen nostamisella. Lääkettä annetaan potilaille kolmessa eri annoskoossa. Standardiriskiryhmässä pienimmän annoksen saavat randomisaation ulkopuolelle jäävät potilaat. Randomisaatioon osallistuvien potilaiden annosta nostetaan hoitoviikkojen aikana asteittain suuremmaksi. Kahteen ensimmäiseen randomisaatioon on tavoitteena saada mukaan 900–1000 potilasta.

Toisessa randomisaatiossa tutkitaan, voiko asparginaasin annostusta vähentää. Annostuksen vaikutusta tutkitaan siten, että randomisaatioon osallistuville potilaille kyseistä lääkettä annetaan harvemmin. Viimeiseen randomisaatioon osallistuvat vain korkeariskiryhmän potilaat ja siksi siihen oletetaan saavan mukaan vain 100–130 potilasta. Randomisaation tarkoituksena on verrata uuden intratekaalisesti annosteltavan sytosiiniarabinoosi-lääkkeen tehoa aiemmin käytettyyn lääkkeeseen verrattuna. Ne potilaat, jotka eivät osallistu randomisaatioon, saavat edelleen aiemmissa hoito-ohjelmissä käytettyä lääkettä uuden sijaan.



12 NOPHO ALL -hoito-ohjelmissa tapahtunut muutos

- * Kehittyneiden tutkimusmenetelmien avulla ALL:n alaluokkia on pystytty tunnistamaan huomattavasti aiempaa enemmän
 - ✓ Tarve kehittää hoito-ohjelmia tasaisin väliajoin
- * Varhaisimmissa hoito-ohjelmissa osa potilaista on saanut liian voimakkaita hoitoja taudinkuvaan nähden
 - ✓ Toksisia sivuvaikutuksia etenkin korkeimmissa luokissa hoide-
tuille potilaille

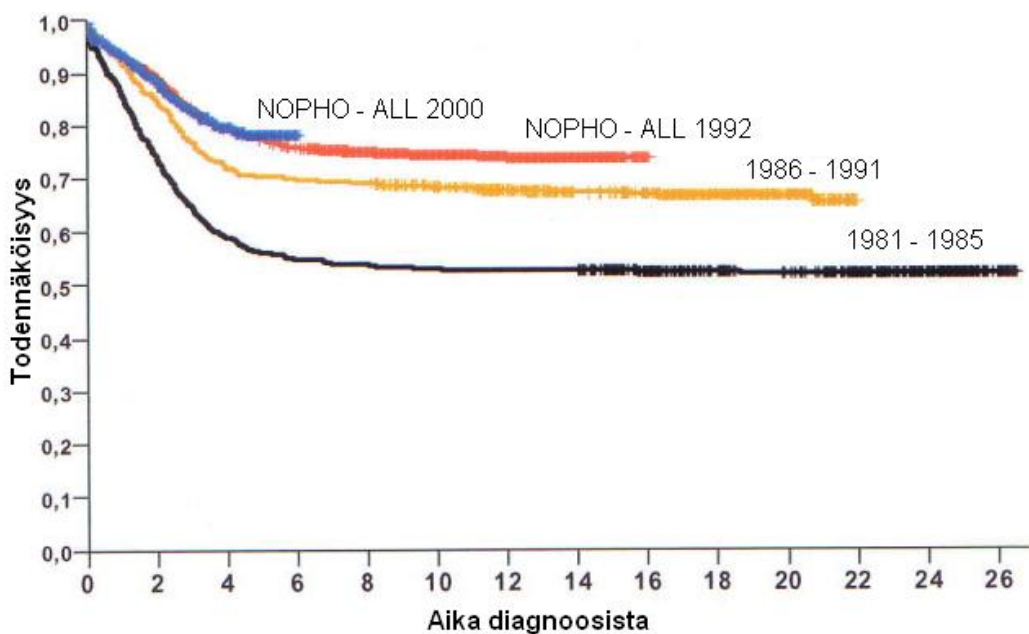
Kehittyneiden tutkimusmenetelmien myötä hoito-ohjelmiin olisi mahdollista luoda uusia alaluokkia. Käytännössä tämä ei kuitenkaan ole mahdollista, sillä todellisuudessa jokaisen potilaan sairaus on yksilöllinen ja vaatisi oman hoito-ohjelmansa.

Käytössä olleiden hoito-ohjelmien aikana erityisesti jäännöstautidiagnostiikka on kehittynyt huomattavasti. Sen myötä myös jäännöstaudin määrittely on muuttunut ja sen diagnostiikan merkitys korostunut.

Hoitojen toksisuuden vähentämiseksi suurin osa potilaista pyritään hoitamaan muussa kuin korkeariskiryhmässä, jossa lääkahoitojen sivuvaikutukset ovat kaikkein voimakkaimpia. NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelmassa korkeariskipotilaita oli 30 %, kun taas vuoden 2008 hoito-ohjelmassa tähän ryhmään odotetaan ohjautuvan vain 10–15 % potilaista. Uusimmassa hoito-ohjelmassa pyritään suurin joukko potilaista ohjaamaan standardiriskiryhmään.

NOPHO – ALL 2000 -hoito-ohjelmassa korkeariskipotilaiden EFS-arvo oli 60 %. Uudessa hoito-ohjelmassa tavoitellaan samaa EFS-arvoa. Sen saavuttaminen saattaa olla epärealistista, sillä osa aiemman hoito-ohjelman korkeariskipotilaista luokitellaan uudessa hoito-ohjelmassa matalampaan riskiryhmään. Tällöin nykyisessä hoito-ohjelmassa korkeariskiryhmään jää

vain potilaat, joiden ennuste on erittäin huono ja sen vuoksi ei voida olettaa, ettei heidän tautinsa uusisi tai heille ei seuraisi hoidosta vakavia komplikaatioita.



Kuva 1. Viiden vuoden EFS-arvon kehittyminen hoito-ohjelmien aikana kaikissa riskiryhmissä

Lähteet

Bain, B. J. 2003. Leukaemia Diagnosis. 3. painos. Lontoo: Blackwell Publishing.

Berg, S. L., Steuber, C. P. & Poplack, D. G. 2005. Clinical Manifestations of Acute Lymphoblastic Leukemia. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) Hematology. Basic Principles and Practice. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 1155–1162.

Elonen, E. 2007. Akuutit leukemiat. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 285–309.

Event-Free Survival (EFS). 2007. About.com: Lymphoma. Päivitetty 19.3.2007. Luettu 3.3.2009. <http://lymphoma.about.com/od/glossary/g/eventfreesurv.htm>.

Frequently asked questions. 2006. Reporting events/adverse reactions with medicinal product trials. Päivitetty 6.4.2006. Luettu 1.10.2008. http://www.ccmoonline.nl/hipe/uploads/downloads_cati/Veel%20gestelde%20vragen%20SUSAR_ENG.pdf. CCMO.

Hoelzer, D. & Gökbuget, N. 2005. Acute Lymphocytic Leukemia in Adults. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) Hematology. Basic Principles and Practice. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 1175–1194.

IMPAKTI. 2006. Terveysthuollon menetelmien arviointiyksikön lehti. 4/2006, 9. FinOHTA.

Intratekaalinen hoito (IDD). 2009. Medtronic. Luettu 4.3.2009. http://www.medtronic.fi/FI/health/pain_treatment_intra.html.

Kobayashi, N., Matsuda, K., Sakashita, K., Matsuzaki, S., Iwasaki, R. & Koike, K. 2004. Bilineage acute leukemia of T-lymphoid and myeloid lineages. *Haematologica* 89 (9), 1139-1141.

Kotylo, P. K. 2002. Flow Cytometric Analysis in Diagnostic Hematology. Teoksessa

Rodak, B. F. (toim.) Hematology. Clinical Principles and Applications. 2. painos. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 545–558.

Koukkunen, K., Hosia, V. & Keränen, J. 2001. Sivistyssanakirja. Helsinki: WSOY.

Lanzkowsky, P. 2005. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. 4. painos. New York: Elsevier Academic Press.

Leclair, S. J. 2002b. Introduction to Leukocyte Neoplasms. Teoksessa Rodak, B. F. (toim.) *Hematology. Clinical Principles and Applications*. 2. painos. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 451–458.

Leukemia. 2008. UCSF Children's Hospital. Päivitetty 5.5.2008. Luettu 24.4.2009. http://www.ucsfhealth.org/childrens/medical_services/cancer/leukemia/conditions/leukemia/signs.html.

Lymphoma and Clinical Trials. 2008. About.com: Lymphoma. Luettu 3.3.2009. http://lymphoma.about.com/od/clinicaltrials/Lymphoma_and_Clinical_Trials.htm.

MOT Sanakirjasto. 2007. Luettu 1.10.2008. <http://mot.kielikone.fi/mot/piramk/netmot.exe?UI=figr>.

Mäntymaa, P. 2002. Akuuttien leukemioiden luokitus. *Moodi* 26 (1), 7-8.

NOPHO – ALL 2008. 2008a. Final protocol version 1c-1.

NOPHO – ALL 2008. 2008b. Keskiriski (IR). Lyhennetty versio.

NOPHO – ALL 2008. 2008c. Keskiriski (IR). Lyhennetty versio potilaalle/vanhemmille.

NOPHO – ALL 2008. 2008d. Standardiriski (SR). Lyhennetty versio potilaalle/vanhemmille.

NINDS Ataxia Telangiectasia Information Page. 2009. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Päivitetty 24.4.2009. Luettu 15.7.2009. http://www.ninds.nih.gov/disorders/a_t/a-t.htm.

Overall Survival (OS). 2007. About.com: Lymphoma. Päivitetty 19.3.2007. Luettu 3.3.2009. http://lymphoma.about.com/od/glossary/g/overall_survival.htm.

Pankko, L. Laboratoriohoitaja. 2009. Henkilökohtainen tiedonanto 11.5.2009. Tampere. Pirkanmaan ammattikorkeakoulu.

Pihkala, U. 2007. Lasten leukemiat ja myelodysplastiset oireyhtymät. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 613–630.

Pelliniemi, T-T. & Tienhaara, A. 2007. Leukemioiden immunofenotyyppitys. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) *Veritaudit*. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 134–144.

Ruutu, T. 2007. Leukemiat, myelodysplastiset oireyhtymät ja myeloproliferatiiviset tilat. Teoksessa Joensuu, H., Roberts, P.J., Teppo, L. & Tenhunen, M. (toim.) Syöpätaudit. 3. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 651–679.

Ryan, D. H. & Cohen, H. J. 2005. Bone Marrow Examination. Teoksessa Hoffman, R., Benz, E. J., Shattil, S. J., Furie, B., Cohen, H. J., Silberstein, L. E. & McGlave, P. (toim.) Hematology. Basic Principles and Practice. 4. painos. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2656–2672.

Salmi, T. T. & Perkkiö, M. 2000. Lasten leukemiat ja lymfoomat. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A. & Krusius, T. (toim.) Veritaudit. 2. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 366–376.

Sanakirjat – Kustannus Oy Duodecim. 2008. Lääketieteen termit. Luettu 01.10.2008. http://www.terveysportti.fi/terveysportti/sanakirjat.koti?p_kirja_id=32.

Solunetti. 2006b. Interfaasi. Luettu 31.12.2008. http://www.solunetti.fi/fi/solu_biologia/interfaasi/.

Statistics.com. 2007. Statistical Glossary. Luettu 01.10.2008. <http://www.statistics.com/resources/glossary/s/stratsamp.php>.

Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoon varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Turgeon, M.L. 2005. Clinical hematology. Theory and Procedures. 4. painos. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

Vettenranta, K. 2000. Istukkaveri kantasolusiirtotoiminnan kokonaisuudessa. Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim 116 (21), 2392–2393.

Vettenranta, K. 2009. NOPHO ALL – protokolla ja taustaa sille. Luento. Syöpää sairastavia lapsia hoitavien työntekijöiden koulutuspäivä 29.5.2009. Pirkanmaan sairaanhoitopiiri. Tampereen yliopistollinen sairaala. Tampere.

Viitapohja, K. 2007a. Bloomin oireyhtymä. Kehitysvammahuollon tietopankki. Päivitetty 15.4.2007. Luettu 2.3.2009. <http://www.saunalah-ti.fi/kup/syndroma /bloom.htm>.

Viitapohja, K. 2007b. Fanconin anemia. Kehitysvammahuollon tietopankki. Päivitetty 18.3.2007. Luettu 2.3.2009. http://www.saunalah-ti.fi/kup/syndroma /fancon_a.htm.

What is Randomization? 2006. About.com: Lymphoma. Päivitetty 22.10.2006. Luettu 3.3.2009. <http://lymphoma.about.com/od/clinicaltrials/f/randomization.htm>.

Sanastoa

1 CR (First Complete Remission) ensimmäinen täydellinen remissiovaihe.

Ataxia-teleangiektasia on harvinainen lapsuusiän neurologinen sairaus. Sen myötä aivoista rappeutuu alueita, jotka kontrolloivat motorisia liikkeitä ja puhetta.

Bilineage kaksilinjainen leukemia. Akuutin leukemian tyyppi, jossa potilaalla on havaittavissa sekä lymfaattisen että myeloisen solulinjan solujen epätyypillistä lisääntymistä.

EFS (Event-Free Survival) tapahtumavapaa eloonjääminen. Tiettyinä ajankohtana niiden ihmisten prosentuaalinen määrä, joilla tauti ei ole uusiutunut sen jälkeen, kun heitä on lääkitty kyseistä tautia lykkävällä tai sitä estävällä lääkityksellä.

Hoito-trial hoitokokeilu, saadaan näyttöä uusien hoitojen laadukkuudesta ja luotettavuudesta ennen varsinaisen hoito-ohjelman käyttöönottoa.

Induktio käynnistäminen, hoidon ensimmäinen vaihe.

Infiltraatio vieraiden solujen kertyminen tai tunkeutuminen kudokseen.

Interfaasi solusyklin välivaihe, johon sisältyy vaiheet G1 eli kasvuvaihe, S eli DNA:n replikoituminen sekä G2 eli solun genomin tarkistus.

Intratekaalinen hoito katetrin avulla selkäyttimeen annosteltava lääkehoito, joka mahdollistaa pienemmät lääkeannokset ja vähentää näin mahdollisia haittavaikutuksia.

MRD (Minimal Residual Disease) jäännöstauti. Leukemiapotilaan verenkierossa jäljellä olevien leukemiasolujen määrä.

OS (Overall Survival) kokonaiseloonjääminen. Ryhmän niiden yksilöiden prosentuaalinen osuus, jotka ovat todennäköisesti elossa tietyn pituisen ajanjakson jälkeen.

Prognosis ennuste.

Protokolla menettelyohjeet.



Randomoida, randomisaatio satunnaistaminen, tutkittavien valikoitumiseen liittyvän harhan poistamiseen tähtäävä prosessi (tutkimuksessa), jossa jokaisella koeobjektilla on yhtä suuri mahdollisuus tulla valituksi koe-ryhmään sekä yhtä suuri mahdollisuus tulla valituksi verrokkiryhmään. Hoitokokeilujen randomisaatiossa potilaat jaetaan ryhmiin ja ryhmät saavat keskenään eri hoitoa, jolloin voidaan helpommin löytää tehokkain hoitomenetelmä.

Rekrytoida hankkia, ottaa, värvätä, palkata väkeä työhön, palvelukseen tms.

Relapsi uusiutuma, taudin uusiutuminen, tautioireiden palaaminen remission jälkeen.

Remissio elpymävaihe, taudin oireiden mahdollisesti väliaikainen lieveneminen.

SCT (Stem Cell Transplantation) kantasolusiirto.

Stratifikaatio, stratified sampling suuren tutkimusjoukon jako pienempiin homogeenisiin ryhmiin, joiden sisällä tehdään randomisaatio.

SUSAR (Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction) epäilty odottamaton vakava haitallinen reaktio. Tapahtuma, joka ilmenee kesken potilaan hoidon ja täyttää seuraavat kriteerit: on vakava ja odottamaton sekä on olemassa jonkin asteinen mahdollisuus sille, että tapahtuma on potilaalle vahingollinen.