

# Učinkovitost i sigurnost ibrutiniba u liječenju kronične limfocitne leukemije : iskustvo Zavoda za hematologiju KBC-a Split

---

**Matas, Nina**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:359615>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-01**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**NINA MATAS**

**Učinkovitost i sigurnost ibrutiniba u liječenju kronične limfocitne leukemije - iskustvo  
Zavoda za hematologiju KBC Split**

**Diplomski rad**

**Akadska godina 2021/2022.**

**Mentor:**

**dr. sc. Davor Galušić**

**Split, srpanj 2022.**

## SADRŽAJ:

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD .....                                      | 1  |
| 1.1 Bolesti limfocitne loze.....                   | 2  |
| 1.2 Kronična limfocitna leukemija .....            | 4  |
| 1.2.1. Definicija .....                            | 4  |
| 1.2.2. Epidemiologija .....                        | 4  |
| 1.2.3. Etiologija .....                            | 4  |
| 1.2.4. Patogeneza.....                             | 5  |
| 1.2.5. Klinička slika.....                         | 6  |
| 1.2.6. Dijagnostika i klinička klasifikacija ..... | 6  |
| 1.2.7. Prognoza .....                              | 8  |
| 1.2.8. Liječenje .....                             | 9  |
| 1.3. Ibrutinib.....                                | 11 |
| 2. CILJ ISTRAŽIVANJA.....                          | 14 |
| 3. ISPITANICI I POSTUPCI .....                     | 16 |
| 4. REZULTATI.....                                  | 19 |
| 4.1. Obilježja bolesnika i bolesti .....           | 20 |
| 4.2. Analiza preživljenja.....                     | 25 |
| 4.3. Sigurnosni profil ibrutiniba .....            | 30 |
| 5. RASPRAVA.....                                   | 32 |
| 6. ZAKLJUČCI.....                                  | 36 |
| 7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....                  | 38 |
| 8. SAŽETAK.....                                    | 48 |
| 9. SUMMARY .....                                   | 50 |

## ZAHVALA

*Željela bih se prvenstveno zahvaliti mentoru dr. sc. Davoru Galušiću na iskazanom povjerenju i stručnoj pomoći tijekom izrade diplomskog rada.*

*Posebna zahvala ide mojim najbližima, obitelji, Petru i dragim prijateljima koji su tijekom cijelog školovanja bili uz mene.*

*Posljednja zahvala odnosno pohvala svim pacijentima i mome didi koji su se borili i još uvijek se bore protiv ovih okom nevidljivih, a kobnih bolesti. Znanost pomalo, ali sigurno korača u nepoznato i traži spasonosni lijek. Bila mi je velika čast naći se na tom putu i osjetiti se makar djelićem toga.*

## POPIS KRATICA:

ATP – adenzin trifosfat

BCL-2 – engl. *B-cell lymphoma 2*

BCR – receptor B stanica (engl. *B cell receptor*)

BTK – Brutonova tirozin kinaza

CAR T – engl. *chimeric antigen receptor T*

CD – engl. *cluster of differentiation*

CLL-IPI – Internacionalni prognostički indeks za Kroničnu limfocitnu leukemiju (engl. *International Prognostic Index for Chronic Lymphocytic Leukemia*)

COVID-19 – engl. *coronavirus disease 2019*

CTCAE – Zajednički terminološki kriteriji za štetne događaje (engl. *Common Terminology Criteria for Adverse Events*)

ECOG – engl. *Eastern Cooperative Oncology Group*

EMA – Europska agencija za lijekove (engl. *European Medicines Agency*)

FDA – Američka agencija za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug Administration*)

FISH – florescentna in situ hibridizacija

GM-CSF – engl. *Granulocyte – Macrophage Colony-Stimulating Factor*

GVHD – engl. *graft-versus-host-disease*

HB – hemoglobin

HZOO – Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje

IGHV – mutacijski status gena za teški lanac imunoglobulina (engl. *immunoglobulin heavy chain variable regions genes*)

IL – interleukin

INTERLYMPH – engl. *International Lymphoma Epidemiology Consortium*

IWCLL – Međunarodna radna skupina za kroničnu limfocitnu leukemiju (engl. *International workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia*)

KBC – Klinički bolnički centar

KLL – Kronična limfocitna leukemija

KR – kompletna remisija

L – leukociti

LDH – laktat dehidrogenaza

MSCT – engl. *Multi slice computed tomography*

ORR – ukupna stopa odgovora (engl. *overall response rate*)

OS – ukupno preživljenje (engl. *overall survival*).

PB – progresivna bolest

PFS – preživljenje bez progresije (engl. *progression free survival*)

PI3K – fosfoinozitol-3-kinaza

PR – parcijalna remisija

PTLD – limfoproliferativne bolesti povezane s imunodeficijencijom (engl. *Post-transplant lymphoproliferative disorder*)

R – rituksimab

SAD – Sjedinjene Američke Države

SARS-CoV-2 – engl. *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*

SB – stabilna bolest

SLL – limfom malih limfocita (engl. *small lymphocytic lymphoma*)

SZO – Svjetska Zdravstvena Organizacija

TP53 – tumor protein p53

TR – trombociti

TTM – engl. *Total tumor mass score*

TTP – vrijeme bez progresije (engl. *time to progression*)

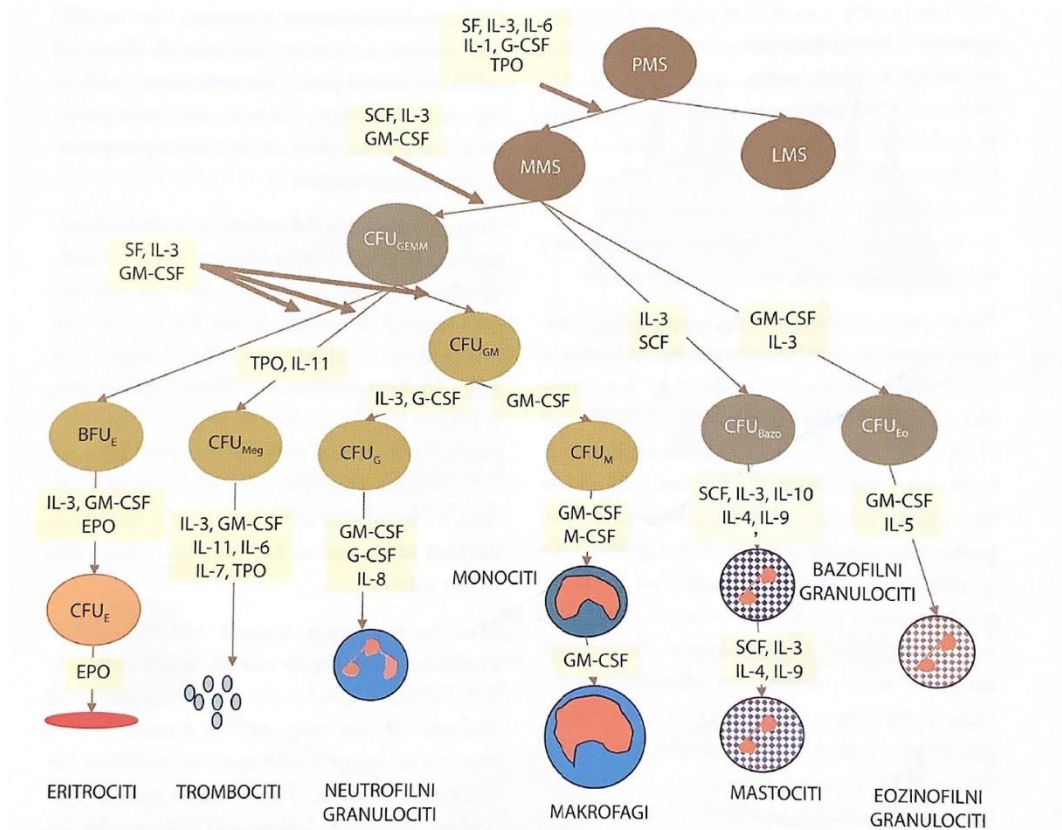
## **1. UVOD**

## 1.1 Bolesti limfocitne loze

Hematopoezni (krvotvorni) sustav kompleksni je sustav koji ne tvori jedinstvenu anatomsku cjelinu. Sačinjen je od krvnih stanica i hematopoeznih organa. Iako hematopoezni organi nisu anatomske povezani, njihova funkcionalna povezanost održava se preko krvožilnog sustava (1). Okosnica hematopoeze je pluripotentna matična stanica koja se pod utjecajem određenih faktora rasta, u idealnom mikrookolišu, diferencira u mijeloidnu i limfoidnu multipotentnu matičnu stanicu (2). Iz limfoidnog progenitora nastaju T i B limfociti te NK stanice koje su okosnica imunološkog sustava (Slika 1) (3). U bolesti limfocitne loze svrstavaju se brojni poremećaji koji nastaju tijekom procesa proliferacije i sazrijevanja limfoidne matične stanice u zrelije oblike. Stanice limfocitne loze cirkuliraju krvotokom i limfnim žilama, a sazrijevaju u hematopoeznim organima (uglavnom u timusu i limfnim čvorovima). Važna su sastavnica mikrookoliša koštane srži gdje proizvode brojne čimbenike rasta (IL-3, IL-6, GM-CSF, IL-5, TNF $\alpha$  i brojne druge) te time sudjeluju u interakcijama između hematopoetskih stanica i stanica strome (4, 5). Bilo koja greška u tom kompleksnom procesu sazrijevanja može dovesti do nastanka malignog klona koji ima sposobnost proliferacije i samoobnavljanja. Prekomjeran rast takvog malignog klona limfocitne loze dovodi do razvoja leukemija (klonalne stanice infiltriraju koštanu srž i/ili perifernu krv) i limfoma (klonalne stanice dominantno infiltriraju limfne čvorove) (6). Ovisno o zrelosti klonalnih limfoidnih stanica razlikujemo akutne limfoblastične leukemije (proliferacija nezrelih limfoblasta) i kronične limfoproliferativne bolesti (proliferacija zrelih stanica limfocitopoeze) (7, 8). Prema revidiranom četvrtom izdanju klasifikacije Svjetske Zdravstvene Organizacije (SZO) u tumore limfoidne loze ubrajaju se: tumori limfocitnih prekursora, tumori zrelih B limfocita, tumori NK i T stanica, Hodgkinov limfom i limfoproliferativne bolesti povezane s imunodeficijencom (engl. *Post-transplant lymphoproliferative disorder*; PTL) (9). Na temelju kombinacije kliničkih, morfoloških, imunofenotipskih i citogenetskih značajki, SZO klasifikacija nastoji kategorizirati sve poremećaje limfocitne loze kao posebne entitete (10). Kronične limfoproliferativne bolesti osim prema imunofenotipskim bilježima stanica (T i B limfociti te NK stanice) klasificiramo i prema kliničkom tijeku bolesti te razlikujemo tzv. indolentne (sporoprogredirajuće), agresivne i vrlo agresivne limfoproliferativne bolesti (9). Limfomi i leukemije T imunofenotipa uglavnom su agresivni, dok u limfoproliferativnim bolestima B imunofenotipa razlikujemo desetke entiteta od indolentnih do vrlo agresivnih. Takva podjela korisna je ne samo kao prognostički pokazatelj nego je bitna i za terapijski pristup. Prosječno preživljenje bolesnika s indolentnim limfomima i leukemijama nerijetko je i dulje od 20ak godina, a liječenje nije ni potrebno dok ne dođe do znatnijeg porasta tumorske mase i pojave



simptoma bolesti (11). Usprkos sporoj progresiji, indolentni limfomi skloni su relapsima te se generalno smatraju neizlječivim bolestima. S druge strane, preživljenje bolesnika s agresivnim i vrlo agresivnim limfomima mjeri se u mjesecima, a nekad i u tjednima ukoliko se na vrijeme ne započne sa specifičnom terapijom (12). Prema lokalizaciji i distribuciji tumorske mase, limfocitne neoplazme dijele se na nodalne i ekstranodalne limfome te leukemije. Ponekad točna razdioba entiteta prema lokalizaciji nije moguća budući da se ista bolest može prezentirati i kao leukemija i kao limfom. Jedna od takvih indolentnih limfoproliferativnih bolesti B imunofenotipa je kronična limfocitna leukemija (KLL) odnosno limfom malih limfocita (SLL, engl. *small lymphocytic lymphoma*).



**Slika 1.** Stanice hematopoeznog sustava. *Preuzeto iz Labar B, Hauptmann E. Hematologija. 4.izdanje. Zagreb: Školska knjig; 2007. 8 str.*

## **1.2 Kronična limfocitna leukemija**

### **1.2.1. Definicija**

Kronična limfocitna leukemija (KLL) ili limfom malih limfocita (SLL) kronična je indolentna limfoproliferativna bolest s proliferacijom kлона malih, zrelih limfocita B imunofenotipa (13). Lako je prepoznatljiva već u krvnom razmazu gdje karakteristično dominiraju mali limfociti s uskim rubom citoplazme i gustom jezgrom s grubo agregiranim kromatinom. Osim monomorfnih limfocita, nekada se mogu naći i veći atipični limfociti ili prolimfociti u manjem postotku (14). Tumorske stanice progresivno se nakupljaju u perifernoj krvi, koštanoj srži i limfnim čvorovima, a na svojoj površini eksprimiraju biljege B-stanica CD19 i CD20 uz CD5 i CD23 (15). Prisutne su niže razine površinskog CD20, IgM i CD79b na klonalnim B stanicama u odnosu na normalne B stanice (15). Klasična definicija prema preporukama Međunarodne radne skupine za kroničnu limfocitnu leukemiju (engl. *The International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia*; IWCLL) podrazumijeva infiltraciju koštane srži s > 30% limfocita uz prisutnost više od  $5 \times 10^9/L$  monoklonalnih B limfocita u perifernoj krvi (16). Ukoliko je broj limfocita u perifernoj krvi manji od  $5 \times 10^9/L$ , a prisutna je limfadenopatija i/ili splenomegalija, govorimo o SLL odnosno limfomskoj prezentaciji bolesti (16).

### **1.2.2. Epidemiologija**

Kronična limfocitna leukemija najčešća je leukemija starije životne dobi i najčešći je oblik kronične leukemije u Europi i SAD-u (Sjedinjene Američke Države) s incidencijom od oko 4 - 5 novih slučajeva na 100 000 stanovnika godišnje (17). U Hrvatskoj više od 42% svih leukemija otpada na KLL, a procijenjena incidencija je 2,59 na 100 000 muškaraca te 1,6 na 100 000 žena godišnje (18). Medijan dobi prilikom postavljanja dijagnoze je 72 godine, a bolest se rijetko javlja u osoba mlađih od 40 godina (19). Češće se javlja u osoba muškog spola, a bolest je manje učestala na Azijskom kontinentu (19,20). Utvrđena je i određena genetska sklonost te je relativni rizik obolijevanja oko 8 do 9 puta veći za osobe koji u obitelji imaju oboljelog od KLL (21). S obzirom na produljenje životnog vijeka i sve dostupnije zdravstvene skrbi, za očekivati je stalni porast prevalencije KLL na račun dijagnosticiranih asimptomatskih bolesnika u ranom stadiju bolesti (22).

### **1.2.3. Etiologija**

Identificiran je ograničen broj čimbenika rizika za nastanak KLL. Ova leukemija ima izraženu nasljednu predispoziciju te oko 10% bolesnika ima pozitivnu obiteljsku anamnezu na

maligne hematološke bolesti (23). InterLymph (*International Lymphoma Epidemiology Consortium*) projektom iz 2006. godine, nakon detaljno provedene korelacijske studije na velikoj kohorti ispitanika bijele rase s KLL-om u usporedbi s općom populacijom, identificirano je više rizičnih čimbenika kao što su: pozitivna obiteljska anamneza srodnika u prvom koljenu s hematološkom malignom bolešću, povijest rada ili života na farmi (izloženost herbicidima i pesticidima), frizeri i povijest infekcije hepatitisom C (24). Čimbenici za koje je utvrđeno da imaju mogući zaštitni efekt su povijest alergija, primanje transfuzija krvi, izlaganje suncu i pušenje (24).

#### **1.2.4. Patogeneza**

Kronična limfocitna leukemija klonalni je poremećaj tj. neoplastične stanice potomci su jedne somatske stanice u kojoj je nastao poremećaj u sazrijevanju s posljedičnim nakupljanjem klonalnih leukemijskih stanica koje zadržavaju određene sličnosti sa stanicama koje se nalaze na analognom stadiju normalnog sazrijevanja (25). Neoplastične stanice potječu iz loze B limfocita, što se dokazuje njihovom ekspresijom površinskih pan B staničnih biljega uključujući CD19 i CD20 (15). Većina klonalnih B stanica također izražava  $\kappa$  i  $\lambda$  lake imunoglobulinske lance na svojoj površini (15). Prekomjerna ekspresija višestrukih antiapoptotičkih proteina poput BCL-2 (engl. *B-cell lymphoma 2*), zajedno s transkripcijskim faktorima poput NF- $\kappa$ B i STAT3 doprinosi neefektivnoj apoptozi i postupnom nakupljanju leukemijskih stanica (26). Klonalne B stanice imaju drukčiji afinitet za nakupljanje unutar različitih odjeljaka pa se tako tipični, mali (zreli) limfociti primarno nalaze u perifernoj krvi, za razliku od atipičnih limfocitnih varijanti koje većinom nalazimo u koštanoj srži i limfatičnim organima (27). Generalno, u limfoproliferativnim poremećajima, kao i u svim drugim malignim bolestima, dolazi do promjena u genomu stanice koje onda posljedično mijenjaju karakteristike i obrazac ponašanja samih stanica. Neoplastična transformacija uključuje nekontroliranu klonalnu ekspanziju, infiltraciju raznih tkiva i organa te oštećenje hematopoeze. Do takvih negativnih učinaka može doći zbog insercije virusa, kromosomskih translokacija, amplifikacija, delecija te mutacija (28,29). Najčešće kromosomske aberacije u KLL obuhvaćaju deleciju kromosoma 13q u nešto više od 50% slučajeva te stjecanje kromosoma 12 (trisomija 12) u 10 - 20% slučajeva (30). Delecija kromosoma 11q prisutna je u oko 10%, a delecija kromosoma 17p (mutacija gena TP53) u oko 3 - 8% bolesnika, mada se te aberacije obično stječu u kasnim fazama bolesti (30,31). Dodatne mutacije somatskih gena identificirane su u NOTCH1, XPO1, KLHL6, MYD88 i SF3B1 genima (32). U današnje vrijeme kvalitetna citogenetska i molekularna analiza nužne su prilikom prognostičke stratifikacije bolesnika s KLL. Jasno su

definirani bolesnici visokog rizika (prisutnost mutacije gena TP53 i/ili nemutiranog gena za teški lanac imunoglobulina) i povoljnog rizika (mutirani gen za teški lanac imunoglobulina) (33). KLL se definira kao stabilni limfoproliferativni poremećaj u kojem se karakteristike neoplastičnog klona uglavnom ne mijenjaju, no tijekom bolesti moguća je i evolucija malignog klona i transformacija u agresivne limfoproliferativne poremećaje (Sy. Richter) u oko 3 do 7% bolesnika ili rjeđe u Hodgkinov limfom i multipli mijelom (34).

### **1.2.5. Klinička slika**

U većine bolesnika dijagnoza KLL se postavlja slučajno prilikom laboratorijske obrade. Najčešće su bez simptoma, a ciljana hematološka obrada se indicira zbog limfadenopatije i/ili limfocitoze nejasne etiologije (35). Ukoliko se radi o simptomatskoj bolesti, bolesnici najčešće imaju tipične, tzv. „B simptome“: gubitak više od 10% tjelesne mase u posljednjih 6 mjeseci bez namjere, povišena tjelesna temperatura ( $>38^{\circ}\text{C}$ ) koja traje 2 tjedna ili duže bez jasne infekcije i profuzna noćna znojenja koja zahtijevaju presvlačenje (1). Fizikalnim pregledom obično se nađu pomični, bezbolni limfni čvorovi, a nerijetko i splenomegalija. Leukemijske stanice mogu infiltrirati bilo koji organski sustav, ali se takva prezentacija obično javlja u bolesnika s uznapredovalom bolešću (36). Isto tako, infiltracija koštane srži klonalnim stanicama uzrokuje supresiju normalne hematopoeze te bolesnici mogu razviti simptomatsku anemiju, biti skloni krvarenju (trombocitopenija) ili infekcijama zbog neutropenije (37). Osim zbog neutropenije, ponavljajuće oportunističke infekcije virusima i gljivicama te teške infekcije inkapsuliranim mikroorganizmima posljedica su i hipogamaglobulinemije te poremećenog imunološkog odgovora (38).

### **1.2.6. Dijagnostika i klinička klasifikacija**

Nakon postavljanja sumnje na postojanje kronične limfocitne leukemije, bolesnik se upućuje na ciljanu hematološku obradu koja je nužna za potvrdu dijagnoze i procjenu stupnja proširenosti bolesti. Uobičajeni dijagnostički postupak uključuje anamnezu, fizikalni pregled, laboratorijske pretrage, morfološku analizu periferne krvi i/ili koštane srži, protočnu citometriju, citogenetiku molekularnu analizu i radiološku obradu (engl. *multi-slice computed tomography*; MSCT) (39). Opseg obrade nerijetko je individualan te asimptomatskim bolesnicima, kod kojih nije indicirano specifično hematološko liječenje (a takvi su u većini), nije nužno učiniti kompletnu obradu nego se indicira redovno kliničko praćenje nakon potvrde dijagnoze. Osnovni laboratorijski pokazatelj KLL je perzistirajuća (najmanje tri mjeseca) apsolutna limfocitoza ( $> 5 \times 10^9/\text{L}$ ), a nerijetko su prisutni anemija i/ili trombocitopenija (40).

Dijagnoza se obično postavlja protočnom citometrijom (imunofenotipizacijom) limfocita periferne krvi i/ili koštane srži kojom se potvrđuje klonalna populacija B limfocita s tipičnim površinskim biljezima CD19 i CD20 uz CD5 i CD23 (15). Limfadenopatija se utvrđuje fizikalnim pregledom ili slikovnom obradom (ultrazvuk, MSCT). Citološka i/ili histološka analiza limfnog čvora od velike su dijagnostičke pomoći, pogotovo u situacijama kada je potrebno isključiti druge limfoproliferativne poremećaje ili transformaciju u agresivni limfom (41). Nakon postavljanja dijagnoze, sljedeći korak je utvrđivanje stadija odnosno stupnja proširenosti bolesti. U kliničkoj praksi najčešće se koriste Rai i Binet klasifikacija prema kojima se bolesnici stratificiraju u različite prognostičke skupine, a na njima se temelji i terapijski pristup (Slika 2) (42,43). Prema Rai klasifikaciji bolesnici se razvrstavaju u 5 skupina: stadij 0 kod kojeg je prisutna samo limfocitoza, stadij 1 limfocitoza, stadij 2 splenomegalija, stadij 3 anemija (Hb < 100 - 110 g/L) i stadij 4 trombocitopenija (<100 x10<sup>9</sup>/L) (42). Samo bolesnici Rai stadija 3 ili 4 zahtijevaju specifično liječenje. Binet klasifikacija uzima u obzir procjenu tumorske mase prema citopenijama i broju zahvaćenih regija limfnih čvorova te se bolesnici razvrstavaju u tri skupine: stadiji A i B bez anemije i trombocitopenije sa zahvaćanjem < 3 (stadij A) ili ≥ 3 (stadij B) regije limfnih čvorova, stadij C s anemijom i/ili trombocitopenijom (Hb < 100 g/L i/ili Tr < 100 x 10<sup>9</sup>/L bez dokaza imunih citopenija) (43).

| Rai stadiji |  |          |
|-------------|--|----------|
| STADIJ      | OPIS   | RIZIK    |
| 0           | Limfocitoza, u perifernoj krvi > 15 x 10 <sup>9</sup> /L i > 40% u koštanoj srži | Niski    |
| I           | Stadij 0 uz povećani limfni čvor (čvorove)                                       | Umjereni |
| II          | Stadij 0-I uz splenomegaliju, hepatomegaliju ili oboje                           | Umjereni |
| III*        | Stadij 0-II uz hemoglobin < 110 g/L  | Visoki   |
| IV*         | Stadij 0-III uz trombocite < 100 x 10 <sup>9</sup> /L                            | Visoki   |

\* Imune citopenije ne ulaze u ovu definiciju stadija

| Binet stadiji |  |          |
|---------------|--|----------|
| STADIJ        | OPIS   | RIZIK    |
| A             | Hemoglobin ≥ 100 g/L i trombociti ≥ 100 x 10 <sup>9</sup> /L i < 3 zahvaćene regije**              | Niski    |
| B             | Hemoglobin ≥ 100g/L i trombociti ≥ 100 x 10 <sup>9</sup> /L i ≥ 3 zahvaćene regije                 | Umjereni |
| C*            | Hemoglobin < 100g/L i/ili trombociti < 100 x 10 <sup>9</sup> /L i bilo koji broj zahvaćenih regija | Visoki   |

\* Imune citopenije ne ulaze u ovu definiciju stadija  
 \*\*Pet regija limfnih područja obuhvaćaju: jednostrano ili obostrano cervikalno, aksilarno i ingvinalno, hepatomegalija i splenomegalija

**Slika 2.** Klasifikacija prema Rai-u i Binet-u. Preuzeto s: <https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2018/05/AMANDMAN-KROHEM-KLL-SMJERNICE-v1-2017.pdf>

Osim ovih jednostavnih i općeprihvaćenih klasifikacija, ponekad se koriste i druge klasifikacije kojima se kvantificira veličina tumorske mase. Jedna od takvih je TTM (engl. *total tumor mass score*) klasifikacija kojom se tumorska masa procjenjuje na osnovu tri parametra: promjer najvećeg limfnog čvora, veličina slezene i apsolutni broj limfocita (TTM = promjer najvećeg limfnog čvora u cm + slezena pod lijevim rebrenim rukom u cm + √apsolutni broj

limfocita) (44). Velika tumorska masa (TTM >15) predstavlja indikaciju za započinjanje specifičnog liječenja (44).

### 1.2.7. Prognoza

Kao što je u uvodnom dijelu navedeno, KLL/SLL spada u indolentne limfoproliferativne poremećaja, a klinički tijek bolesti vrlo je nepredvidiv. Trećina bolesnika s KLL nikada ne progredira i ne zahtjeva liječenje, trećina će progredirati nakon nekog vremena te zahtijevati specifičnu terapiju, a otprilike trećina će zahtijevati liječenje odmah nakon postavljanje dijagnoze (45). Iako se radi o bolesti starije životne dobi očekivano preživljenje bolesnika danas je sve dulje s obzirom na dostupnost ciljane terapije, a petogodišnja stopa preživljenja procjenjuje se i do 90% (46,47). Prognoza bolesti ovisi o kliničkom stadiju prilikom postavljanja dijagnoze, ali i o brojnim drugim utvrđenim prognostičkim faktorima (48). Tradicionalni prognostički čimbenici uključuju kliničke parametre, laboratorijske nalaze i biološke čimbenike pomoću kojih se prije svega nastoje identificirati bolesnici visokog rizika. Bolesnici s velikom tumorskom masom, koji su prilikom dijagnoze svrstani u stadij 3 ili 4 po Rai odnosno stadij C prema Binet, u prosjeku imaju znatno kraće ukupno preživljenje nego bolesnici s nižim stadijima bolesti (42,43). Među nepovoljne prognostičke čimbenike ubrajaju se i podvostručenje broja limfocita u razdoblju kraćem od 12 mjeseci, povišena vrijednost serumskog  $\beta$ 2-mikroglobulina, povišen LDH (laktat dehidrogenaza) i brojni drugi (49). Mutacijski status gena za teški lanac imunoglobulina (engl. *immunoglobulin heavy chain variable regions genes*; IGHV) pokazao se kao jako pouzdan i relevantan prognostički alat te je nekoliko studija jasno dokazalo korelaciju nemutiranog IGHV gena s lošijim kliničkim ishodom (50). S druge strane, mutirani IGHV gen prisutan je u otprilike 60 posto bolesnika te se smatra povoljnim prognostičkim faktorom (51). Status mutacije IGHV ne varira tijekom evolucije bolesti zbog čega je preporučan kao minimalni standard inicijalne obrade (52). Pomoću FISH metode (fluorescentna in situ hibridizacija) otkrivaju se 4 najčešće kromosomske abnormalnosti: delecija 13q koja je prognostički povoljna, trisomija 12, delecija 11q i delecija 17p kao najnepovoljnija citogenetska promjena (30,53). Delecija 17p obično je povezana s mutacijom gena TP53 (tumorski protein p53) što ima za posljedicu agresivniji tijek bolesti, slab odgovor na standardnu kemoimunoterapiju i veći rizik od transformacije bolesti (54). Jedan od novijih prognostičkih modela je Internacionalni prognostički indeks za Kroničnu limfocitnu leukemiju (engl. *International Prognostic Index for Chronic Lymphocytic Leukemia*; CLL-IPI) koji uzima u obzir životnu dob, klinički stadij bolesti, status IGHV mutacije, razinu serumskog  $\beta$ 2-mikroglobulina i prisutnost delecije 17p i/ili TP53 mutacije (55).

### 1.2.8. Liječenje

Budući da se radi o indolentnom limfoproliferativnom poremećaju, liječenje bolesnika s KLL nije potrebno ukoliko se nije razvila simptomatska bolest s velikom tumorskom masom. Odluka o započinjanju terapije, prema smjernicama IWCLL, ovisi o ispunjenju barem jednog od navedenih kriterija: a) progresivno zatajenje funkcije koštane srži u smislu razvoja ili pogoršanja anemije i/ili trombocitopenije, b) pojava masivne (> 10 cm) ili progresivne ili simptomatske limfadenopatije, c) pojava masivne (> 6 cm) ili progresivne ili simptomatske splenomegalije, d) progresivna limfocitoza, odnosno povećanje broja limfocita za  $\geq 50\%$  u dva mjeseca ili podvostručenje limfocitoze u razdoblju kraćem od šest mjeseci, e) pojava konstitucijskih znakova (B simptomi), f) razvoj autoimune hemolitičke anemije i/ili imunosne trombocitopenije koje slabo odgovaraju na glukokortikoide te g) simptomatska ili funkcionalna ektranodalna prezentacija (npr. zahvaćenost kože, bubrega, pluća, kralježnice i sl.) (40). Za sve ostale bolesnike primjenjuje se konzervativni pristup, odnosno praćenje bez terapije, jer rezultati dosadašnjih istraživanja nisu pokazali benefite u liječenju rane (Rai 0, Binet A) asimptomatske bolesti (56-58). Budući da je KLL uglavnom neizlječiva bolest, ciljevi terapije su poboljšanje kvalitete života i produljenje ukupnog preživljenja. Za optimalno liječenje potrebna je pažljiva evaluacija različitih faktora koji uključuju: klinički stadij bolesti, životnu dob, simptome bolesti, opće stanje bolesnika, citogenetske i molekularne parametre te je li bolest već bila podvrgnuta terapiji i kakav je bio ishod prethodne terapije (59). Liječenje se sastoji se od antineoplastične terapije i potpornih mjera. Potporne mjere su antiinfektivna profilaksa, cijepljenje, nadomjesna terapija imunoglobulina, suportivne transfuzije krvi i sl. U antineoplastičnu terapiju standardno se ubrajaju kemoterapija, monoklonska protutijela (imunoterapija), radioterapija, metoda transplantacije matičnih stanica i noviji terapijski agensi koji uključuju inhibitore signala receptora B stanica i BCL-2 inhibitore. Povijesno jedan od najčešće korištenih citostatika je alkilirajući agens klorambucil (60). Lijek se uzima oralno i generalno se dobro podnosi, ali je njegova učinkovitost relativno slaba u usporedbi s imunokemoterapijom i ciljanim lijekovima, stoga je njegova primjena danas sve rjeđa te se povremeno u kombinaciji s imunoterapijom (ili u monoterapiji) koristi kod bolesnika starije životne dobi kod kojih je nužno izbjeći toksičnije protokole (60-63). Od drugih alkilirajućih agenasa koriste se bendamustin i rjeđe ciklofosamid, također najčešće u kombinaciji s imunoterapijom, prije svega s rituksimabom (protokoli R-CHOP, R-COP i BR) (64). Analog purina fludarabin potentan je citostatik s dobrom učinkovitošću u liječenju KLL. Monoterapija fludarabinom superiornija je u usporedbi s drugim režimima liječenja koji sadrže alkilirajuće

agense (65). Uglavnom se koristi u kombinaciji s ciklofosamidom i rituksimabom (RFC) u mlađih bolesnika s KLL koji mogu podnijeti agresivno liječenje (66). Donedavno je to bio zlatni standard u liječenju mlađih bolesnika, a dolaskom ciljanih terapijskih opcija, danas se sve rjeđe koristi, te je rezerviran prije svega za bolesnike s mutiranim IGHV genom (66,67). Otkriće monoklonskih protutijela unaprijedilo je liječenje limfoproliferativnih bolesti. Njihov mehanizam djelovanja temelji se na vezanju za specifične biljege na površini B limfocita te pospješuju učinkovitost citostatika. Prvo protutijelo korišteno u liječenju bolesnika s kroničnom limfocitnom leukemijom bilo je alemtuzumab (anti CD52) čija je primjena napuštena zbog znatne toksičnosti, a danas se koriste anti CD20 protutijela rituksimab, obinutuzumab i ofatumumab (68,69). S obzirom da rituksimab djeluje citotoksično na CD20 pozitivne stanice i povećava osjetljivost tih stanica na citostatike, u liječenju KLL preporuča se kombinacija rituksimaba s kemoterapijom (69). U današnje se vrijeme bolesnici s KLL iznimno rijetko upućuju na alogeničnu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica koja je nekoć bila rezervirana za sve mlađe bolesnike s refraktornom bolešću (70). Zbog novijih ciljanih terapijskih opcija i visoke periproceduralne smrtnosti alogenične transplantacije, danas se provodi iznimno rijetko, a ostaje za vidjeti hoće li suvremene terapijske opcije kao CAR-T (engl. *chimeric antigen receptor T*) naći svoje mjesto u liječenju KLL (70,71). Sve bolje razumijevanje patogeneze KLL-a doprinijelo je razvoju ciljane terapije, terapije koja je usmjerena samo na određene molekule koje doprinose proliferaciji malignog klona, a danas se smatra terapijskim standardom u liječenju kronične limfocitne leukemije. Utvrđena je učinkovitost idelalisiba (inhibitor fosfatidilinozitol-3-kinaze), a pogotovo ibrutiniba, kinaznog inhibitora koji djeluje na Brutonovu tirozin kinazu, koji je pokazao iznimnu učinkovitost i kod bolesnika s mutacijom gena TP53 (72-75). Još jedan lijek koji pokazuje impresivnu učinkovitost je venetoklaks, antagonist antiapoptotičkog proteina BCL-2 (76). Učinkovit je i kao monoterapija i u kombinaciji s imunoterapijom (rituksimab ili obinutuzumab) neovisno o prisutnosti nepovoljnih prognostičkih čimbenicima kao što su TP53 mutacija ili prethodna refraktornost na fludarabin (77-79).

Kriteriji za procjenu terapijskog odgovora predloženi su od strane IWCLL i to na način:

- Kompletna remisija (KR): izostanak simptoma, nestanak limfadenopatije i organomegalije, broj neutrofila  $\geq 1,5 \times 10^9/L$ , limfocita  $< 4 \times 10^9/L$ , trombocita  $> 100 \times 10^9/L$ , hemoglobin  $> 110 \text{ g/L}$ , normocelularna koštana srž s  $< 30\%$  limfocita,
- Parcijalna remisija (PR): smanjenje limfadenopatije i organomegalije za  $\geq 50\%$ , broj neutrofila  $\geq 1,5 \times 10^9/L$  ili povećanje za  $\geq 50\%$  od početnih vrijednosti, limfocitoza reducirana



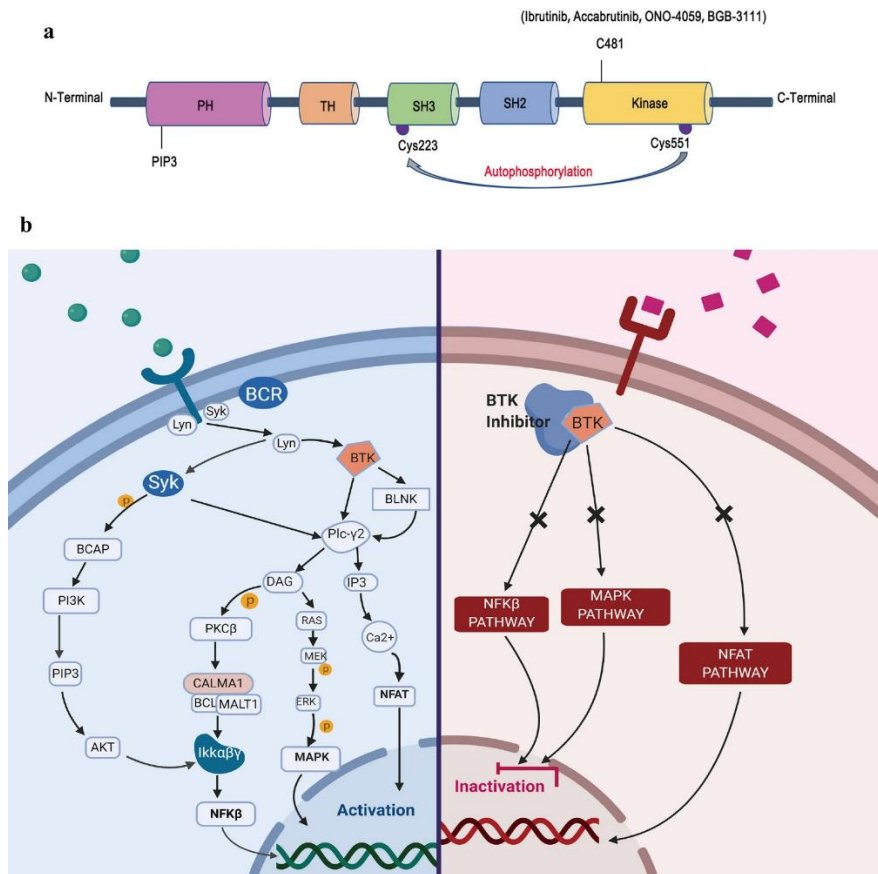
za  $\geq 50\%$  od početne vrijednosti, trombociti  $> 100 \times 10^9/L$  ili povećanje za  $\geq 50\%$  od početnih vrijednosti te hemoglobin  $> 110 \text{ g/L}$  ili povećanje za  $\geq 50\%$  od početnog

- Stabilna bolest (SB): neuspjeh u postizanju barem parcijalne remisije, ali nema znakova progresije bolesti,

- Progresivna bolest (PB): povećanje opsega bolesti u bilo kojem zahvaćenom sustavu za  $\geq 50\%$  od početnog (40).

### 1.3. Ibrutinib

Ibrutinib, prvi odobreni ireverzibilni inhibitor Brutonove tirozin kinaze (BTK), je mala molekula koja se kovalentno veže na domenu Cys-481 u blizini ATP (adenozin trifosfat) vezne domene BTK te time blokira aktivnost ovog enzima (Slika 3) (80). Brutonova kinaza, kao i mnoge druge (tirozin kinaza slezene (Syk), ZAP70, Kinaze Src obitelji (osobito Lyn) fosfatidilinozitol 3-kinaza (PI3K)), podržava signalizaciju B staničnog receptora (engl. *B cell receptor*; BCR) na KLL stanicama čime doprinosi preživljavanju leukemijskog klona (81). Blokiranje kinaza povezanih s receptorima B stanica (posebno BTK i PI3K) dovelo je do revolucije u liječenju KLL (82). Blokirajući BTK, ibrutinib inhibira BCR signalni put i utječe na interakciju između KLL stanica i njihovog mikrookoliša (81). Ovaj koncept pruža razumijevanje tipičnog kliničkog odgovora na liječenje inhibitorima BTK, u kojem dolazi do prolaznog povećanja limfoidnih stanica u perifernoj krvi upravo zbog preraspodjele i oslobađanja KLL stanica nakon ukidanja adhezijske regulacije (83).



**Slika 3. a)** Struktura Brutonove kinaze i **b)** povezani signalni putevi. Preuzeto iz: Xue C, Wang X, Zhang L, Qu Q, Zhang Q, Jiang Y. Ibrutinib in B-cell lymphoma: single fighter might be enough? *Cancer Cell Int.* 2020;20:467.

Osim u liječenju kronične limfocitne leukemije, ibrutinib je odobren od strane Američke agencije za hranu i lijekove (engl. *Food and Drug administration*; FDA) za liječenje limfoma plaštenih stanica, Waldenströmove makroglobulinemije, limfoma marginalne zone i kronične bolesti presatka protiv domaćina (GVHD) nakon alogenične transplantacije matičnih hematopoetskih stanica (84). Lijek ibrutinib u Europi je poznat pod nazivom Imbruvica i temeljem stručne ocjene Europske agencije za lijekove (engl. *European Medicines Agency*; EMA) stavljen u je promet od listopada 2014 (85). S obzirom da je lijek oralno dobro bioraspoloživ, uobičajena doza za bolesnike s kroničnom limfocitnom leukemijom iznosi 420mg dnevno (85). U Hrvatskoj je ibrutinib odobren za liječenje odraslih bolesnika s kroničnom limfocitnom leukemijom s delecijom 17p, prethodno neliječenih bolesnika dobrog općeg stanja, visokog rizika (prisustvo nemutiranog gena za teški lanac imunoglobulina ili delecije 11q) ili kod kojih nije prikladno liječenje temeljeno na punoj dozi fludarabina te kod prethodno liječenih bolesnika koji su refraktorni ili u ranom relapsu (unutar 24 mjeseca) (86). U multicentričnim randomiziranim kliničkim studijama ibrutinib je dokazano učinkovit u

produljenju preživljenja bez progresije (PFS – engl. *progression free survival*), ukupnom preživljenju (OS – engl. *overall survival*) i ukupnim stopama odgovora (ORR – engl. *overall response rate*). U jednom od prvih kliničkih istraživanja, sigurnost ibrutiniba ispitivana je na uzorku od 85 bolesnika s relapsnim ili refraktornim KLL. Prijavljene nuspojave bile su pretežno blage prirode i uključivale su prolazni proljev, umor i infekcije gornjih dišnih puteva (87). U ovoj studiji nije zabilježena kardijalna toksičnost, a iako se radilo o malom uzorku, ovi preliminarni podaci bili su ohrabrujući uz ukupnu stopu odgovora od 71% i stopu PFS-a nakon 26 mjeseci od 75% (87). Odobrenje ibrutiniba temelji se na rezultatima dvije velike multicentrične randomizirane studije faze 3 u kojima je dokazana superiornost ibrutiniba u odnosu na ofatumumab u relapsno refraktornoj KLL (studija RESONATE) te u odnosu na klorambucil u prethodno neliječenih bolesnika s KLL (studija RESONATE-2) (88,89). Dokazana je statistički značajna superiornost ibrutiniba u usporedbi s kontrolnom skupinom, kako u produljenju PFS i OS, tako i u ukupnim stopama odgovora. U RESONATE-2 studiji, ukupna stopa preživljenja nakon 24 mjeseca iznosila je čak 98%, a preživljenja bez progresije oko 90%, uz ukupnu stopu odgovora od 85%, a iznimna korist dokazana je i u visokorizičnih bolesnika (mutacija TP53, delecija 11q i/ili nemutirani IGHV) (89). Značajnije nuspojave u ovim istraživanjima uključivale su neutropeniju, pneumoniju, hipertenziju, anemiju i hiponatrijemiju, a zabilježene su i kardiovaskularne komplikacije u vidu pojave arterijske hipertenzije i atrijske fibrilacije (75). Lijek ibrutinib uzima se kao kronična terapija do progresije bolesti ili pojave neprihvatljive toksičnosti. Smatra se da rezistencija na ibrutinib nastaje zbog mutacija na BTK veznom mjestu što posljedično dovodi do klonalne ekspanzije KLL unatoč terapiji (90). Danas su dostupni i drugi BTK inhibitori (akalabrutinib i pirtobrutinib) kod kojih je također dokazana visoka učinkovitost u liječenju bolesnika s KLL, a zbog selektivnijeg djelovanja na B stanične receptore, smanjena je i kardiovaskularna toksičnost (91,92).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Cilj ovog rada bilo je informiranje o stvarnom iskustvu jednog kliničkog bolničkog centra u liječenju kronične limfocitne leukemije ibrutinibom.

Dva glavna cilja istraživanja su:

- Utvrditi učinkovitost ibrutiniba u liječenju KLL.
- Utvrditi sigurnosni profil ibrutiniba u liječenju KLL.

**Hipoteze:**

- Lijek ibrutinib je učinkovit lijek u liječenju kronične limfocitne leukemije.
- Sigurnosni profil ibrutiniba u liječenju KLL je prihvatljiv.

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

Ovo opservacijsko istraživanje temelji se na retrospektivnom pregledu i analizi medicinske dokumentacije bolesnika s dijagnozom kronične limfocitne leukemije kojima je započeto liječenje ibrutinibom neovisno radi li se o novodijagnosticiranoj ili relapsno-refraktornoj bolesti (prema važećoj smjernici HZZO-a za liječenje tzv. posebno skupim lijekovima), u periodu od lipnja 2015. do lipnja 2021. Cijelo istraživanje provedeno je u Zavodu za hematologiju kliničkog bolničkog centra Split. Parametri koji se odnose na učinkovitost i sigurnost ibrutiniba prikupljeni su iz arhive Dnevne bolnice Zavoda za hematologiju tijekom lipnja 2022. godine.

Istraživanje je odobreno od strane Etičkog povjerenstva Kliničkog bolničkog centra Split (klasa 500-03/22-01/123; Ur. br: 2181-147-01/06/M.S.-22-02). Istraživanje je provedeno u skladu sa Zakonom o zaštiti prava pacijenata (NN169/04, 37/08), Zakonom o provedbi Opće uredbe o zaštiti podataka (NN 42/18), te odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN55/08, 139/15) i pravilima Helsinške deklaracije WMA 1964-2013 na koje upućuje Kodeks. Osobe koje su sudjelovale u ovom istraživanju jamče za sigurnost i tajnost svih podataka. Svi prikupljeni podaci korišteni su isključivo u istraživačke svrhe, bez navođenja bilo kakvih osobnih podataka o bolesnicima.

Iz medicinske dokumentacije prikupljeni su opći podaci o bolesnicima i tijeku same bolesti, zadovoljenim kriterijima za početak terapije, laboratorijskim nalazima, citogenetskim nalazima (FISH metoda) te proširenosti bolesti. Korištenjem ovih podataka, ispitanici su svrstani u podskupine prema kliničkom stadiju bolesti i prognozi te se analizirala korelacija različitih kliničkih i prognostičkih parametara s terapijskim odgovorom i ukupnim preživljenjem bolesnika koji su liječeni ibrutinibom. Procjenjivao se najbolji ukupni odgovor na terapiju prema IWCLL kriterijima iz 2008 godine. Maksimalnim odgovorom se smatra najpovoljniji status bolesti postignut u bilo kojem trenutku tijekom redovitog uzimanja terapije. Sigurnost i podnošljivost terapije procjenjivala se prema vrsti, učestalosti i ozbiljnosti nuspojava u skladu sa Zajedničkim terminološkim kriterijima za štetne događaje (engl. *Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)*) Nacionalnog instituta za rak (engl. *National Cancer Institute*).

Glavni promatrani ishodi su ukupno preživljenje (OS) i vrijeme bez progresije bolesti (TTP, engl. *time to progression*). OS se definira kao interval od dana početka terapije do dana smrti ili do zadnje kontrole. TTP se računa od početka terapije sve do progresije bolesti. Deskriptivnom statistikom opisani su opći biografski podaci ispitanika, dok se za preživljenje i vrijeme do progresije koristila procjena Kaplan-Meierovom metodom. Krivulje preživljenja između grupa uspoređene su koristeći log-rank test. Numeričke varijable su sumirane kao

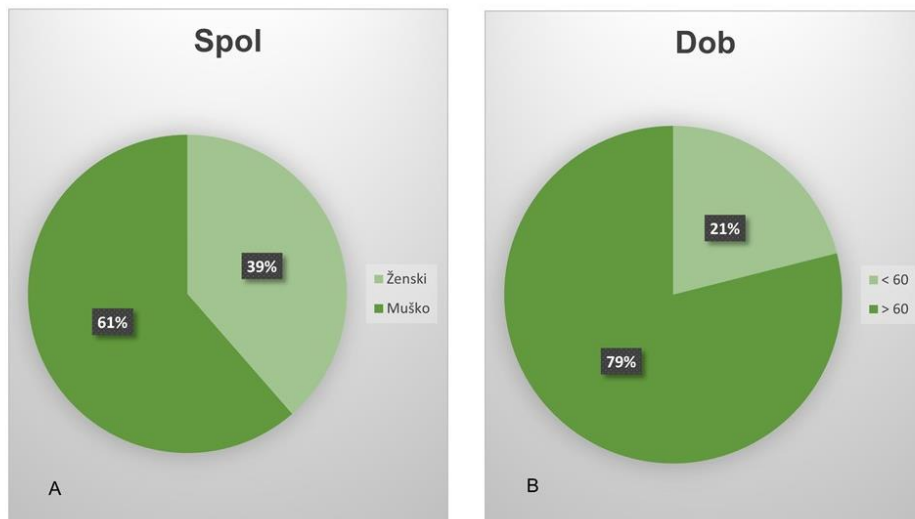
medijan i interkvartilni raspon, a kategorijske kao frekvencije i postotci.  $P$  vrijednosti  $< 0,05$  smatrane su statistički značajne. Za analize je korišten MS Excel program i posebno prilagođena radna knjiga (93).



## **4. REZULTATI**

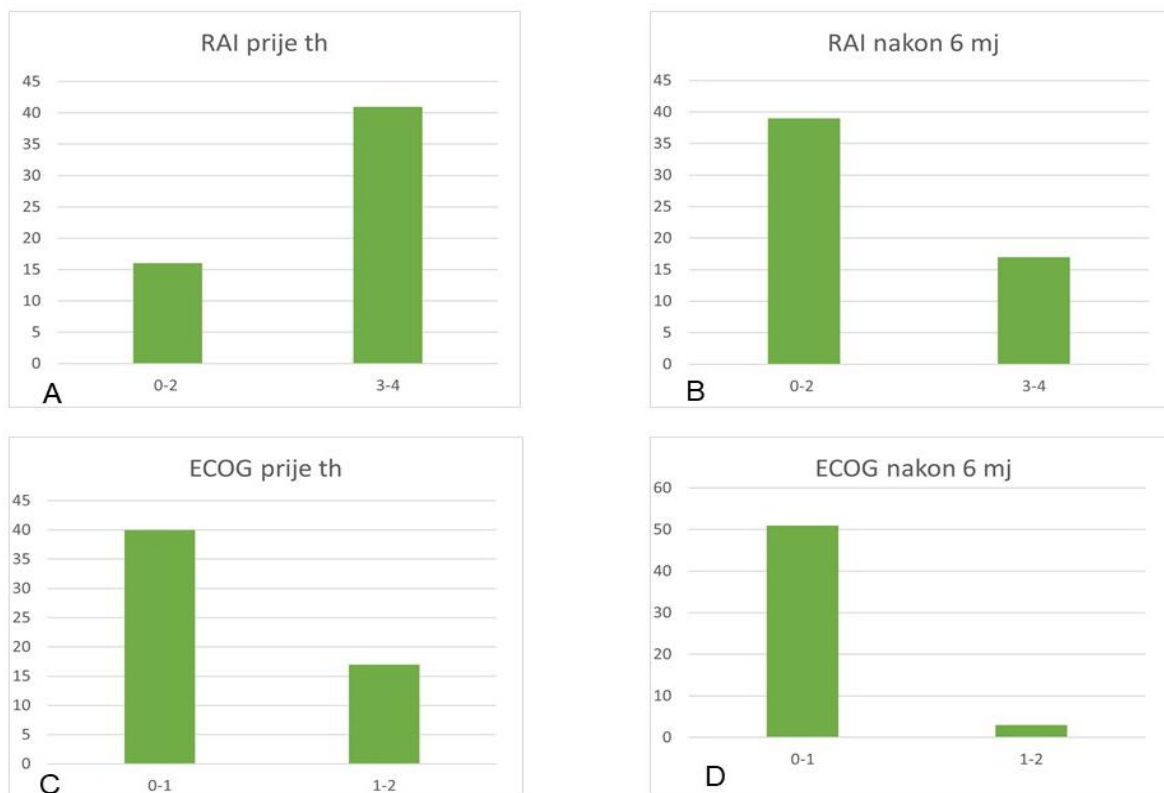
#### 4.1. Obilježja bolesnika i bolesti

Pregledom dostupne medicinske dokumentacije, u istraživanje je uključeno ukupno 57 ispitanika, od kojih su 22 (36%) osobe ženskog spola. Prosječna dob u trenutku dijagnoze bila je 66 godina (raspon od 44 do 88 godina), a 79% bolesnika bilo je starije od 60 godina. Raspodjela po spolu i dobi prikazana je na Slika 4.



**Slika 4.** Raspodjela ispitanika po spolu (A) i dobi (B).

Većina bolesnika je prije početka liječenja imala veliku tumorsku masu (51% ih je imalo  $TTM \geq 15$ , a 84%  $TTM \geq 9$ ), 72% bolesnika je prije početka liječenja bilo u stadiju 3 ili 4 prema Rai klasifikaciji i svi bolesnici su imali ECOG stadij < 3. Podjela prema Rai klasifikaciji i ECOG statusu prije i 6 mjeseci nakon početka liječenja ibrutinibom prikazana je na Slika 5. Najčešća mutacija dokazana FISH metodom bila je delecija 17p u 19 (33% bolesnika), a slijedi delecija 13q u 10 (18% bolesnika) i 11q u 5 (8% bolesnika), uz napomenu da su neki bolesnici imali kombinaciju ovih mutacija.



**Slika 5.** Raspodjela bolesnika prema Rai klasifikaciji prije (A) i 6 mjeseci nakon početka liječenja ibrutinibom (B). Raspodjela bolesnika prema ECOG stadiju prije (C) i 6 mjeseci nakon početka liječenja ibrutinibom (D).

Prosječno vrijeme od dijagnoze bolesti do započinjanja prve linije liječenja iznosilo je 31 mjesec. Nadalje, samo je 37% bolesnika zahtijevalo početak liječenja unutar 6 mjeseci od dijagnoze bolesti. Ukupno u 34 (60% bolesnika) je ibrutinib bio prva linija liječenja (Slika 6).



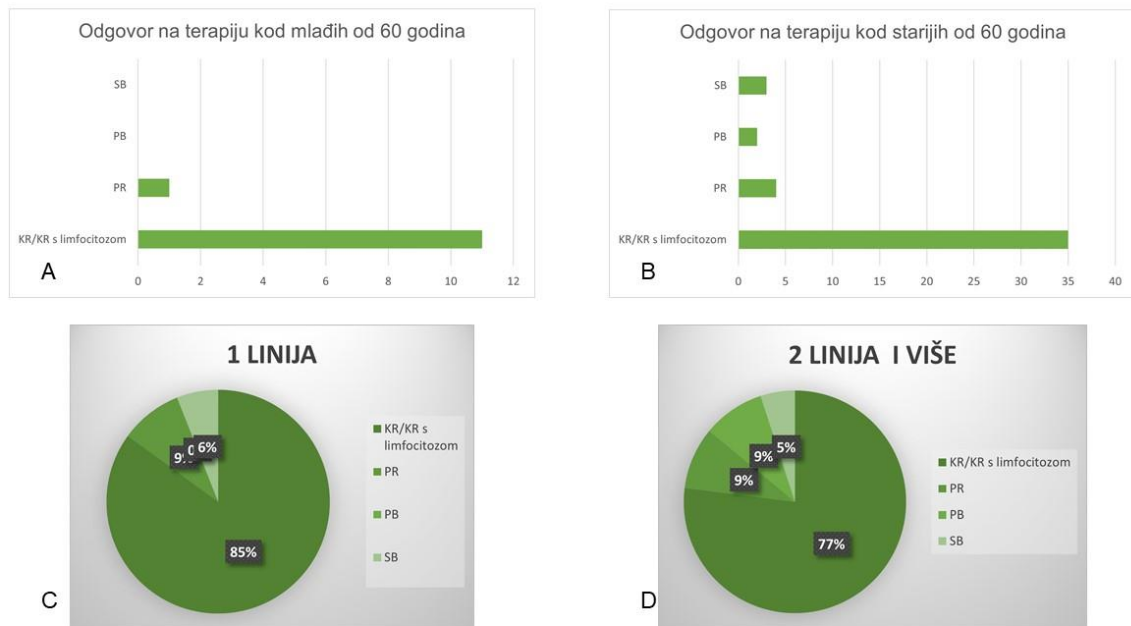
**Slika 6.** Grafički prikaz podjele ispitanika prema liniji liječenja u kojoj je uveden ibrutinib

Liječenje ibrutinibom dovelo je do kompletne remisija (KR) bolesti u 46 (82% bolesnika), parcijalne remisije (PR) u 5 (9% bolesnika), stabilne bolesti (SB) u 3 (5% bolesnika) dok su samo 2 (4% bolesnika) doživjela progresiju bolesti (33) (Slika 7). U jednog bolesnika najbolji odgovor na terapiju nije bio procijenjen zbog prekratkog uzimanja terapije.



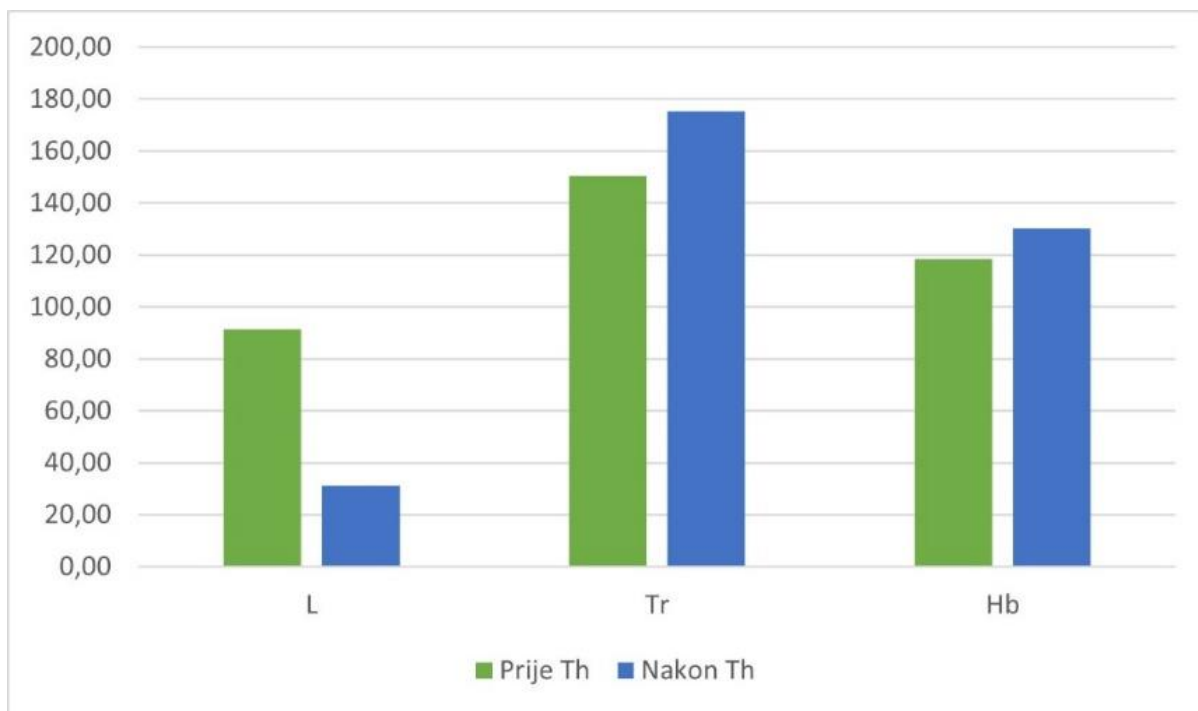
**Slika 7.** Terapijski odgovor na liječenje ibrutinibom; Stabilna bolest (SB), Progresivna bolest (PB), Parcijalna remisija (PR), Kompletna remisija (KR).

Terapijski odgovor je bio sličan neovisno o dobnoj ili spolnoj raspodjeli bolesnika. Bolesnici kojima je ibrutinib ordiniran kao prva linija liječenja imali su bolje stope odgovora (KR + PR; 85% + 9%) u odnosu na bolesnike koji su liječeni u drugoj i višim linijama liječenja (KR + PR; 77% + 9%). Nije zabilježena progresija bolesti u nijednog bolesnika koji je ibrutinib primao u prvoj liniji liječenja, a u skupini bolesnika koji su primali ibrutinib u višim linijama zabilježene su dvije progresije bolesti (9%) (Slika 8).



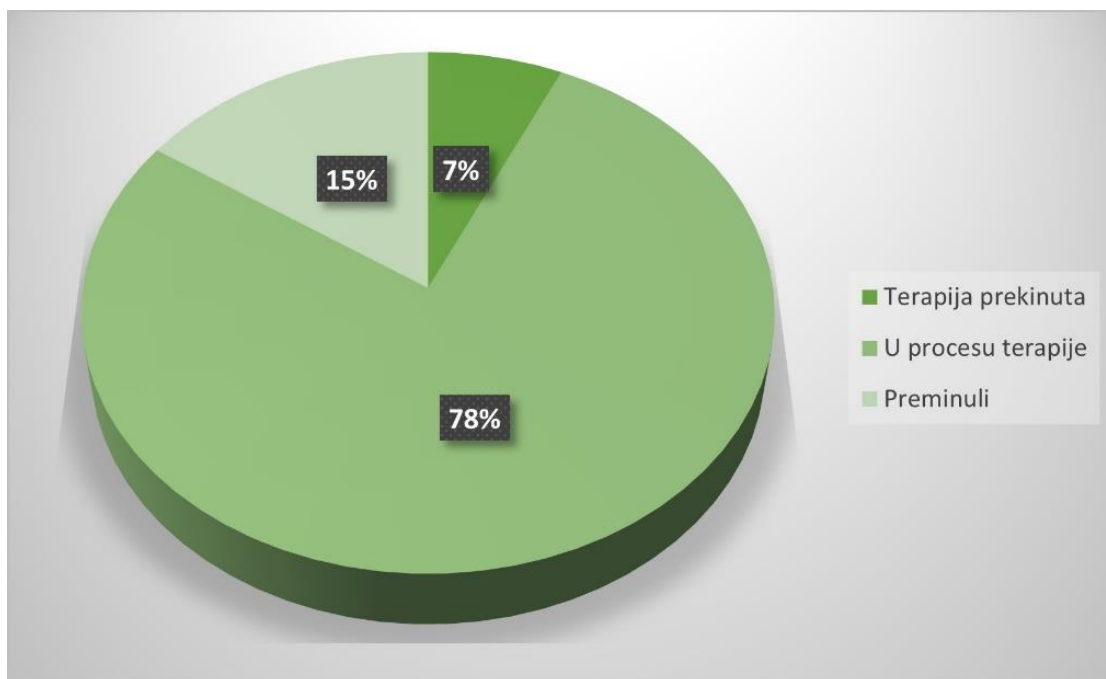
**Slika 8.** Terapijski odgovor na liječenje ibrutinibom ovisno o dobi (A i B) i liniji liječenja (C i D); Stabilna bolest (SB), Progresivna bolest (PB), Parcijalna remisija (PR), Kompletna remisija (KR).

Palpacijom perifernih limfnih čvorova prije ordinirane terapije, ustanovljena je prosječna veličina limfnog čvora od 2cm (raspon od 0 do 10 cm), dok je 6 mjeseci nakon početka liječenja prosječna veličina iznosila manje od 0,5 cm (raspon od 0 do 1,5 cm). Usporedbom laboratorijskih pokazatelja prije i 6 mjeseci nakon početka liječenja ibrutinibom, utvrđen je pad ukupnog broja leukocita, porast hemoglobina i trombocita (Slika 9).



**Slika 9.** Laboratorijski parametri prije i 6 mjeseci nakon početka liječenja ibrutinibom (L i Tr  $\times 10^9/L$ , Hb g/L); Leukociti (L), Trombociti (Tr), Hemoglobin (Hb).

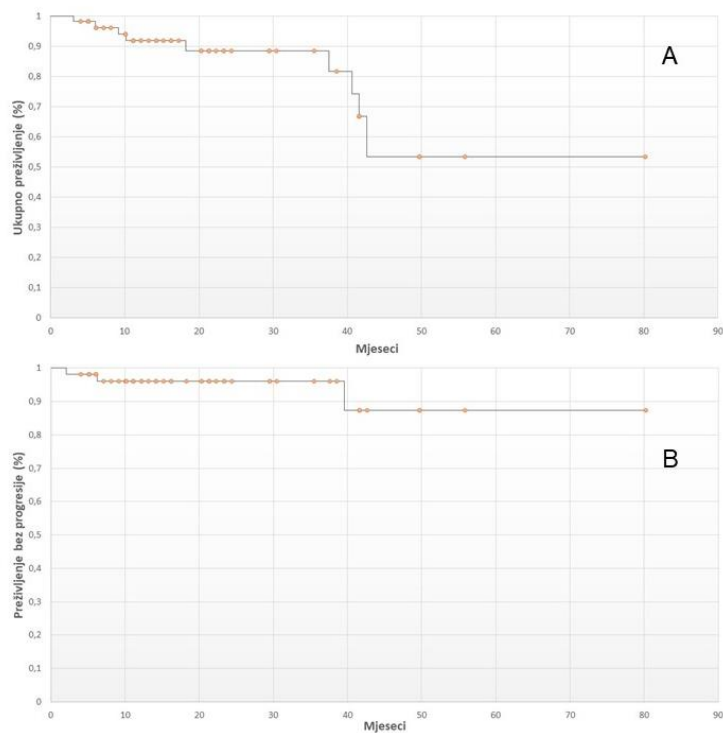
Ukupno u 45 (78% bolesnika) provodila se terapija ibrutinibom tijekom cijelog istraživanja. Terapija ibrutinibom prema odluci ordinarijusa obustavljena je samo u 4 (7% bolesnika), u jednog zbog razvoja druge maligne bolesti nehematološkog porijekla (bolesnik u KR), u jednog zbog nuspojave (perzistentna fibrilacija atrijska), a u dvoje bolesnika zbog progresije bolesti i pogoršanja općeg zdravstvenog stanja. Progresija bolesti tijekom liječenja ibrutinibom primijećena je u ukupno tri ispitanika od kojih je jedan bolesnik razvio Richter transformaciju nakon što je prethodno ibrutinibom postignuta kompletna remisija bolesti. Nova linija liječenja nakon ibrutiniba ordinirana je dvojici (3,5% bolesnika), jednome zbog nuspojave na ibrutinib, a drugome zbog slabog odgovora na terapiju. Tijekom ovog istraživanja ukupno 9 (15% bolesnika) je umrlo, a progresija KLL bila je uzrok smrti u dvoje bolesnika (Slika 10).



**Slika 10.** Udio bolesnika koji su u procesu terapije ibrutinibom, bolesnika kod kojih je terapija prekinuta te preminulih bolesnika.

#### 4.2 Analiza preživljenja

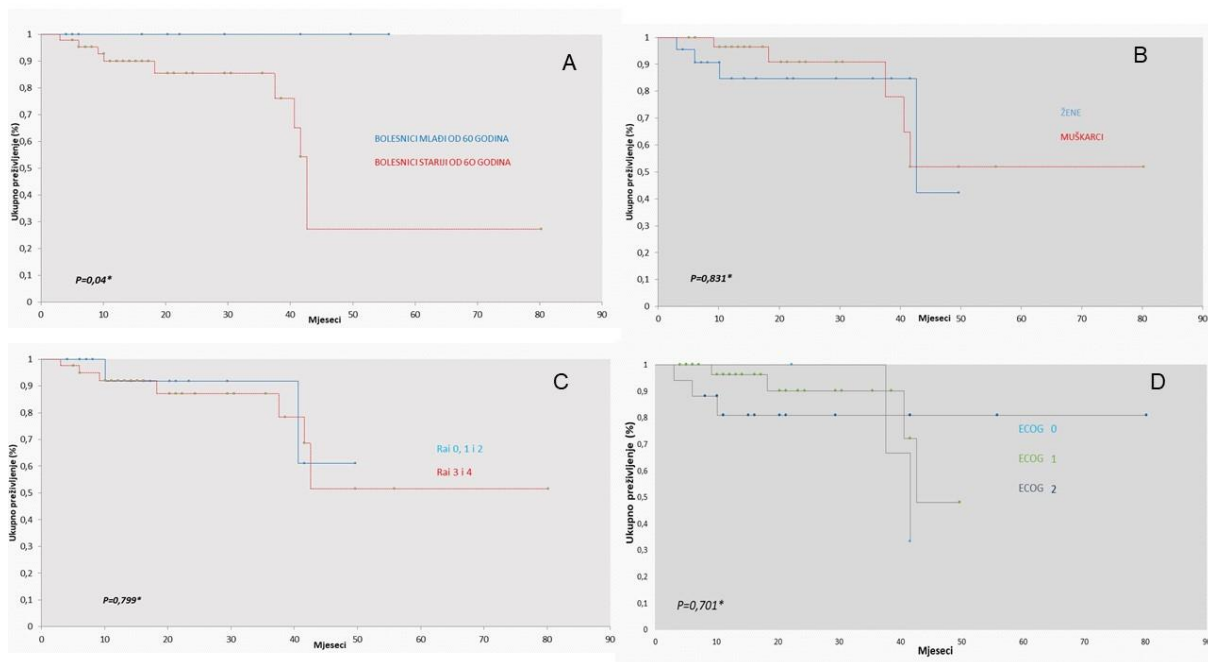
Medijan praćenja bolesnika iznosio je 16,3 mjeseca. Nakon 24 mjeseca stopa ukupnog preživljenja (OS) iznosila je 88,45%, a preživljenja bez progresija (TTP) 96,16%. Medijan OS, kao ni medijan TTP, nije dostignut (Slika 11).



**Slika 11.** A) Ukupno preživljenje (OS) i B) preživljenja bez progresije (TTP)

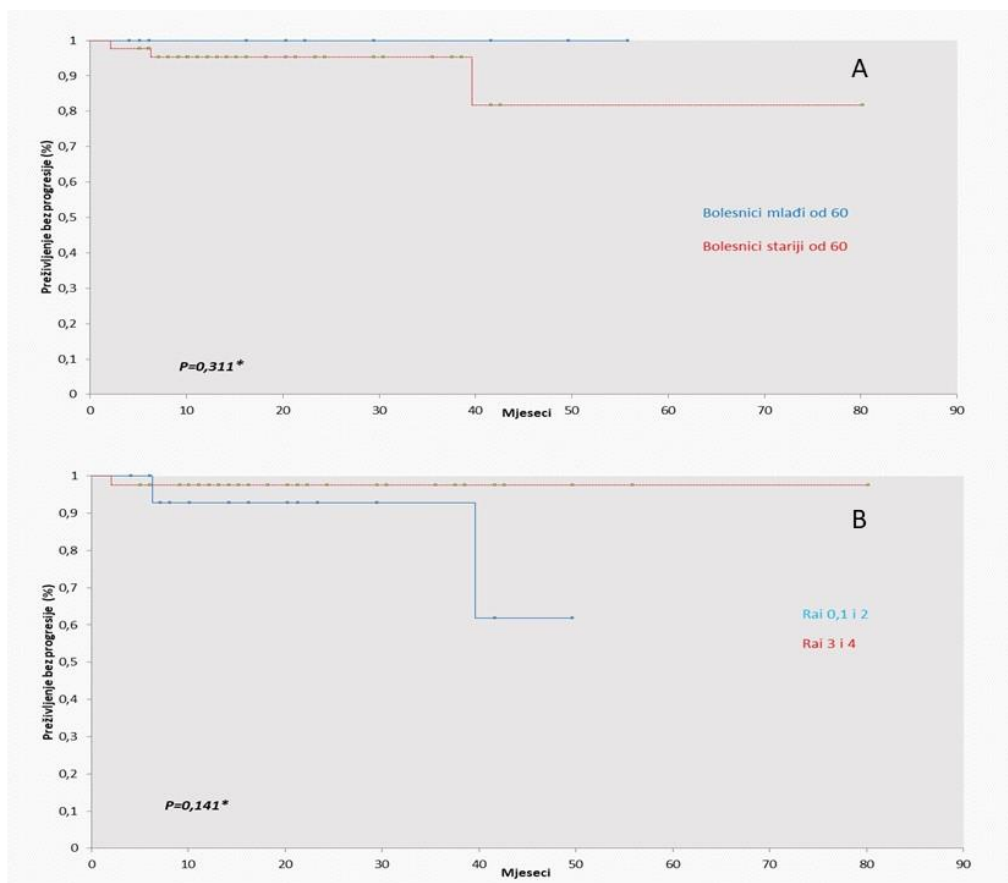
Utvrđena je statistički značajno viša stopa ukupnog preživljenja (OS) bolesnika mlađih od 60 godina u odnosu na bolesnike starije od 60 godina (100% vs. 86% nakon 24 mjeseca,  $P = 0,04$ ). Nije bilo statistički značajne razlike u stopi preživljenja nakon razdiobe bolesnika prema spolu ( $P = 0,831$ ), Rai stadiju bolesti ( $P = 0,799$ ) i ECOG statusu ( $P = 0,701$ , Slika 12).





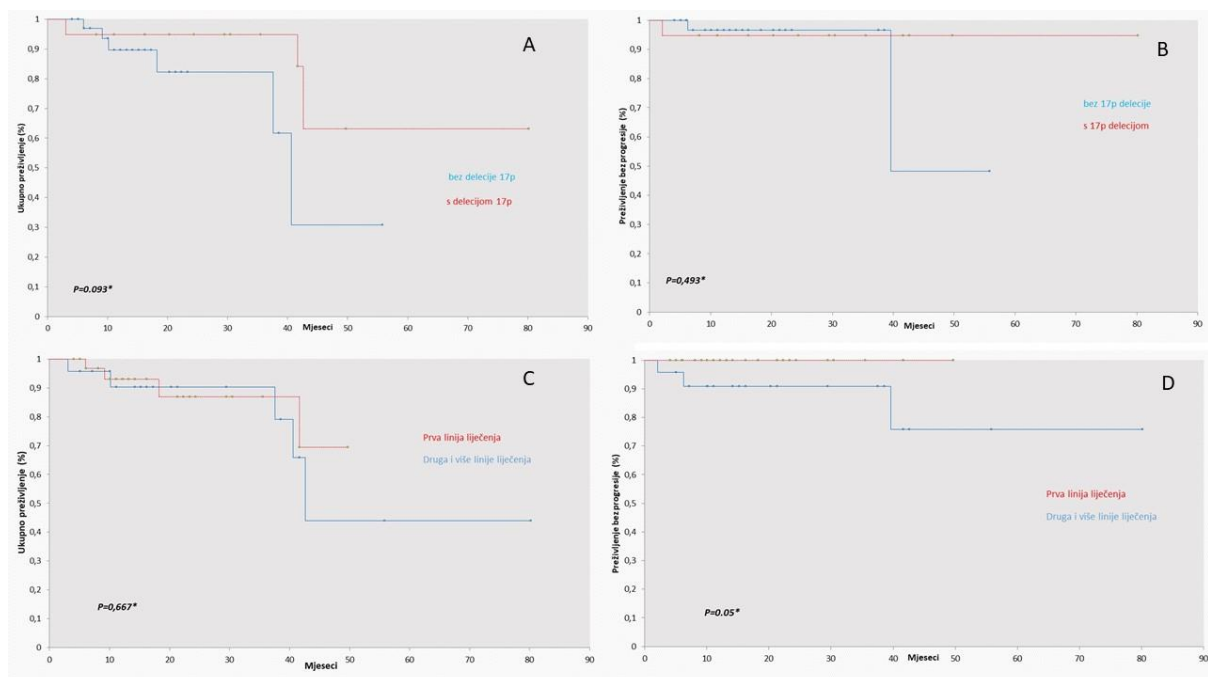
**Slika 12.** Ukupno preživljenje (OS) nakon razdiobe bolesnika prema dobi (A), spolu (B), Rai stadiju bolesti (C) i ECOG statusu (D).

Nije bilo statistički značajne razlike u stopama preživljenja bez progresije nakon razdiobe bolesnika prema dobi ( $P = 0,311$ ) i Rai stadiju bolesti ( $P = 0,141$ , Slika 13).



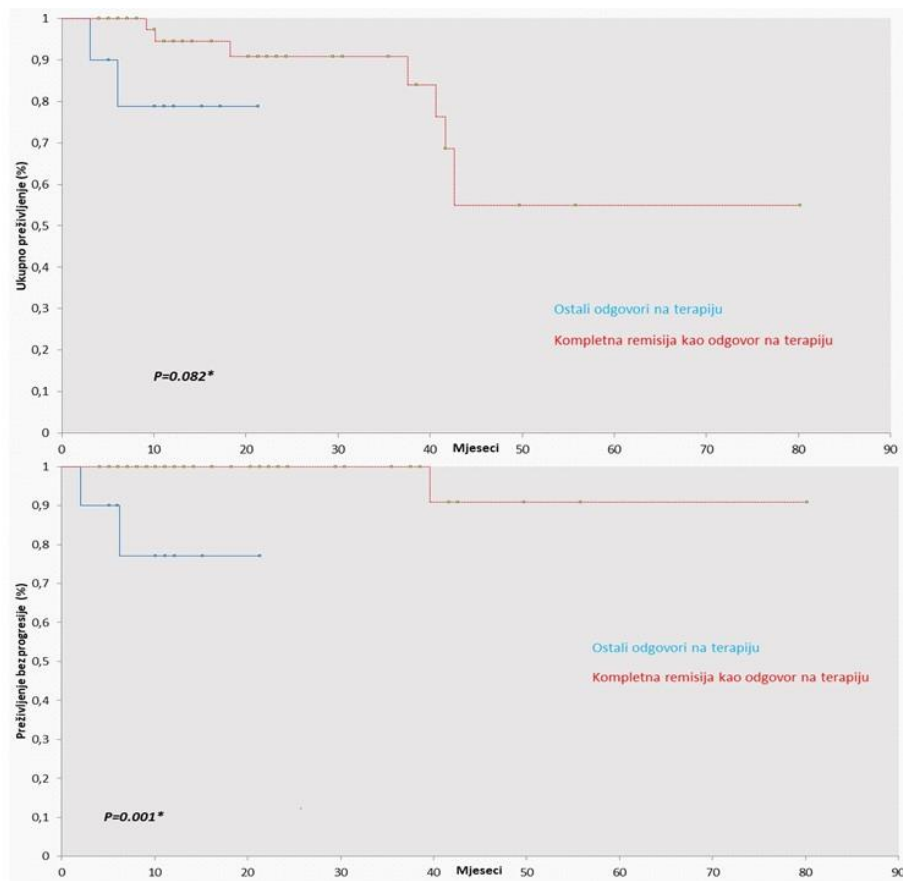
**Slika 13.** Preživljenje bez progresije (TTP) nakon razdiobe bolesnika prema dobi (A) i Rai stadiju bolesti (B)

Nije bilo statistički značajne razlike u stopama ukupnog preživljenja (OS) i preživljenja bez progresije (TTP) ovisno o prisutnosti ili odsutnosti delecije 17p ( $P = 0,093$  u prvom,  $P = 0,493$  u drugom slučaju). Nije bilo statistički značajne razlike u stopama ukupnog preživljenja (OS) između bolesnika kojima je ibrutinib ordiniran u prvoj liniji liječenja, u odnosu na bolesnike kojima je ibrutinib ordiniran u drugoj ili višim linijama liječenja (93% vs. 90% nakon 12 mjeseci,  $P = 0,667$ ). Utvrđena je statistički značajno viša stopa preživljenja bez progresije (TTP) (100% vs. 91% nakon 24 mjeseca,  $P = 0,05$ , Slika 14).



**Slika 14.** A) Ukupno preživljenje (OS) ovisno o prisutnosti delecije 17p. B) Preživljenje bez progresije (TTP) ovisno o prisutnosti delecije 17p. C) Ukupno preživljenje (OS) ovisno o liniji liječenja ibrutinibom. D) Preživljenje bez progresije (TTP) ovisno o liniji liječenja ibrutinibom.

Utvrđena je statistički značajno viša stopa preživljenja bez progresije (TTP) u bolesnika koji su postigli kompletnu remisiju bolesti tijekom liječenja ibrutinibom u odnosu na bolesnike kod kojih nije postignuta kompletna remisija bolesti (100% vs 77% nakon 24 mjeseca,  $P = 0,001$ ). Nije bilo statistički značajne razlike u stopama ukupnog preživljenja (OS) u bolesnika koji su postigli kompletnu remisiju bolesti tijekom liječenja ibrutinibom u odnosu na bolesnike u kojih nije postignuta kompletna remisija bolesti (91% vs. 79% nakon 24 mjeseca,  $P = 0,082$ , Slika 15).



**Slika 15.** Ukupno preživljenje (OS) i preživljenje bez progresije (TTP) ovisno o odgovoru na liječenje ibrutinibom.

### 4.3. Sigurnosni profil ibrutiniba

Nehematološke nuspojave zabilježene su u 14 (25% bolesnika). Najčešće su nuspojave bile fibrilacija atriya i osip u po 5 (9% bolesnika). Od ostalih, rjeđih nuspojava, zamagljenje vida zabilježeno je u 2 (4% bolesnika), a zabilježen je i po jedan slučaj hematoma, eritrociturije i pleuralnog izljeva. Prekid terapije zbog nuspojava bio je potreban u 2 (4% bolesnika), u bolesnika s pleuralnim izljevom kojemu je ponovno nakon zbrinjavanja ugrožavajućeg stanja uveden ibrutinib te u jednog bolesnika s perzistentnom fibrilacijom atriya kojemu je nakon ibrutiniba propisana druga terapija. U tri (5% bolesnika) doza ibrutiniba je privremeno reducirana uslijed netolerancije osipa i zamagljenja vida.

Ozbiljna hematološka nuspojava (trombocitopenija gradus 3 i 4 prema CTCAE) zabilježena je u 5 (9% bolesnika), od kojih je jedan imao trombocitopeniju gradusa 4. Od hematoloških nuspojava nižeg gradusa zabilježene su anemija (gradusa 1 u 9 (16% bolesnika) i gradusa 2 u 3 (5% bolesnika)) i trombocitopenija (gradusa 1 u 12 (21% bolesnika) i gradusa 2 u 3 (5% bolesnika)). Samo je u jednog bolesnika terapija prekinuta zbog izrazite

trombocitopenije. Ostale hematološke nuspojave, poput očekivane leukocitoze, su se najčešće javljale na početku primjene terapije i nisu zahtijevale intervenciju. Hematološke nuspojave prikazane su u Tablici 1.

**Tablica 1.** Prikaz hematoloških nuspojava

| <b>Toksičnost</b> | <b>Bilo kojeg G,<br/>n (%)</b> | <b>GRADUS <math>\geq 3</math>,<br/>n (%)</b> |
|-------------------|--------------------------------|--|
| ANEMIJA           | 12 (21)                        | 0  |
| TROMBOCITOPENIJA  | 20 (35)                        | 5 (9)  |

## **5. RASPRAVA**

Ovo retrospektivno istraživanje bolesnika s dijagnozom kronične limfocitne leukemije/limfoma malih stanica, imalo je za zadatak prikazati rezultate liječenja ibrutinibom iz stvarne kliničke prakse na temelju iskustva Zavoda za hematologiju Kliničkog bolničkog centra Split. Budući da je KLL najčešća leukemija starije životne dobi, klinički podaci temeljeni na iskustvu centraliziranih zdravstvenih ustanova, dobar su pokazatelj stanja vezanog uz učinkovitost liječenja ove bolesti na znatnom uzorku bolesnika (19). KBC Split, kao centralizirana ustanova kojoj gravitira velik dio populacije Republike Hrvatske, svakako je dobar izbor za ovakvu analizu istraživanja (17,18). Demografski podaci naše skupine s medijanom dobi od 70 godina i nešto većom učestalošću kod muškaraca, usporedivi su s podacima iz velikih studija na bolesnicima s ovom dijagnozom (19, 94-97). Dodatna vrijednost ove retrospektivne analize je činjenica da su analizirani svi bolesnici koji su liječeni ibrutinibom, neovisno o liniji liječenja u kojoj je ibrutinib ordiniran.

Učestalost mutacija u „real life“ studijama nerijetko se znatno razlikuje od učestalosti dokazane u općoj populaciji bolesnika s KLL (30,31). Naime, u ovom istraživanju najčešća utvrđena mutacija bila je delecija 17p u 33% bolesnika, a slična situacija zamjećuje se i u nekim drugim kliničkim studijama (95-97). U RESONATE-1 multicentričnoj studiji del17p bila je zastupljena u 32% ispitanika dok je u RESONATE-2 studiji ista bila isključni kriterij (88,89). Činjenica je da se ova mutacija češće susreće u kasnijim fazama bolesti (31), a u našoj kohorti u prosjeku je prošlo 4 godine od dijagnoze do početka liječenja ibrutinibom. Još jedan mogući razlog koji objašnjava relativno visoku učestalost 17p mutacije u našoj populaciji ispitanika je taj što je prisutnost navedene mutacije i jedan od kriterija prema indikacijskoj smjernici HZZO-a za započinjanje liječenja ibrutinibom, a tomu je sigurno pridonijela i sve veća modernizacija i dostupnost citogenetskih metoda. Zastupljenost mutacije 11q u našoj kohorti usporediva je s općom populacijom bolesnika s KLL (30).

Jedan od problema u analizi karakteristika ispitanika u ovakvim „real life“ studijama je taj što su često temeljene na relativno malom uzorku ispitanika, primjerice u našoj kohorti bilo je 57 bolesnika dok velika multicentrična randomizirana klinička ispitivanja kao što je RESONATE broje po nekoliko stotina ispitanika (88). Ni analize sigurnosnog profila nekada nisu lako usporedive budući da je u nekim kliničkim ispitivanjima medijan dobi bolesnika s KLL i do 10 godina veći nego u našoj kohorti (98). Isto tako većinu našeg uzorka mahom čine ispitanici nepovoljnije prognoze (Rai 3-4 u 72%) dok je samo 44% ispitanika u RESONATE-2 studiji bilo u stadiju Rai 3 ili 4 (89). Velika klinička istraživanja često imaju puno strože

uključne kriterije pa i to treba uzeti u obzir pri uspoređivanju bolesnika iz svakodnevnog života sa bolesnicima u velikim kliničkim studijama.

Ukupna stopa odgovora na terapiju u našoj kohorti iznosila je 91%, a kompletna remisija (KR) postignuta je u 82% ispitanika. Unatoč određenim razlikama u uniformnosti ispitanika, za ukupni odgovor u našoj kohorti možemo reći da je jako dobar, pogotovo u prvoj liniji liječenja, i usporediv je s ostalim kliničkim ispitivanjima s ibrutinibom (89,95).

Nakon medijana praćenja od 16,3 mjeseca, ukupna stopa preživljenja (OS) iznosila je 92%, a preživljenja bez progresije (TTP) 96%. I ovi rezultati su jako dobri i usporedivi s drugim kliničkim studijama, čak i onima s relativno kratkim medijanom praćenja kao što je to slučaj u našem istraživanju (94,96,97,99). Bitno je istaknuti da ni u našem istraživanju također nije dosegnut medijan ukupnog preživljenja. Zanimljivi rezultati dobiveni su analizom korelacije različitih parametara s ukupnim preživljenjem i preživljenjem bez progresije. Utvrđene su statistički značajno više stope ukupnog preživljenja u bolesnika mlađih od 60 godina, a za neke druge korelacije statistička značajnost nije dokazana, najvjerojatnije zbog relativno malog uzorka i malog broja praćenih ishoda. Zanimljiv je i podatak da naši bolesnici s delecijom 17p imaju tendenciju boljeg OS i TTP od bolesnicima bez del 17p (iako ne statistički značajno). Vjerojatni razlog ovakvih rezultata je taj što je ovakva „real life“ kohorta ipak ciljano klinički probrana (izbor podobnih bolesnika za liječenje ibrutinibom prema smjernicama HZZO i relativno visoka učestalost delecije 17p u našoj kohorti), a ibrutinib je sam po sebi jako potentan agens i u liječenju bolesnika s delecijom 17p, za što je naposljetku i registriran od strane regulatornih agencija (84-86,100). U našoj kohorti bolesnika, uočava se veliki benefit u bolesnika koji su postigli kompletnu remisiju tijekom liječenja ibrutinibom i u onih kojima je ibrutinib ordiniran kao prva linija liječenja. Stope OS i TTP u tih bolesnika bile su znatno više nego u onih koji nisu postigli kompletnu remisiju i onih kojima je ibrutinib ordiniran u višim linijama liječenja. Ovaj podatak usporediv je s generalno lošijim rezultatima preživljenja u studijama s isključivo ispitanicima s relapsno-refraktornom KLL, koji su prethodno primali kombinacije različitih kemoterapeutika uglavnom agresivnije prirode te im je prolaskom vremena leukemija zadobila ozbiljniji karakter uz očekivano pogoršanje općeg stanja (94,96,97).

Prema našem iskustvu, ibrutinib je u kliničkoj praksi dosta siguran lijek što se vidi iz rezultata vezanih uz učestalost ozbiljnijih hematoloških i nehematoloških nuspojava. Potrebno je istaknuti da zbog poteškoća u pronalaženju detaljnijih medicinskih podataka, neke nehematološke nuspojave nije bilo moguće gradirati po CTCAE sustavu. Ozbiljna toksičnost zabilježena je u oko 10% bolesnika, što čini ovu terapiju općenito dobro podnošljivom.



Uspoređujući ovaj sigurnosni profil s drugim "real-life" studijama, vidljiva je velika sličnost u učestalosti i vrsti neželjenih događaja (99,101). Općenito su hematološke nuspojave najčešće, infektivne komplikacije se ne viđaju često, a kao najčešća nehematološka nuspojava prijavljuje se fibrilacija atrija, uz napomenu da učestalost aritmija u ovakvim kliničkim studijama najčešće korelira s dobnim profilom ispitivane skupine. Prijavljene nuspojave u RESONATE-1 studiji donekle se razlikuju od naših. Najčešće nehematološke nuspojave u RESONATE-1 bile su mučnina, proljev, povraćanje i pireksija, koje nisu često bilježene u medicinskoj dokumentaciji naše kohorte i vjerojatno se radi o tehničkim nedostacima detaljnijeg dokumentiranja anamnestičkih podataka što je u kliničkim studijama strogo kontrolirano (88). Evidencijom posljednjih dostupnih podataka o našim ispitanicima ustanovljen je prekid terapije u samo 4 bolesnika, od toga samo kod dvojice zbog nuspojava. Progresija bolesti dogodila se samo u tri bolesnika što je još jedan pokazatelj iznimne učinkovitosti ibrutiniba i dobre kliničke prakse u našem bolničkom centru.

Glavni nedostaci našeg istraživanja su retrospektivni dizajn, relativno mali uzorak ispitanika i kratak period praćenja. Svakako bi bilo zanimljivo ispratiti ovu kohortu ispitanika u budućnosti te ih možda objediniti sa sličnim opservacijskim istraživanjima drugih bolničkih centara u Republici Hrvatskoj. Još jedno ograničenje ove studije je to što su svi podaci dobiveni analizom isključivo medicinske dokumentacije. Naime, budući da se radi o bolničkim anamnezama u Zavodu s velikim kliničkim opterećenjem, mogućnost izostavljanja određenih informacija je realna, pogotovo kada govorimo o blažim nuspojavama te bi direktni kontakt s bolesnicima možda dao vjerodostojnije podatke.

Zaključno, hematologija je grana interne medicine u kojoj se posljednjih godina bilježi najpropulzivniji razvoj, pogotovo kada govorimo o ciljanim terapijama. Naša tema, popularna i nakon desetljeća od prvih istraživanja učinkovitosti i sigurnosti ibrutiniba u različitim populacijama ispitanika, još uvijek ima za ponuditi nova saznanja po pitanju djelovanja i sigurnosnog profila ovog lijeka. Upravo je ovaj lijek trenutno referentno polazište konstantne usporedbe s terapeutima ciljanog djelovanja novije generacije u današnjim istraživanjima. Mnoga istraživanja i kliničke studije, od kojih je samo nekolicina nabrojena u ovom diplomskom radu, pokušavaju otkriti idealan lijek za ovu neizlječivu bolest. Iako je sasvim zadovoljavajući cilj kroničnu limfocitnu leukemiju održavati „kroničnom“ bolešću što je dulje moguće, ostaje svakako za vidjeti nosi li nam budućnost pak nešto više od samog držanja bolesti pod kontrolom te hoće li neka nova ciljana terapija napraviti i veći iskorak.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Ibrutinib se pokazao iznimno učinkovitim u liječenju naših bolesnika, neovisno radilo se o novodijagnosticiranim ili relapsno-refraktornim bolesnicima, dovodeći do visokog ukupnog odgovora na terapiju (CR + PR = 91%).
2. Sigurnosni profil ibrutiniba je zadovoljavajući s obzirom na zabilježen mali broj nuspojava visokog gradusa.
3. Rezultati ovog istraživanja potkrepljuju ciljeve istraživanja i kao takvi imaju vrijednost u svakodnevnom kliničkom radu.
4. Nužan je dulji period praćenje ishoda i nuspojava u svrhu usporedbe s drugim istraživanjima, ali i zbog predviđanja dugoročnije prognoze ovih bolesnika.
5. Bolji ukupni odgovor na ibrutinib zabilježen je u bolesnika kojima je ibrutinib ordiniran kao prva linija liječenja.
6. Bolesnici koji su postigli kompletnu remisiju nakon primjene ibrutiniba imali su dulje ukupno preživljenje i preživljenje bez progresije bolesti u odnosu na bolesnike koji nisu postigli kompletnu remisiju.
7. Starija dob bolesnika je faktor koji negativno utječe na ukupno preživljenje (OS).

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Labar B, Hauptmann E. Hematologija. 4. prerađeno izd. Zagreb: Školska knjiga, 2007.
2. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414(6859):105-11.
3. Galy A, Travis M, Cen D, Chen B. Human T, B, natural killer, and dendritic cells arise from a common bone marrow progenitor cell subset. *Immunity*. 1995;3(4):459-73.
4. Lichtman MA. The ultrastructure of the hemopoietic environment of the marrow: a review. *Exp Hematol*. 1981;9(4):391-410.
5. Crocker PR, Morris L, Gordon S. Novel cell surface adhesion receptors involved in interactions between stromal macrophages and haematopoietic cells. *J Cell Sci Suppl*. 1988;9:185-206.
6. Passegue E, Jamieson CH, Ailles LE, Weissman IL. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100 Suppl 1:11842-9.
7. Almainan AA. Proteomic Profile of Lymphoid Leukemia. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2018;28(2):133-45.
8. Landau DA, Carter SL, Stojanov P, McKenna A, Stevenson K, Lawrence MS i sur. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell*. 2013;152(4):714-26.
9. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R i sur. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127(20):2375-90.
10. Segal GH, Kjeldsberg CR. Practical lymphoma diagnosis: an approach to using the information organized in the REAL proposal. Revised European-American Lymphoid Neoplasm. *Anat Pathol*. 1998;3:147-68.
11. Pileri SA, Ascani S, Sabattini E, Fraternali-Orcioni G, Poggi S, Piccioli M i sur. The pathologist's view point. Part I--indolent lymphomas. *Haematologica*. 2000;85(12):1291-307.
12. Pileri SA, Ascani S, Sabattini E, Fraternali-Orcioni G, Poggi S, Piccioli M i sur. The pathologist's view point. Part II --aggressive lymphomas. *Haematologica*. 2000;85(12):1308-21.
13. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011;117(19):5019-32.

14. Huh YO, Pugh WC, Kantarjian HM, Stass SA, Cork A, Trujillo JM i sur. Detection of subgroups of chronic B-cell leukemias by FMC7 monoclonal antibody. *Am J Clin Pathol.* 1994;101(3):283-9.
15. Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, Spacek M, Stehlikova O, Gambell P i sur. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94(1):121-8.
16. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Dohner H i sur. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood.* 2008;111(12):5446-56.
17. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin.* 2007;57(1):43-66.
18. Novak I, Jaksic O, Kulis T, Batinjan K, Znaor A. Incidence and mortality trends of leukemia and lymphoma in Croatia, 1988-2009. *Croat Med J.* 2012;53(2):115-23.
19. Cartwright RA, Gurney KA, Moorman AV. Sex ratios and the risks of haematological malignancies. *Br J Haematol.* 2002;118(4):1071-7.
20. Haenszel W, Kurihara M. Studies of Japanese migrants. I. Mortality from cancer and other diseases among Japanese in the United States. *J Natl Cancer Inst.* 1968;40(1):43-68.
21. Goldin LR, Bjorkholm M, Kristinsson SY, Turesson I, Landgren O. Elevated risk of chronic lymphocytic leukemia and other indolent non-Hodgkin's lymphomas among relatives of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica.* 2009;94(5):647-53.
22. Goldin LR, McMaster ML, Rotunno M, Herman SE, Jones K, Zhu B i sur. Whole exome sequencing in families with CLL detects a variant in Integrin beta 2 associated with disease susceptibility. *Blood.* 2016;128(18):2261-3.
23. Cerhan JR, Slager SL. Familial predisposition and genetic risk factors for lymphoma. *Blood.* 2015;126(20):2265-73.
24. Wang SS, Slager SL, Brennan P, Holly EA, De Sanjose S, Bernstein L i sur. Family history of hematopoietic malignancies and risk of non-Hodgkin lymphoma (NHL): a pooled analysis of 10 211 cases and 11 905 controls from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph). *Blood.* 2007;109(8):3479-88.
25. Dighiero G. Biology of the neoplastic lymphocyte in B-CLL. *Baillieres Clin Haematol.* 1993;6(4):807-20.

26. Liu Z, Hazan-Halevy I, Harris DM, Li P, Ferrajoli A, Faderl S i sur. STAT-3 activates NF-kappaB in chronic lymphocytic leukemia cells. *Mol Cancer Res.* 2011;9(4):507-15.
27. Lee DSW, Rojas OL, Gommerman JL. B cell depletion therapies in autoimmune disease: advances and mechanistic insights. *Nat Rev Drug Discov.* 2021;20(3):179-99.
28. Kastan MB, Bartek J. Cell-cycle checkpoints and cancer. *Nature.* 2004;432(7015):316-23.
29. Gostissa M, Alt FW, Chiarle R. Mechanisms that promote and suppress chromosomal translocations in lymphocytes. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:319-50.
30. Puiggros A, Blanco G, Espinet B. Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia: where we are and where we go. *Biomed Res Int.* 2014;2014:435983.
31. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, Stewart C, Reiter JG, Bahlo J i sur. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature.* 2015;526(7574):525-30.
32. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, Conde L, Ordonez GR, Villamor N i sur. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature.* 2011;475(7354):101-5.
33. Rotbain EC, Frederiksen H, Hjalgrim H, Rostgaard K, Egholm GJ, Zahedi B i sur. IGHV mutational status and outcome for patients with chronic lymphocytic leukemia upon treatment: a Danish nationwide population-based study. *Haematologica.* 2020;105(6):1621-9.
34. Maddocks-Christianson K, Slager SL, Zent CS, Reinalda M, Call TG, Habermann TM i sur. Risk factors for development of a second lymphoid malignancy in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2007;139(3):398-404.
35. Rozman C, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 1995;333(16):1052-7.
36. Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ i sur. *Williams Hematology, 9e.* New York: McGraw Hill; 2015. 1530 str.
37. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol.* 2017;92(9):946-65.
38. Tsiodras S, Samonis G, Keating MJ, Kontoyiannis DP. Infection and immunity in chronic lymphocytic leukemia. *Mayo Clin Proc.* 2000;75(10):1039-54.
39. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E i sur. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol.* 2014;32(27):3059-68.

40. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Dohner H i sur. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-60.
41. Jaksic B, Pejisa V, Ostojic-Kolonic S, Kardum-Skelin I, Basic-Kinda S, Cocha B i sur. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Krohem B-Cll* 2017. *Acta Clin Croat*. 2018;57(1):190-215.
42. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46(2):219-34.
43. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J i sur. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981;48(1):198-206.
44. Jaksic B, Vitale B. Total tumour mass score (TTM): a new parameter in chronic lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol*. 1981;49(3):405-13.
45. Elphee EE. Caring for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Clin J Oncol Nurs*. 2008;12(3):417-23.
46. Sant M, Minicozzi P, Mounier M, Anderson LA, Brenner H, Holleczeck B i sur. Survival for haematological malignancies in Europe between 1997 and 2008 by region and age: results of EURO CARE-5, a population-based study. *Lancet Oncol*. 2014;15(9):931-42.
47. Kajuter H, Wellmann I, Khil L, Jockel KH, Zhang C, Fink AM i sur. Survival of patients with chronic lymphocytic leukemia before and after the introduction of chemoimmunotherapy in Germany. *Blood Cancer J*. 2021;11(10):174.
48. Chiorazzi N. Implications of new prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:76-87.
49. Yee KW, O'Brien SM. Chronic lymphocytic leukemia: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc*. 2006;81(8):1105-29.
50. Scarfo L, Ferreri AJ, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;104:169-82.
51. Lin KI, Tam CS, Keating MJ, Wierda WG, O'Brien S, Lerner S i sur. Relevance of the immunoglobulin VH somatic mutation status in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab (FCR) or related chemoimmunotherapy regimens. *Blood*. 2009;113(14):3168-71.
52. Parikh SA, Shanafelt TD. Prognostic factors and risk stratification in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. 2016;43(2):233-40.



53. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L i sur. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2000;343(26):1910-6.
54. Rossi D, Khiabani H, Spina V, Ciardullo C, Brusca A, Fama R i sur. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2014;123(14):2139-47.
55. International CLLIPIwg. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2016;17(6):779-90.
56. Dighiero G, Maloum K, Desablens B, Cazin B, Navarro M, Leblay R i sur. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 1998;338(21):1506-14.
57. Shustik C, Mick R, Silver R, Sawitsky A, Rai K, Shapiro L. Treatment of early chronic lymphocytic leukemia: intermittent chlorambucil versus observation. *Hematol Oncol.* 1988;6(1):7-12.
58. Spanish Cooperative Group P. Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia: A Preliminary Report of Spanish (Pethema) Trials. *Leuk Lymphoma.* 1991;5 Suppl 1:89-91.
59. Ghia P, Hallek M. Management of chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica.* 2014;99(6):965-72.
60. Sawitsky A, Rai KR, Glidewell O, Silver RT. Comparison of daily versus intermittent chlorambucil and prednisone therapy in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1977;50(6):1049-59.
61. Goede V, Fischer K, Engelke A, Schlag R, Lepretre S, Montero LF i sur. Obinutuzumab as frontline treatment of chronic lymphocytic leukemia: updated results of the CLL11 study. *Leukemia.* 2015;29(7):1602-4.
62. Goede V, Fischer K, Busch R, Engelke A, Eichhorst B, Wendtner CM i sur. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med.* 2014;370(12):1101-10.
63. Hillmen P, Gribben JG, Follows GA, Milligan D, Sayala HA, Moreton P i sur. Rituximab plus chlorambucil as first-line treatment for chronic lymphocytic leukemia: Final analysis of an open-label phase II study. *J Clin Oncol.* 2014;32(12):1236-41.
64. Robinson KS, Williams ME, van der Jagt RH, Cohen P, Herbst JA, Tulpule A i sur. Phase II multicenter study of bendamustine plus rituximab in patients with relapsed indolent B-cell and mantle cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol.* 2008;26(27):4473-9.

65. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L, Shepherd L i sur. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2000;343(24):1750-7.
66. Tam CS, O'Brien S, Wierda W, Kantarjian H, Wen S, Do KA i sur. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2008;112(4):975-80.
67. Thompson PA, Tam CS, O'Brien SM, Wierda WG, Stingo F, Plunkett W i sur. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab treatment achieves long-term disease-free survival in IGHV-mutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2016;127(3):303-9.
68. Wendtner CM, Ritgen M, Schweighofer CD, Fingerle-Rowson G, Campe H, Jager G i sur. Consolidation with alemtuzumab in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) in first remission--experience on safety and efficacy within a randomized multicenter phase III trial of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Leukemia.* 2004;18(6):1093-101.
69. Huhn D, von Schilling C, Wilhelm M, Ho AD, Hallek M, Kuse R i sur. Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2001;98(5):1326-31.
70. Gribben JG. How and when I do allogeneic transplant in CLL. *Blood.* 2018;132(1):31-9.
71. Lemal R, Tournilhac O. State-of-the-art for CAR T-cell therapy for chronic lymphocytic leukemia in 2019. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):202.
72. Sharman JP, Coutre SE, Furman RR, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P i sur. Final Results of a Randomized, Phase III Study of Rituximab With or Without Idelalisib Followed by Open-Label Idelalisib in Patients With Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol.* 2019;37(16):1391-402.
73. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P i sur. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2014;370(11):997-1007.
74. Munir T, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Barr PM, Reddy NM i sur. Final analysis from RESONATE: Up to six years of follow-up on ibrutinib in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma. *Am J Hematol.* 2019;94(12):1353-63.
75. Burger JA, Barr PM, Robak T, Owen C, Ghia P, Tedeschi A i sur. Long-term efficacy and safety of first-line ibrutinib treatment for patients with CLL/SLL: 5 years of follow-up from the phase 3 RESONATE-2 study. *Leukemia.* 2020;34(3):787-98.

76. Mihalyova J, Jelinek T, Growkova K, Hrdinka M, Simicek M, Hajek R. Venetoclax: A new wave in hematocology. *Exp Hematol.* 2018;61:10-25.
77. Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, Hillmen P, D'Rozario J, Assouline S i sur. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378(12):1107-20.
78. Fischer K, Al-Sawaf O, Bahlo J, Fink AM, Tandon M, Dixon M i sur. Venetoclax and Obinutuzumab in Patients with CLL and Coexisting Conditions. *N Engl J Med.* 2019;380(23):2225-36.
79. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, Coutre S, Seymour JF, Munir T i sur. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2016;17(6):768-78.
80. Xue C, Wang X, Zhang L, Qu Q, Zhang Q, Jiang Y. Ibrutinib in B-cell lymphoma: single fighter might be enough? *Cancer Cell Int.* 2020;20:467.
81. Stevenson FK, Krysov S, Davies AJ, Steele AJ, Packham G. B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2011;118(16):4313-20.
82. Wiestner A. Emerging role of kinase-targeted strategies in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012;2012:88-96.
83. Herman SE, Mustafa RZ, Jones J, Wong DH, Farooqui M, Wiestner A. Treatment with Ibrutinib Inhibits BTK- and VLA-4-Dependent Adhesion of Chronic Lymphocytic Leukemia Cells In Vivo. *Clin Cancer Res.* 2015;21(20):4642-51.
84. FDA. U.S. Food and Drug Administration [Internet]. Silver Spring: FDA; 2018 [citirano 1. lipnja 2022.]. Dostupno na [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/210563s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/210563s000lbl.pdf).
85. EMA. European Medicines Agency [Internet]. Amsterdam: EMA; 2014 [citirano 1. lipnja 2022.]. Dostupno na [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imbruvica-epar-product-information\\_hr.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/imbruvica-epar-product-information_hr.pdf)
86. HZZO. Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje [Internet]. Zagreb: HZZO; 2022 [citirano 1. lipnja 2022.]. Dostupno na <https://hzzo.hr/zdravstvena-zastita/lijekovi/objavljeneliste-lijekova>.
87. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, Flinn IW, Burger JA, Blum KA i sur. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2013;369(1):32-42.
88. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Kay NE, Reddy NM i sur. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 2014;371(3):213-23.

89. Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, Robak T, Owen C, Ghia P i sur. Ibrutinib as Initial Therapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2015;373(25):2425-37.
90. Woyach JA, Furman RR, Liu TM, Ozer HG, Zapatka M, Ruppert AS i sur. Resistance mechanisms for the Bruton's tyrosine kinase inhibitor ibrutinib. *N Engl J Med.* 2014;370(24):2286-94.
91. Byrd JC, Hillmen P, Ghia P, Kater AP, Chanan-Khan A, Furman RR i sur. Acalabrutinib Versus Ibrutinib in Previously Treated Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of the First Randomized Phase III Trial. *J Clin Oncol.* 2021;39(31):3441-52.
92. Mato AR, Shah NN, Jurczak W, Cheah CY, Pagel JM, Woyach JA i sur. Pirtobrutinib in relapsed or refractory B-cell malignancies (BRUIN): a phase 1/2 study. *Lancet.* 2021;397(10277):892-901.
93. Lucijanic M. Survival analysis in clinical practice: analyze your own data using an Excel workbook. *Croatian medical journal.* 2016;57(1):77-9.
94. Winqvist M, Asklid A, Andersson PO, Karlsson K, Karlsson C, Lauri B i sur. Real-world results of ibrutinib in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: data from 95 consecutive patients treated in a compassionate use program. A study from the Swedish Chronic Lymphocytic Leukemia Group. *Haematologica.* 2016;101(12):1573-80.
95. Ysebaert L, Aurran-Schleinitz T, Dartigeas C, Dilhuydy MS, Feugier P, Michallet AS i sur. Real-world results of ibrutinib in relapsed/refractory CLL in France: Early results on a large series of 428 patients. *Am J Hematol.* 2017;92(8):E166-E8.
96. Pula B, Iskierka-Jazdzewska E, Dlugosz-Danecka M, Szymczyk A, Hus M, Szeremet A i sur. Long-term Efficacy of Ibrutinib in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of the Polish Adult Leukemia Study Group Observational Study. *Anticancer Res.* 2020;40(7):4059-66.
97. van der Straten L, Levin MD, Visser O, Blijlevens NMA, Cornelissen JJ, Doorduijn JK i sur. The effectiveness of ibrutinib in chronic lymphocytic leukaemia: a nationwide, population-based study in the Netherlands. *Br J Haematol.* 2020;188(6):e109-e12.
98. Mato AR, Nabhan C, Thompson MC, Lamanna N, Brander DM, Hill B i sur. Toxicities and outcomes of 616 ibrutinib-treated patients in the United States: a real-world analysis. *Haematologica.* 2018;103(5):874-9.
99. Broccoli A, Argani L, Morigi A, Nanni L, Casadei B, Pellegrini C i sur. Long-Term Efficacy and Safety of Ibrutinib in the Treatment of CLL Patients: A Real Life Experience. *J Clin Med.* 2021;10(24).

100. Moreno C, Greil R, Demirkan F, Tedeschi A, Anz B, Larratt L i sur. Ibrutinib plus obinutuzumab versus chlorambucil plus obinutuzumab in first-line treatment of chronic lymphocytic leukaemia (iLLUMINATE): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(1):43-56.
101. Zhang J, Johnsen SP, Guo Y, Lip GYH. Epidemiology of Atrial Fibrillation: Geographic/Ecological Risk Factors, Age, Sex, Genetics. *Card Electrophysiol Clin.* 2021;13(1):1-23.

## **8. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Cilj ovog istraživanja bio je ispitati učinkovitost i sigurnost ibrutiniba u liječenju kronične limfocitne leukemije u stvarnoj kliničkoj praksi.

**Ispitanici i metode:** Prikupljeni su medicinski podaci 57 ispitanika koji su liječenje ibrutinibom započeli u Zavodu za hematologiju KBC Split u periodu od lipnja 2015. do lipnja 2021. Ovo opservacijsko istraživanje temelji se na retrospektivnom pregledu i analizi medicinske dokumentacije bolesnika s dijagnozom kronične limfocitne leukemije kojima je uveden ibrutinib neovisno radi li se o novodijagnosticiranoj ili relapsno-refraktornoj bolesti.

**Rezultati:** Većinu našeg uzorka čine ispitanici nepovoljnije prognoze (Rai 3-4 u 72%). Ukupni odgovor na terapiju bio je 91% (KR 82%, PR 9%). Medijan praćenja bolesnika iznosio je 16,3 mjeseca. Nakon 24 mjeseca stopa ukupnog preživljenja (OS) iznosila je 88,45%, a preživljenja bez progresija (TTP) 96,16%. Medijan OS, kao ni medijan TTP, nije dostignut. Utvrđena je statistički značajno viša stopa ukupnog preživljenja (OS) bolesnika mlađih od 60 godina u odnosu na bolesnike starije od 60 godina (100% vs. 86% nakon 24 mjeseca,  $P = 0,04$ ). Kompletna remisija (KR) kao odgovor na terapiju i liječenje ibrutinibom u prvoj liniji statistički značajno koreliraju s duljim TTP ispitanika ( $P = 0,001$  i  $P = 0,05$ ). Nuspojave su većinom bile blage prirode dok su one gradusa 3 i 4 bile rijetke (10% bolesnika).

**Zaključci:** Ibrutinib je iznimno učinkovit i siguran lijek u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Nužan je dulji period praćenje ishoda i nuspojava u svrhu usporedbe s drugim istraživanjima, ali i zbog predviđanja dugoročne prognoze ovih bolesnika.

## **9. SUMMARY**



**Diploma thesis title: Efficacy and safety of ibrutinib in the treatment of chronic lymphocytic leukemia - experience of the Department of Hematology University Hospital of Split**

**Objectives:** The aim of this research was to examine the effectiveness and safety of ibrutinib in the treatment of chronic lymphocytic leukemia in real clinical practice.

**Subjects and methods:** The medical data of 57 subjects who started treatment with ibrutinib at the Department of Hematology of KBC Split in the period from June 2015 to June 2021 were collected. This observational research is based on a retrospective review and analysis of hospital data of patients with a diagnosis of chronic lymphocytic leukemia who were introduced to ibrutinib, regardless of whether it is a newly diagnosed or relapsing-refractory disease.

**Results:** The majority of our sample consists of subjects with a less favorable prognosis (Rai 3-4 in 72%). The overall response to therapy was 91% (KR 82%, PR 9%). Median follow-up was 16.3 months. 24 months overall survival (OS) rate was 92% and 24 months progression-free survival (TTP) rate was 96%. The OS rate of elderly patients (>60 years) is statistically significantly lower than younger patients (86% vs. 100% after 24 months,  $P = 0.04$ ). Complete remission (CR) as a response to therapy and first line ibrutinib treatment are associated with longer TTP ( $P = 0.001$  and  $P = 0.05$ ). Side effects were mostly mild, while grade 3 and 4 toxicity were rare (10% of patients).

**Conclusions:** Ibrutinib is considered safe and effective in daily clinical practice. A longer period of monitoring of the outcomes and side effects of this research is necessary for the purpose of comparison with other studies and for predicting the long-term prognosis of these patients.