

STICHTING NEDERLANDSE WERKGROEP LEUKEMIE BIJ KINDEREN

PROTOCOL I

Onderzoek naar de waarde van rubidomycine bij de consolidatie-  
behandeling van leukemie bij kinderen

Bestuur:

Mej. M.A. Broer  
J. de Koning  
J.A. Rammeloo  
Dr. M.R.H. Stoppelman  
G.A.M. de Vaan  
Dr. P.A. Voûte  
J.A. de Vries  
Dr. F.C. de Waal  
Dr. G.E. van Zanen

Adviseurs:

Dr. L.J. Dooren  
Dr. E. Mulder  
H. Reerink  
F. Wafelbakker  
Dr. W. van Zeben

Beoordeling beemmergen:

H. Reerink  
Mej. W.L. Houtschild, analyste

Statisticus:

Drs. S.T.C.M. La Fors (IWIS-TNO)

Computer:

Mevr. E.S. Bijlsma-Franke (IWIS-TNO)

Centraal Bureau

Gevestigd in het Juliana kinder-  
ziekenhuis, dr. van Nelylaan 2,  
La-Gravenhage, tel. 070-292500  
secretariaat:  
Mevr. S. de Jonge-Middelboer, secr.  
Mevr. C.S. de Vries-de Jonge, secr.

---

Dit onderzoek is mogelijk gemaakt door de financiële steun van het  
Ministerie van Volksgezondheid en Milieuhygiëne.

## PROTOCOL I (1, 2, 3, 4)

### Onderzoek naar de waarde van rubidomycine bij de consolidatiebehandeling van leukemie bij kinderen.

#### 1. INLEIDING

De Nederlandse Werkgroep Kinderleukemie streeft met het Protocol voor de behandeling van kinderen met leukemie naar:

- a) het op landelijk niveau bereiken van optimale resultaten
- b) uniforme toepassing van chemotherapeutische behandelingsschema's
- c) een relatief gering aantal complicaties als gevolg van de behandeling
- d) een behandeling die niet uitsluitend in daartoe gespecialiseerde centra behoeft te geschieden
- e) het bereiken van een goede validiteit van de behandelde kinderen in eigen milieu.

Met de voorgestelde chemotherapeutische behandelingsschema's wordt gestreefd naar een maximale "fractional kill" van maligne cellen, zonder dat de algemene toestand van het kind daar teveel onder lijdt.

Nieuwe aspecten bij de leukemie behandeling, met name immunotherapie en beenmergtransplantatie, dragen voornamelijk een experimenteel karakter en vinden geen plaats in dit Protocol voor landelijk gebruik. Adviezen voor behandeling van bij kinderen minder frequent voorkomende vormen van leukemie zijn aan het Protocol toegevoegd.

Het Protocol van de Nederlandse Werkgroep Kinderleukemie is het resultaat van overleg tussen kinderartsen-vertegenwoordigers van elk der universitaire kinderklinieken in Nederland.

Voor de behandeling van kinderen tijdens de initiële fase van de ziekte geeft de Werkgroep de voorkeur aan toepassing van twee gecombineerde middelen(5, 6, 7), aangezien bij toediening van een combinatie van meer middelen op dat tijdstip veelal grote risico's bij de behandeling worden genomen. Algemeen wordt voor de inductiebehandeling<sup>1</sup> met twee middelen de voorkeur gegeven aan de combinatie van Vincristine en Prednison(2, 3).

Bestendiging van een aldus verkregen remissie is slechts mogelijk door een langdurige onderhoudsbehandeling<sup>2)</sup> met daarvoor geschikte middelen. Het is gebleken dat de resultaten van de onderhoudsbehandeling verbeteren door het invoegen van intermitterende korte consolidatiebehandelingen<sup>3)</sup> met behulp van inductiemiddelen, die hetzij te toxisch zijn voor toepassing als onderhoudsmiddel (Vincristine, Rubidomycine) dan wel andere ernstige bijwerkingen geven bij langdurig gebruik (Prednison). Aan de hand van ervaringen in- en buiten Nederland stelt het Protocol een onderhoudsbehandeling met Methotrexaat in hoge dosering voor, één maal per veertien dagen. De resultaten hiervan zijn goed-, en het aantal bijwerkingen gering gebleken (9, 6). Dit laatste geldt eveneens voor de gekozen consolidatiebehandeling met inductiemiddelen (Vincristine-Prednison (10, 6) dan wel Vincristine-Rubidomycine-Prednison (11, 12, 13), telkens na 8 weken onderhoudsbehandeling, bij een patient in remissie.

- 1) Het doel van inductiebehandeling is het bereiken van een remissie. In geval van een complete remissie is het aantal leukemische cellen zodanig verminderd, dat er geen klinische en hematologische symptomen van leukemie meer zijn.
- 2) Het doel van onderhoudstherapie is om het aantal leukemische cellen op dit lage niveau te houden.
- 3) Het doel van consolidatiebehandeling is een verdere vermindering van het aantal leukemische cellen door regelmatig terugkerende consolidatiekuren.

## 2. DOEL VAN HET ONDERZOEK

- 2.1. Het eerste doel van het onderzoek is om na te gaan of intermitterende consolidatiekuren met VCR, PRN en RUB effectiever zijn voor het onderhouden van de eerste remissie bij acute lymfatische leukemie bij kinderen, dan intermitterende consolidatiekuren met VCR en PRN.
- 2.2. Het tweede doel van het onderzoek is na te gaan welke de invloed van ieder van de bovengenoemde wijzen van behandeling tijdens de eerste remissie heeft op de reïnductiebehandeling met VCR en PRN bij de eerste rechute.
- 2.3. Het derde doel van het onderzoek is het nagaan van de frequentie van ongewenste bijwerkingen in de twee groepen patienten die werden genoemd in 2.1.
- 2.4. Het vierde doel van het onderzoek is na te gaan of die gegevens van de patienten kunnen worden geselecteerd, die van prognostische betekenis blijken te zijn.
- 2.5. Het vijfde doel van het onderzoek is het nagaan van de correlatie tussen de duur van de eerste remissie en de overlevingsduur.

## 3. CRITERIA VOOR DE SELECTIE VAN PATIENTEN

- 3.1. Criteria op het tijdstip van de diagnose.
  - 3.1.1. Leeftijd. Alleen patienten, die ouder zijn dan 1 jaar, en *patienten* die nog niet de leeftijd van 15 jaar bereikt hebben bij het begin van de behandeling, komen in aanmerking om in het onderzoek te worden opgenomen.
  - 3.1.2. Voorafgaande behandeling. Alleen patienten die geen voorafgaande behandeling met anti-leukemische geneesmiddelen hebben gehad, met uitzondering van kinderen die gedurende niet meer dan 10 dagen met steroïden zijn behandeld, komen in aanmerking voor het onderzoek.

- 3.1.3. Cytologische diagnose. Alleen die patienten komen in aanmerking voor het onderzoek bij wie de diagnose acute lymfoblasten leukemie vaststaat (zie Appendix 1; zie ook 3.1.7.) op grond van het beenmergonderzoek (meer dan 25% leukemische cellen op 200 getelde kernhoudende beenmergcellen, zie 4.4.2. en 4.4.6.).
- 3.1.4. Lymfosarcoom. Patienten met leukemie, die in het beloop van hun ziekte het beeld van lymfosarcoom tonen kunnen in het onderzoek worden opgenomen. Patienten met lymfosarcoom of reticulosarcoom alléén zijn uitgesloten van het onderzoek. Indien deze patienten in het beloop van hun ziekte leukemie ontwikkelen kunnen zij in het onderzoek worden betrokken, mits zij daarvoor geen radiotherapie of anti-leukemische geneesmiddelen hebben ontvangen uitgesonderd steroïden gedurende niet meer dan 10 dagen.
- 3.1.5. Sociale omstandigheden. Patienten waarvan de ouders of verzorgers niet in staat of bereid zijn om hen regelmatig poliklinische of klinische behandeling en onderzoek te doen ondergaan moeten worden uitgesloten van het onderzoek.
- 3.1.6. Register van uitgesloten patienten. Iedere deelnemende kinderarts houdt een register bij met de naam, leeftijd, geslacht en andere ter zake doende gegevens (zie 4.0.) van iedere leukemie patient die van het onderzoek is uitgesloten, met vermelding van de reden. Patienten die niet werden geaccepteerd omdat de diagnose leukemie niet vaststond moeten ook in dit register worden opgenomen. Indien een patient is uitgesloten van het onderzoek zal de deelnemende kinderarts binnen 1 week per brief of telefoon contact opnemen met het Centrale Bureau met vermelding van de naam, leeftijd en geboortedatum van de patient en de reden voor uitsluiting. Het Centrale Bureau zal de ontvangst van dit bericht per brief bevestigen.
- 3.1.7. Patienten met een andere dan lymfoblastaire leukemie vallen niet in dit onderzoek, maar kunnen behandeld worden volgens de behandelingschema's in Appendix 7(18.3.).

### 3.2. Criteria voor complete remissie na remissie-inductie behandeling.

Tussen 4 en 6 weken na het begin van de remissie-inductie behandeling met VCR en PRN en voor het begin van de MTX behandeling moet de patient in complete remissie zijn, welke wordt gekenmerkt door:

- 3.2.1. niet meer dan 5% leukemische cellen per 200 getelde kernhoudende beenmergcellen, in beenmerg dat tekenen van normale haemopoiese vertoont (zie Appendix 1)
- 3.2.2. afwezigheid van leukemische infiltratie van organen (milt, lymfklieren of andere organen), met uitzondering van leukemie van het centrale zenuwstelsel en vergroting van de testes.
- 3.2.3. minder dan 3% blasten in het perifere bloed
- 3.2.4. indien de patienten niet binnen 6 weken na het begin van de inductietherapie aan deze criteria voldoen worden zij uitgesloten van het verdere onderzoek. Het is echter voor statistische doeleinden gewenst dat dergelijke gevallen toch worden gemeld aan het Centrale Bureau, onafhankelijk van het feit of zij na inductietherapie een complete remissie bereiken of niet.

### 4. GEGEVENS DIE GEREgistREERD WORDEN VOOR DE BEHANDELING (in te vullen op de daartoe bestemde A-formulieren).

4.1. Persoonlijke gegevens. Naam, geboortedatum, sexe, adres, rangorde in gezin, naam, voorletters en beroep van de vader, datum opname in ziekenhuis.

#### 4.2. Voorgeschiedenis.

4.2.1. Familie-anamnese ten aanzien van leukemie, lymfesarcoom, hematologische ziektes, autoimmuun ziektes, mongolisme, chromosomale stoornissen, of immuunglobuline deficienties. Leeftijd van de moeder bij de geboorte. Aantal miskramen van de moeder. Congenitale afwijkingen van de broers en zusters.

4.2.2. Voorgeschiedenis ten aanzien van röntgenbestraling (doorlichting, radiotherapie; wanneer?) voor of na de geboorte (14, 15). Voorgeschiedenis betreffende infectieziekten.

4.3. Lichamelijk onderzoek.

Langte(16), gewicht, lichaamsoppervlak, bloeddruk, vergroting van milt, lever, nieren, lymfklieren en eventuele leukemische infiltraten, oogfundi, bloedingen, infecties. Neurologisch onderzoek, in het bijzonder de hersenzenuwen, de peesreflexen en de buikhuidreflexen.

4.3.1. Tekenen van infectie(zie formulier A).

4.4. Laboratoriumonderzoek.

4.4.1. Hemoglobine, hematocriet, aantal erythrocyten, aantal reticulocyten, aantal leucocyten en differentiatie, aantal bloedplaatjes(17) , bezinkingsnelheid der erythrocyten, bloedgroep(zie Appendix 4).

4.4.2. Beenmerg.

4.4.2.1. Zie voor de techniek van beenmergpunctie Appendix 2.

4.4.2.2. Zie voor het kleuren van beenmergpreparaten Appendix 1.

4.4.3. Röntgenfoto van de thorax, de schedel, de knieën en de linker hand en pols(skeletleeftijd; 19, 16).

4.4.4. Bloed ureum, serum kreatinine, leverfunctie tests(serum bilirubine, SGOT, SGPT, serum LDH, totaal serum eiwit, serum eiwit elektroforese, serum alkalische fosfatase), serum calcium, bloed urinezuur, serum immuunglobulinen(zie Appendix 4). (Onderstreept: verplicht; niet onderstreept: niet verplicht).

4.4.5. E.C.G.

4.4.6. Twee ongekleurde uitstrijkpreparaten van het perifere bloed, vijf ongekleurde beenmergpreparaten en 2 ml serum moeten zo spoedig mogelijk per expresse naar het Centrale Bureau worden gezonden.

4.4.7. De ingevulde formulieren moeten eveneens naar het Centrale Bureau worden gezonden.

5. VERVOLG-ONDERZOEKINGEN (in te vullen op de daartoe bestemde formulieren).

5.1. Tussentijdse anamnese, met bijzondere aandacht voor infecties.

5.2. Lichamelijk onderzoek:

Gewicht, bloeddruk,  
vergroting van milt, lever,  
nieren, lymfklieren en  
leukemische infiltraten,  
bloedingen of infectie.

Iedere twee weken.

Neurologisch onderzoek, in  
het bijzonder de hersen-  
zenuwen, de peesreflexen,  
de buikhuidreflexen, de  
motoriek en het lopen.

Lengte, lichaamsoppervlak,  
oogfundi.

Iedere zes weken bij het begin van  
iedere consolidatiekuur.

5.3. Perifeer bloed: (zie Appendix 4)

Hemoglobine, hematocriet,  
aantal erythrocyten, aantal  
reticulocyten, aantal leuco-  
cyten en differentiatie,  
aantal bloedplaatjes(17) of  
schatting daarvan(18), be-  
zinkingssnelheid der erythro-  
cyten.

Tenminste iedere twee weken,  
maar twee keer per week indien  
de patient in de kliniek is  
opgenomen.

Let op eventuele megalo-  
blastaire veranderingen.

5.4. Beenmerg:

Zie voor de techniek van  
beenmergpunctie Appendix 2.  
Zie voor het kleuren van  
beenmergpreparaten Appendix 1.  
Let op eventuele megalo-  
blastaire veranderingen.

Vier tot zes weken na het begin  
van de remissie-inductie behandeling,  
daarna iedere drie maanden en indien  
men vermoedt dat het einde van de  
remissie is bereikt(zie 9.2.).

5.5. Röntgenonderzoek:

Röntgenfoto van de thorax,  
de knieën, de schedel en de  
linker hand en pols(skelet-  
leeftijd; 19, 16).

Iedere zes maanden en op speciale  
indicatie.

5.6. Biochemie(zie Appendix 4):

Bloed ureum, serum kreatinine,  
leverfunctie tests(serum  
bilirubine, SGOT, SGPT, serum  
LDH, totaal serum eiwit,  
electroforese, serum alkalische  
fosfatase), serum calcium,  
bloed urinezuur. (Onderstreept:  
verplicht; niet onderstreept:  
niet verplicht).

Bij het begin van iedere consoli-  
datiekuur.

Immuunglobulinen.

Indien mogelijk iedere drie maanden.

5.7. E.C.G.

Bij het begin en het einde van  
iedere consolidatiekuur.

5.8. Liquor cerebrospinalis(zie  
Appendix 4):

Aantal cellen en type cellen,  
dit laatste zo mogelijk na  
sedimentatie(20, 21), eiwit-  
gehalte.

Ten tijde van intrathecale MTX  
toediening.

5.9. Het tijdstip, de duur en de reden voor iedere ziekenhuisopname  
moet geregistreerd worden.

6. VERDELING VAN DE PATIENTEN OVER TWEE GROEPEN

6.1. De patienten zullen willekeurig over twee groepen verdeeld worden:  
groep A(geen RUB behandeling) en groep B(RUB behandeling) nadat zij  
zijn ingedeeld in twee leeftijdsgroepen: 1-9<sup>11</sup>/12 jaar en 10-14<sup>11</sup>/12  
jaar.

6.2. Het Centraal Bureau staat onder leiding van Dr. ———, directeur.  
Adres: ———. Telefoon: ———.

6.3. Om een patient in het onderzoek te laten opnemen zal de deelnemende kinderarts per brief of telefoon contact opnemen met het Centrale Bureau en daarbij de naam, leeftijd en geboortedatum van de patient en de datum van het begin van de behandeling berichten. Het Centrale Bureau zal aan de deelnemende kinderarts per brief berichten in welke groep de patient is ingedeeld.

## 7. BEHANDELINGSSCHEMA

7.1. Remissie-inductie. Alle patienten in groep A (geen RUB behandeling) en groep B (RUB behandeling) worden gedurende de eerste vijf weken van remissie-inductie behandeld met VCR en PRN.

7.1.1. Vincristine: 2,0 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak intraveneus (afroonden tot 0,1 mg per dosis) één maal per week gedurende 5 weken (= 5 doses).

7.1.2. Prednison (54): 40 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak per os (afroonden op 2,5 mg per dosis) gedurende 4 weken na het begin van de remissie-inductie therapie (= gedurende 28 dagen). Hierna wordt de dosering van Prednison geleidelijk verminderd en gestaakt binnen 1 week (dag 29 en 30: 30 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak; dag 31 en 32: 15 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak; dag 33 en 34: 7,5 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak). Zonodig kan vanaf de 35e dag de geleidelijke vermindering van de Prednison dosering met 1 week worden verlengd.

7.2. Patienten die niet binnen 6 weken in remissie komen worden uitgesloten van het onderzoek.

7.3. Onderhoud van de remissie. Alle patienten in groep A (geen RUB behandeling) en groep B (RUB behandeling) ontvangen MTX gedurende de remissie.

7.3.1. Methotrexaat: 75 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak intraveneus (afroonden op 0,1 mg per dosis) één maal in de 14 dagen (22) regelmatig onderbroken door consolidatiekuren (= MTX op dag 42, 56, 70, 98, 112, 126 etc., met een consolidatiekuur op dag 84-91 en 140-147 etc. (zie 7.4.)).

7.4. Consolidatiekuur. De patienten van groep A ontvangen VCR en PRN als consolidatiekuur. De patienten van groep B ontvangen VCR en PRN en RUB als consolidatiekuur.

7.4.1. Groep A. Vincristine 2 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak intraveneus (afroonden op 0,1 mg per dosis) één maal op de eerste dag van de consolidatiekuur. Prednison 40 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak oraal (afroonden op 2,5 mg per dosis) op de 1e, 2e, 3e, 4e en 5e dag van de consolidatiekuur; 20 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak op de 6e en 10 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak op de 7e dag. De consolidatiekuren worden één maal per 8 weken gegeven, waarbij de eerste kuur begint op de 84e dag na het begin van de remissie-inductie behandeling.

7.4.2. Groep B. Vincristine en Prednison als bij groep A (zie 7.4.1.). Tevens Rubidomycine 30 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak intraveneus (afroonden op 0,1 mg per dosis) op de 1e dag van de consolidatiekuur. Nadat een totale Rubidomycine dosis van 600 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak is toegediend wordt dit middel gestaakt. Van dit tijdstip af worden de consolidatiekuren gegeven als bij groep A (zie 7.4.1.).

7.4.3. Indien door deze behandeling de remissie 3 jaar heeft geduurd staat het al of niet voortzetten van de chemotherapie ter discussie( ).

7.5. Leukemie van het centraal zenuwstelsel (20, 21). Leukemie van het centrale zenuwstelsel, zich uitend door neurologische symptomen, en/of typische afwijkingen van de liquor zoals verhoogde druk, verhoogd celgetal boven de 10/mm<sup>3</sup>, verhoogd eiwitgehalte, vormt een indicatie voor speciale behandeling maar niet voor uitsluiting van de patient uit het onderzoek. Indien men slechts enkele verdachte cellen in de liquor aantreft, terwijl er geen symptomen van leukemie van het centraal zenuwstelsel zijn dan is dit gewoonlijk geen indicatie voor speciale behandeling.

7.5.1. Preventie. Methotrexaat 12,5 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak intrathecaal wordt twee maal toegediend gedurende de 4e week na het begin van de remissie-inductie behandeling, en één maal gedurende de 5e week. De maximale dosis is 15 mg.

7.5.2. Behandeling. In geval van neurologische symptomen, in het bijzonder hoofdpijn, braken en gedragsverandering, dient terstond de liquor onderzocht te worden. Indien deze symptomen samengaan met typische liquorafwijkingen en ook indien de patient alleen liquorafwijkingen heeft wordt twee maal per week Methotrexaat 12,5 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak intrathecaal toegediend totdat het aantal cellen in de liquor daalt beneden 10/mm<sup>3</sup>(20). Indien deze behandeling wordt gegeven tijdens de MTX behandeling(zie 7.3.) dan dient men de totale hoeveelheid MTX die intrathecaal is toegediend gedurende de 2 weken voorafgaande aan de intraveneuze toediening van MTX af te trekken van deze intraveneuze dosis. Als ondersteuning of alternatief van de intrathecale Methotrexaat toediening kan radiotherapie worden gegeven(21, 23).

7.6. Het lichaamsoppervlak dient iedere 3 maanden bepaald te worden.

7.7. In geval van problemen bij de behandeling waarin dit Protocol niet voorziet dient contact te worden opgenomen met het Centrale Bureau.

## 8. WIJZIGING VAN DE DOSERING IN GEVAL VAN TOXISCHE BIJWERKINGEN EN BEHANDELING VAN COMPLICATIES (zie Appendix 3).

### 8.1. Algemene opmerkingen.

8.1.1. Het is waarschijnlijk dat toenemende cytopenie gedurende de eerste weken van de inductiebehandeling eerder te wijten is aan de normale werking van de geneesmiddelen(het verdwijnen van maligne cellen, voordat normale celgroei terugkeert), dan aan toxiciteit van de geneesmiddelen. Indien men twijfelt aan de oorzaak van een dergelijke cytopenie moet beenmerg-onderzoek worden verricht.

8.1.2. Cytopenie die kan worden toegeschreven aan infectie vormt geen indicatie voor vermindering van de dosering.

8.1.3. In geval van vermindering van de dosering wegens duidelijke toxiciteit wordt de oorspronkelijke dosis hervat zodra geen tekenen van toxiciteit meer aanwezig zijn, tenzij elders in dit Protocol anders aangegeven.

8.1.4. Gevallen waarin de opmerkingen sub 8.1. niet voorzien, staan ter beoordeling van de deelnemende kinderarts.

## 8.2. Vincristine.

8.2.1. De eerstvolgende dosis wordt met 20% verminderd in geval van:

- a. Obstipatie en/of buikpijn die niet wordt voorkomen of tot verdwijnen wordt gebracht door laxantia (b.v. Agarol, Dulcolax supp., Duphalac) of een clyma. Het routine gebruik van laxantia, te beginnen voor de behandeling met Vincristine, wordt aanbevelen.
- b. Neuralgische pijnen en paraesthesieën. Paraesthesieën die beperkt blijven tot de handen en de voeten en die niet progressief zijn vereisen geen verandering van de dosering.
- c. Zodanige afwijkingen van de motoriek dat deze een handicap vormen voor het kind (zie Appendix 6).

8.2.2. In geval van de bovengenoemde toxische verschijnselen wordt de volgende dosis van VCR weggelaten in het geval van 8.2.1.a. indien de indicatie voor wijziging van de dosering nog steeds aanwezig is, en in het geval van 8.2.1.b. en 8.2.1.c. indien de indicatie voor wijziging van de dosering ernstiger wordt.

8.2.3. Haaruitval is in het algemeen geen indicatie voor wijziging van de dosering.

8.2.4. Encephalopathie, convulsies, tremoren, apathie, ptosis, dubbelzien of andere ernstige verschijnselen; indien deze niet geweten kunnen worden aan andere oorzaken dan toxiciteit van VCR (b.v. hyponatriëmie, leukemie van het centraal zenuwstelsel) dan worden de volgende doseringen weggelaten totdat deze toxische verschijnselen verdwenen zijn. Indien deze toxische verschijnselen ten tweede male optreden wordt VCR niet verder gebruikt.

8.2.5. Neutropenie. Zie 8.1.1. en 8.1.2. Indien de kinderarts van mening is dat een zo'n ernstige neutropenie aanwezig is, dat wijziging van de dosering noodzakelijk is, consultere hij het Centrale Bureau.

### 8.3. Methotrexaat.

8.3.1. In geval van ulceratie van het mondslijmvlies, diarree, en zo ernstige misselijkheid en braken dat de patient hier sterk onder lijdt wordt de volgende dosering met 10% verminderd.

8.3.2. Neutropenie en/of thrombocytopenie. Voor intraveneuze injectie van MTX(zie 7.3.1.) moet het aantal granulocyten en thrombocyten in het perifere bloed bepaald worden. In geval van ernstige granulocytopenie en/of thrombocytopenie die niet geweten kan worden aan andere oorzaken dan toxiciteit van MTX en die optreedt bij een patient die volgens andere criteria in remissie is, dient beenmergonderzoek overwogen te worden ter uitsluiting van rechute(zie 9.2.1. en 9.2.2.), en wordt de volgende wijziging van de dosering aangebracht:

| Granulocyten             | Thrombocyten                   | Dosering van MTX                                                                                                                                               |
|--------------------------|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| > 1500/mm <sup>3</sup>   | > 120.000/mm <sup>3</sup>      | 100%                                                                                                                                                           |
| 500-1500/mm <sup>3</sup> | 40.000-120.000/mm <sup>3</sup> | 80%                                                                                                                                                            |
| < 500/mm <sup>3</sup>    | < 40.000/mm <sup>3</sup>       | Stop MTX totdat het aantal granulocyten 1000/mm <sup>3</sup> is en het aantal thrombocyten 80.000/mm <sup>3</sup> . Geef dan 90% van de oorspronkelijke dosis. |

8.3.3. Leverbeschadiging. In geval van leverbeschadiging door MTX behandeling herkenbaar door stijging van de SGPT, SGOT en serum alkalische fosfatase spiegels dan wel aan hypoalbuminemie alsmede in ernstige gevallen van leververgroting, ascites, oedeem of icterus, dient het Centrale Bureau geconsulteerd te worden.

8.3.4. Longafwijkingen. MTX behandeling kan gecompliceerd worden door longafwijkingen. Bacteriële, virale en andere (mycoplasma; Pneumocystis carinii (24, 25) infecties dienen te worden uitgesloten. Indien geen infectie kan worden aangetoond kan Prednison behandeling worden overwogen (26).

#### 8.4. Rubidomycine.

8.4.1. De volgende dosering moet met 20% verminderd worden in geval van:

- a. Obstipatie en/of buikpijn die niet voorkomen wordt of tot verdwijnen wordt gebracht door laxantia (b.v. Agarol, Dulcolax supp., Duphalac) of een clyma.
- b. Zo ernstige misselijkheid, braken of mondulceratie dat het welbevinden van de patient hierdoor ernstig wordt benadeeld.

8.4.2. Koorts, exantheem en haaruitval kunnen veroorzaakt worden door RUB toediening, maar vormen in het algemeen geen indicatie voor vermindering van de dosering.

8.4.3. Granulocytopenie en/of thrombocytopenie. Voor intraveneuze injectie van RUB (zie 7.4.2.) moet het aantal granulocyten en thrombocyten in het perifere bloed worden bepaald. In geval van ernstige granulocytopenie en/of thrombocytopenie, optredend bij een patient die volgens andere criteria in remissie is, dient beenmergonderzoek overwogen te worden ter uitsluiting van een recidief (zie 9.2.1. en 9.2.2.), en moeten de volgende wijzigingen in de dosering worden aangebracht:

| Granulocyten             | Thrombocyten                   | RUB dosering                                                                                                                                                                   |
|--------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| > 1500/mm <sup>3</sup>   | > 120.000/mm <sup>3</sup>      | 100%                                                                                                                                                                           |
| 500-1500/mm <sup>3</sup> | 40.000-120.000/mm <sup>3</sup> | 80%                                                                                                                                                                            |
| < 500/mm <sup>3</sup>    | < 40.000/mm <sup>3</sup>       | Stop de toediening totdat het aantal granulocyten 1000/mm <sup>3</sup> bedraagt en het aantal thrombocyten 80.000/mm <sup>3</sup> . Geef dan 90% van de oorspronkelijke dosis. |

8.4.4. Cardiale complicaties. Om cardiovasculaire complicaties zoals tachycardie en acute decompensatie zoveel mogelijk te voorkomen, is de toediening van Rubidomycine strikt gecontraïndiceerd indien het E.C.G. en de polsfrequentie abnormaal zijn.

#### 8.5. Prednison.

8.5.1. Hypertensie. Gedurende PRN toediening(zie 7.1.2.) dient de bloeddruk geregeld gecontroleerd te worden. Indien de diastolische bloeddruk boven 100 mm Hg stijgt moet de PRN dosis verlaagd worden tot 30 mg/m<sup>2</sup> lichaamsoppervlak en dient een strikt zoutloos dieet te worden voorgeschreven, indien noodzakelijk gecombineerd met anti-hypertensiva.

#### 8.5.2. Pseudotumor cerebri(27, 65).

Tijdens PRN toediening kan verhoogde intracraniale druk optreden(27). Indien deze symptomen niet geweten kunnen worden aan leukemie van het centrale zenuwstelsel verdient het aanbeveling om de PRN dosis enigszins te verhogen en deze vervolgens geleidelijk te verminderen. Het kan soms noodzakelijk zijn de verhoogde intracraniale druk te ontlasten door ventrikelpunctie.

8.5.3. Maag-darm ulcera. De behandeling van deze complicatie is ter beoordeling van de behandelende kinderarts. Ter preventie kan het gebruik van preparaten als Alucol of Gelusil worden overwogen.

### 9. CRITERIA VOOR UITSLUITING VAN DE PATIENT UIT HET ONDERZOEK

9.1. De patient wordt uitgesloten van het onderzoek indien binnen 6 weken na het begin van de remissie-inductie behandeling(zie 3.2.) geen complete remissie is bereikt.

9.2. De patient wordt onttrokken aan het onderzoek na de inductie van de tweede remissie. Indien op grond van klinisch onderzoek en laboratoriumgegevens een rechute wordt vermoed, dient beenmergonderzoek verricht te worden(zie 2.2. en Appendix 2 en 7).

9.2.1. Tijdens de oomplete remissie kan een rechute zich aankondigen door:

9.2.1.1. Algemene malaise, koorts, bloedingoneiging, infectie, botpijnen, vergroting van lever, milt, lymfklieren, nieren, etc., en/of:

9.2.1.2. anemie, leucopenie, thrombocytopenie, en aanwezigheid van blasten in het perifere bloed.

9.2.2. Rechute: de oomplete remissie wordt als beëindigd beschouwd indien:

9.2.2.1. In het beenmerg het aantal leukemische cellen stijgt tot 20% of meer(28).

9.2.2.2. In het perifere bloed het aantal leukemische cellen stijgt tot 10% of meer(28).

9.2.2.3. Duidelijke verschijnselen van leukemische infiltraten optreden(met uitzondering van leukemie van het centraal zenuwstelsel en infiltratie van de testes)(29, 20).

9.2.2.4. Symptomen optreden die zonder twijfel aan leukemie kunnen werden toegeschreven. Bij dubieuze symptomen overlegge men.

9.3. De deelnemende kinderartsen dienen alle afwijkingen van de bovengenoemde richtlijnen van het Protocol zo snel mogelijk te rapporteren aan het Centrale Bureau. Deze afwijkingen kunnen b.v. ook betreffen het niet geregeld verschijnen van een patient, of het niet kunnen vasthouden aan de voorschriften van de hoofdstukken 7 en 8. De afwijkingen moeten per brief aan de Directeur van het Centrale Bureau gemeld worden en de ingevulde formulieren dienen zo spoedig mogelijk te worden ingestuurd. Dit is noodzakelijk omdat door de Becoordelingscommissie de beslissing genomen moet worden of het kind al of niet aan de studie moet worden onttrokken.

9.4. Het verhuizen van een patient naar een ander adres of een ander ziekenhuis betekent niet dat hij aan het onderzoek behoeft te worden onttrokken, indien de patient alsdan onder de behandeling van een andere deelnemende kinderarts van de Werkgroep komt. De ziektegeschiedenis van de patient dient aan deze kinderarts te worden toegesonden.

## 10. ONDERSTEUNENDE BEHANDELING

- 10.1. Koorts, infectie. Het profylactisch gebruik van antibiotica wordt niet aanbevolen. In geval van koorts dienen alle stappen te worden ondernomen om de oorzaak hiervan op te sporen en het oorzakelijke organisme te identificeren: bacteriologisch, virologisch en mycologisch onderzoek, in het bijzonder bloedkweken, alsmede serologie. Na het afnemen van kweken wordt begonnen met antibiotische therapie, die later zo veel mogelijk aan de kweekresultaten wordt aangepast (30). In geval van verdenking op sepsis wordt intraveneuze toediening van antibiotica aanbevolen (zie ook 10.3.).
- 10.2. Contact met infectieziekten. In geval van contact met infectieziekten, in het bijzonder virussiekten, worden eventuele preventieve maatregelen of aanpassing van de anti-leukemische behandeling overgelaten aan het oordeel van de behandelende kinderarts. Men kan overwegen de cytostatische therapie te onderbreken en, in het bijzonder bij waterpokken, de Prednison dosis te verlagen tot een fysiologische substitutie dosis. In geval van waterpokken en herpes zoster is behandeling met Cytosine arabinoside te overwegen (31). Cytomegalovirus-infectie kan behandeld worden met floxuridin (32, 33), en Pneumocystis carinii pneumonie met Pentamidine isothionaat (24, 25). Voor toxoplasmose infectie wordt de combinatie van sulfa, daraprim en rovamycine aanbevolen (34, 35). Bij sommige infectieziekten kan de toediening van gammaglobuline (maselen) of hyperimmun-gammaglobuline (36) nuttig zijn. Immunisaties met levende virussen en BCG zijn gecontraïndiceerd, vooral tijdens zware anti-leukemische behandeling. Op aanvraag is herpes zoster gammaglobuline verkrijgbaar bij het Centraal Bureau.
- 10.3. Anemie. Erythrocytenstroop zonder buffy coat verdient de voorkeur ter voorkoming van de vorming van leucocyten-antilichamen, maar gewoonlijk toch niet voordat de hemoglobinewaarde onder 9 gr% daalt. In geval van een hemoglobinewaarde van 6 gr% of lager is bloedtransfusie aangewezen. Het verdient aanbeveling om bloed te gebruiken van donoren van wie het serum geen antilichamen tegen cytomegalievirus bevat. Indien deze antilichamen niet bepaald kunnen worden, wordt het gebruik van bloed van jonge donoren aanbevolen.
- 10.4. Bloedingsneiging. In geval van ernstige thrombocytopenie dient transfusie van thrombocyten suspensies overwogen te worden (37). Deskundig advies is gewoonlijk in zulke gevallen vereist. Bij ernstige thrombocytopenie dienen intramusculaire en intrathecale

injecties vermeden te worden om bloedingen te voorkomen. In geval van bleedingsneiging moet ook gedacht worden aan de mogelijkheid van intravasale stolling(38).

10.5. Leucopenie. In geval van ernstige leucopenie(aantal granulocyten minder dan 200/mm<sup>3</sup>) moet streng geïsoleerde verpleging van de patient overwogen worden(39).

10.6. In het begin van de remissie-inductie therapie, vooral wanneer de bloed urinezuur spiegel boven 10 mg/100 ml stijgt, kan tubulaire obstructie door urinezuur kristallen en nierinsufficiëntie optreden. Vooral in patienten met een aantal leucoocyten in het perifere bloed van 10.000/mm<sup>3</sup> of meer, tengevolge van een groot aantal circulerende leukemische blasten, en met grote leukemische infiltraten, kan een grote hoeveelheid urinezuur vrijkomen na het begin van de behandeling. In dergelijke gevallen dient de intraveneuze toediening van een ruime hoeveelheid vloeistof gedurende enkele dagen overwogen te worden, om een voldoende doorstroming van de nier te waarborgen. Toediening van Allopurinol(39, 20) in een dosering van 8 mg/kg lichaamsgewicht is zeer belangrijk. Deze Allopurinol toediening dient tijdig te beginnen daar het maximum effect eerst na 24 tot 48 uur wordt bereikt.

## 11. PUBLICATIES EN VOORDRACHTEN

Het is aan geen van de deelnemende kinderartsen toegestaan om te publiceren of voordrachten te houden over het werk van de Werkgroep of over de resultaten van het onderzoek zonder dat hiervoor de geschreven toestemming van het Bestuur is verkregen. In geval van zulke publicaties en voordrachten dienen de schriftelijke richtlijnen van het Bestuur gevolgd te worden. Deze richtlijnen zullen in het bijzonder de wijze betreffen waarop de namen van de deelnemers dienen te worden genoemd in deze publicaties en voordrachten.

## 12. APPENDIX 1

### Cytologische diagnostiek.

- 12.1. De cytologische diagnose van het type leukemie dient te berusten op het onderzoek van tenminste 20 representatieve cellen in een beenmerguitstrijk die volgens Romanowsky (May-Grünwald-Giemsa methode) (40) is gekleurd. Bij acute lymfoblasten leukemie is de gemiddelde celgrootte in het algemeen gelijk aan of minder dan 2 maal de diameter van de erythrocyten ( $15 \mu$ ), en de gemiddelde kern-cytoplasma doorsnede verhouding 0,8 of meer, en het aantal zichtbare nucleoli gelijk aan of minder dan 1 per cel, terwijl enige mate van chromatine klontering van de kern gewoonlijk aanwezig is. Een perinucleaire halo met een opvallende kern membraan is gewoonlijk ook zichtbaar.
- 12.2. Van alle patienten dienen twee ongekleurde uitstrijken van perifeer bloed en vijf ongekleurde uitstrijken van beenmerg aan het Centrale Bureau te worden opgestuurd, samen met de ingevulde formulieren. Wanneer de cytologische diagnose onzeker is, zal in het Centrale Bureau een "Periodic Acid Schiff" kleuring (40) en beoordeling, en/of een kleuring van het kern aryl sulfatase (41) worden uitgevoerd. Indien azurofiele korrels zichtbaar zijn in het cytoplasma van de leukemische cellen zal een peroxidase kleuring (40) of een Sudan black B kleuring (40) uitgevoerd worden om myelocytair, myelomonocytaire en sommige monocytair leukemieën te diagnosticeren. Alle uitstrijken van alle patienten worden voorgelegd aan de Beoordelingscommissie.
- 12.3. Onder "adequate normale haemopoiese" wordt de aanwezigheid verstaan van erythroïde, granulocytair en thromboocyten voorlepers, met enige aanwijzing van voortgaande rijping. Niettegenstaande dat kan het beenmerg hypocellulair zijn en enige cytotoxische veranderingen tonen, maar de patient dient in de volgende weken een terugkeer naar normale waarden in het perifere bloed te tonen. Lymfocytose van het beenmerg is geen reden om complete remissie uit te sluiten (42).

### 13. APPENDIX 2

#### Techniek van beenmergpunctie:

##### 13.1. Benodigdheden:

Steriele gazen(groot en klein) en steriele doeken. Recordspuiten 5 cc, 10 cc en 20 cc, naalden nr. 12 en 2. Beenmergnaalden: voor cristapunctie(oudere kinderen) vrij lange, dikke naalden, voor tibiapunctie(zuigelingen) korte en niet te dunne naalden. Desinfectans(jodium tinctuur 2%, of chloorhexidine tinctuur). Lidocaïne 2%, pleister, elastisch windsel. Handschoenen. Tableau met filtreerpapier waarop 12 schone objectglazen, 1 uitstrijk-glaasje, 2 horlogeglazen met een mespunt EDTA-poeder, 2 lange, pasteurse pipetten met recht afgesneden uiteinde en met flesje.

##### 13.2. Techniek van cristapunctie: (sternumpunctie wordt in de regel niet verricht bij kinderen jonger dan 8 jaar).

De patient ligt op de zij. De punctie geschiedt in de spina iliaca posterior superior, een benige protuberantie aan het achter-onderuiteinde van de crista iliaca. Hier bevindt zich een dikke spongieuze mergruimte. Deze punctieplaats biedt bovendien psychologische voordelen.

Een 5 cc spuit, gevuld met 4 ml lidocaïne 2% en met een naald nr. 12(blauw) wordt loodrecht op de huid ingestoken tot de naald op het bot stuit. Hierna begint men langzaam te spuiten, hoe langzamer hoe beter en hoe minder pijnlijk voor de patient, en al spuitend trekt men de naald langzaam terug. Tenslotte wordt dus nog een kleine hoeveelheid lidocaïne 2% onder de huid van de insteekopening gespoten. Voor de anaesthesie wordt tenminste 1 minuut de tijd genomen. Hierna wordt 3 minuten gewacht. Hierna desinfecteert men opnieuw en brengt men in exact dezelfde richting als de anaesthesienaald de beenmergnaald in, tot deze op het bot stuit. Het verdient aanbeveling de insteekopening van huid en bot niet boven elkaar te laten vallen, door de huid en de naald b.v. 1 cm te verschuiven t.o.v. het bot, zulks om de kans op infectie achteraf te verminderen. Vervolgens gaat men nu voorzichtig en langzaam boren. Men doet dit zo langzaam, dat men precies voelt of de punt van de naald zich nog in de harde corticallis bevindt of zich reeds in de spongiosa bevindt.

Het laatste verraaft zich door een "knisterende" sensatie in de borende hand. Het boren gaat zuiver circulair, om de as van de naald. Vooral niet wrikken, anders ontstaat een bloeding in het merg en verkrijgt men geen goed materiaal. Als men bij het boren plotseling doorschiet en er bij het zuigen geen beenmerg komt, dan bevindt de naald zich vermoedelijk in een kraakbeenrand van de crista. Men trekt de naald dan terug, zet de punt even lateraal van de insteekopening opnieuw op het bot en boort wederom. Men geve de naald een wat schuinere stand, wat meer in caudale richting. Als men vermoedt, dat de mergholte bereikt is, trekt men de mandrijn uit de naald. Dikwijls bevindt zich enig materiaal aan de punt van de mandrijn. Vervolgens plaatst men een 10 cc spuit op de naald, terwijl met de andere hand de naald wordt vastgehouden. Men zuigt nu langzaam op. Zuig niet meer dan 0,1-0,3 ml op, anders wordt te veel bloedbijnenging verkregen en gaan de beenmergbrokjes stuk. Het opzuigen is gewoonlijk pijnlijk. Dit geeft aan dat de punt van de naald zich in de beenmergholte bevindt. De spuit, met de naald eraan, wordt nu uit het bot getrokken. De inhoud van de spuit en de naald wordt voorzichtig in het horlogeglas uitgespoten. Het beenmerg wordt onmiddellijk met de EDTA gemengd door voorzichtige, roterende bewegingen. Bij het uitspuiten dient men er op te letten dat niets verloren gaat. Het horlogeglas wordt nu schuin gehouden, zodat het bloed naar één kant vloeit. Aan de andere zijde ziet men tussen de bloedfilm kleine, wit-gele brokjes tegen het glas kleven. Deze brokjes vormen het eigenlijke beenmerg. Indien geen duidelijke brokjes worden opgemerkt dan toch preparaten maken aangezien het punctaat nog beenmerg kan bevatten.

De punctieplaats wordt met gazen en pleister afgedekt. In geval van versterkte bloedingsneiging(thrombocytopenie) is een drukkend zwachtelverband beter.

### 13.3. Techniek van tibiapunctie: (zuigelingen)

De patient ligt in rugligging. Wij puncteren  $1\frac{1}{2}$  cm distaal van de tuberositas tibiae, precies in het midden van de ter plaatse vlakke voorzijde van het scheenbeen. Het scheenbeen is aldaar in dwarsdoorsned driehoekig. De epiphysairschijf ligt iets meer

proximaal. De verdoving geschiedt met  $\pm 2$  ml lidocaïne 2%. Dunne naald, langzaam spuiten. De beenmergpunctie geschiedt met een wat kortere naald, die evenwel niet te dun mag zijn. De zogenaamde babypunctienaalden zijn te dun, waardoor de beenmerg-brokjes kapot gaan.

De punctie bij zuigelingen moet zeer voorzichtig geschieden: men boort zeer langzaam, zuiver circulair, zodat men precies voelt, wanneer men door de corticalis heen is. Vooral niet wrikkend boren, de spongiosa is zo teer, dat men het "knisteren" vaak niet voelt. Niet te veel kracht aanwenden, anders gaat men na het moment van doorboren van de voorste corticalis direct door de achterste corticalis heen en belandt men tussen de vaten en zenuwen van het onderbeen. Men wakt ook zorgvuldig voor het veroorzaken van fracturen en steune daartoe het been aan de achterzijde met de andere hand. Men plaatst nu de 20 cc spuit op de naald en zuigt langzaam op. Zodra er "bloed" komt, geeft het kind meestal weer pijn aan. Onmiddellijk wanneer "bloed" in de spuit komt houdt men op met zuigen en trekt men de naald met de spuit uit het bot. De inhoud wordt weer voorzichtig op het horlogeglas uitgespoten. De overige procedure verloopt als onder cristapunctie is beschreven.

#### 13.4. Het vervaardigen van de beenmerguitstrijken:

Hiervoor zijn verschillende methoden mogelijk:

- a. De beenmergbrokjes worden met behulp van een vaccinostyle uit het horlogeglas op een objectglas gebracht en vervolgens met behulp van een geslepen dekglasje uitgestreken.
- b. Met de pasteurse pipet loodrecht op het horlogeglas zuigt men enkele brokjes op. Zorg ervoor, de pipet niet verder dan 1 cm met beenmerg te vullen, en vooral, dat het materiaal niet in het brede stuk van de pipet komt. Daarna brengt men de pipetinhoud in het midden van een objectglas,  $\pm 2$  cm van het uiteinde, en zuigt nogmaals overtollig bloed af. Vervolgens legt men een tweede objectglas op het eerste. De bloedbijmenging vloeit door capillaire werking naar de rand en de brokjes worden geplet. Door het pletten worden de vrije beenmergcellen als het ware uitgeperst. Men houdt nu met één hand het onderste objectglas vast terwijl dit op

een vlakke onderlaag ligt, en trekt met de andere hand het bovenste objectglas in één glijdende beweging in de lengterichting van het onderste glas af. Als men het preparaat tegen het licht houdt, ziet men in het midden wittige brokjes en daarnaast een tamelijk "lege" zone met wat vetdruppeltjes en daarom heen een bloedfilm.

c. Methode-Sicoff(43).

13.5. Suggesties voor sedering en pijnstilling bij beenmergpunctie.

Een goede sedering met pijnstilling, waarbij het kind niet in slaap valt en voldoende aanspreekbaar en coöperatief blijft, wordt verkregen door intramusculaire toediening,  $\frac{1}{2}$ -1 uur vóór de ingreep van: Phenergan 0,5 mg/kg lich.gew.

+ Largaatil 0,5 mg/kg lich.gew.

+ Pethidine 1-2 mg/kg lich.gew.

In geval van thrombo cytopenie van ernstige aard(zie 10.3.) dient intramusculaire injectie te worden vermeden. Sedering dient dan per os of rectaal te geschieden.

#### 14. APPENDIX 3

##### Werking en bijwerkingen van cytostatica(48, 49), oortioesteroiden(49).

#### 14.1. Amethopterine(- Ledertrexate <sup>(R)</sup> - voorheen Methotrexaat).

Methotrexaat behoort tot de groep der anti-metaboliëten. Het neemt de plaats in van foliumzuur, maar werkt niet als zodanig. De biologisch actieve vormen van foliumzuur katalyseren enkele intermediaire processen, die uiteindelijk leiden tot de vorming van purine en pyrimidine, welke heterocyclische basen onmisbaar voor het organisme zijn. Methotrexaat verschilt van foliumzuur slechts door een amino- en een methylgroep.

##### Bijwerkingen:

Monduloera, diarree, melaena.

Verlies van eetlust, misselijkheid, braken(+ 24 uur na toediening).

Leucopenie, thrombo cytopenie, (megaloblastaire) anaemie.

Haaruitval. Leverbeschadiging. Longafwijkingen(26).

Enkele gevallen van complicaties na intralumbale toediening van methotrexaat zijn beschreven(50). Hoofdpijn en koorts zijn bij deze toediening vrij normale verschijnselen.

#### 14.2. Vincristine(- Oncovin <sup>(R)</sup> ).

Vincristine is een alkaloid, dat bereid wordt uit Vinca rosea (maagdenpalm). Het middel behoort tot de groep der mitosegiften en grijpt aan in de metafase van de kerndeling.

##### Bijwerkingen:

Obstipatie, buikkrampen.

Paraesthesieën, neuritische pijnen.

Areflexie, perifere verlammingen, hersenzenuw-verlammingen.

Mondulcera.

Encephalopathie, convulsies.

Haaruitval.

#### 14.3. Rubidomycine - Daunomycine(- Cerubidine <sup>(R)</sup> ).

De werking van rubidomycine is nog slechts ten dele bekend. Het hecht zich partieel tussen paren van basen van de DNA helix, waardoor de chromosomen structuur "stijf" wordt door voorkomen van de "coiling and folding". Hierdoor wordt de mitose geremd. Bovendien remt rubidomycine de nucleaire RNA synthese.

Bijwerkingen:

Leucopenie, thrombocytopenie, anaemie. Verhoogde kans op infecties en bloedingen (zie 10.2.; 10.3.; 10.4.).

Eetlustverlies, misselijkheid, braken, diarree.

Haaruitval.

Erytheem, Toxicodermie, Mondulcera.

Koorts.

Cardiale complicaties (tachycardie, decompensatie).

14.4. 6-Mercaptopurine (= Purinethol <sup>(R)</sup>).

6-Mercaptopurine behoort evenals methotrexaat tot de groep der antimetaboliëten. Door structurele gelijkenis met adenine neemt het de plaats van deze heterocyclische base in het adenine-monomucleotide in.

Bijwerkingen:

Leucopenie, thrombocytopenie.

Misselijkheid, braken.

Leverbeschadiging.

N.B. In geval van Allopurinol toediening dient men de dosering van Purinethol tot  $\frac{1}{2}$  te verminderen!!

14.5. Thioguanine.

Thioguanine is evenals 6-mercaptopurine een antimetaboliëet. Xanthine-oxidase speelt echter geen rol bij de afbraak van thioguanine in tegenstelling tot 6-mercaptopurine. De biologische effecten van thioguanine worden dan ook niet beïnvloed door allopurinol. Er bestaat een kruisresistentie tussen thioguanine en 6-mercaptopurine.

Bijwerkingen:

Leucopenie, thrombocytopenie.

Misselijkheid, braken, stomatitis.

Leverbeschadiging.

14.6. Cyclophosphamide(= Endoxan<sup>®</sup>).

Deze verbinding bestaat uit stikstof mosterd, gebonden aan fosphaat. Waarschijnlijk dankt het zijn werking aan activering door phosphatasen in de lever. Het bindt zich o.a. met de vrije aminogroep van de purine- en pyrimidine basen(alkylering), waardoor de stevige helixstructuur van het DNA molecuul verloren gaat. De kerndeling wordt hierdoor geremd in de profase of de metafase.

Bijwerkingen:

Leucopenie, thrombocytopenie.

Haemorrhagische cystitis(ruim drinken!).

Haaruitval.

Gastrointestinale stoornissen, exantheem.

14.7. L-Asparaginase(= Crasnitin<sup>®</sup>).

Dit enzym breekt asparagine in het extra-cellulaire weefsel af, waardoor tumorcellen, die een gebrek hebben aan asparagine synthetase, selectief geremd worden. Toepassing van asparaginase vereist een voorafgaande intracutane huidtest ter uitsluiting van overgevoeligheid: 10 Eenheden intracutaan op de volaire zijde van de onderarm. Deze test moet vooral verricht worden voor een herhalingskuur met asparaginase.

Bijwerkingen(51):

Misselijkheid, braken, hoofdpijn, koorts.

Jeuk, exantheem, asthma-achtig beeld, anafylactische shock.

Pancreatitis, leverfunctiestoornissen.

Gevaar voor hypofibrinogenemie, hypoproteïnemie en hypocholesterolemie.

14.8. Cytosine-arabinoside(= Cytosar<sup>®</sup>).

Cytosine-arabinoside remt de D.N.A. synthese doordat in deze synthetische nucleotide, t.o.v. cytidine en desoxycytidine-ribose en desoxy-ribose, vervangen is door arabinose.

Bijwerkingen(52):

Leucopenie, thrombocytopenie, anaemie.

Misselijkheid, braken, diarree, monduloera.

Leverfunctiestoornis.

14.9. Prednison.

Bijwerkingen:

Cushing syndroom.

Pseudotumor cerebri(65).

Hypertensie.

Osteoporose, maag- en darmulcera.

Gedragstoornissen(18).

## 15. APPENDIX 4

### Enkele suggesties voor laboratorium technieken.

Het zou wenselijk zijn alle laboratorium bepalingen zo veel mogelijk door middel van dezelfde methodieken te verrichten. Op deze wijze zou bereikt worden, dat de resultaten zo goed mogelijk onderling vergelijkbaar zijn.

#### 15.1. Onderzoek van perifeer bloed.

##### 15.1.1. Haemoglobine meting:

Hemiglobine-cyanide(cyaan-hemiglobine) methode.

Foto elektrische meting m.b.v. filter colorimeter of spectrofotometer.

(van Kampen, E.J. en Zijlstra, W.G.

Clin.Chim.Acta, 5 : 719, 1960 en 7 : 96, 1962).

##### 15.1.2. Haematocriet:

Mikrohaematocriet-centrifuge methode,  $\pm$  15.000 r.p.m.

gedurende 5 min. B.v. Hawksley- of Clay-Adams oentrifuge.

##### 15.1.3. Erythrocyten:

a. Verdunnen 1:100 in pipet met oplossing:

Na-citraat 6,42 g

Formol 40% 3 cc

Aqua ad 300 ml

Tellen in Bürker-Bright-line telkamer.

b. Telling door elektronische methode verdient de voorkeur.

##### 15.1.4. Reticuloocyten:

Briljant kresylblauw kleuring op objectglas. Incuberen onder dekglas in vochtige Petri-schaal.

Tellen als 0/00 van aantal erythrocyten.

(Wintrobe, Clinical Hematology, page 71.

Lea and Febiger, Philadelphia, 1967).

15.1.5. Leucocyten:

- a. Verdunnen 1:10 met 1% azijnzuur. Tellen in Bürker-Bright-line telkamer.

Indien in 25 vakken van de telkamer in totaal minder dan 25 leucocyten worden geteld dient men 100 vakken te tellen (Rinke, Chr.L., Ned.Tijdschr.v.Geneesk., 105 : 2016, 1961).

- b. Telling door een electronische methode verdient de voorkeur.

15.1.6. Differentiatie van leucocyten:

Pappenheimer - May Grünwald Giemsa kleuring van aan de lucht gedroogde bloedfilms (Gorter, E. en de Graaff, W.C., Klinische Diagnostiek, Deel I, pag. 34. Stenfert Kroese, Leiden, zevende druk).

15.1.7. Thrombocyten(31):

- a. Telling volgens Feissly. Verdunningsvloeistof:

Na N3 0,1 g

Na Cl 0,2 g

Cocaine KCl 3 g

Aqua ad 100 ml

Leucocyten pipet vullen tot 0,6 met verdunningsvloeistof, dan tot 1,0 met bloed en dan tot 11 met verdunningsvloeistof. Tellen in Bürker-Bright-line telkamer (Gorter, E. en de Graaff, W.C., Klinische Diagnostiek, Deel I, pag. 46. Stenfert Kroese, Leiden, zevende druk).

- b. Telling door een electronische methode verdient de voorkeur.

- c. Vuistregel voor schatting van het aantal thrombocyten in perifeer bloed:

Aantal thrombocyten  
per gezichtsveld

Geschat aantal bloed-  
plaatjes per mm<sup>3</sup>.

(olie immersie)

geén of één

verminderd

enkele klompjes

normaal

méér dan 25

vermeerderd.

(Simmons, A., Technical hematology.

J.B. Lippincott, Philadelphia 1968, p. 251).

15.1.8. Bezinkingsnelheid der erythrocyten:

Micromethode volgens Kowarski: 0,08 ml 3,2%.

Na-citraat oplossing + 0,2 ml bloed. Aflezen in 20 cm pipetten, na 1 uur (Gorter, E. en de Graaff, W.C.,

Klinische Diagnostiek, Deel I, pag. 13. Stenfert Kroese, Leiden, zevende druk).

15.2. Onderzoek van serumchemie.

15.2.1. Serum ureum:

Screening met urastrat-strip (Warner-Chilkott),  
indien hoog:

1. Urease-Berthelot methode met Boehringer testset.
2. of: Auto analyzer techniek.

15.2.2. Serum creatinine:

Methode volgens de Vries en van Daatselaar (Gorter, E. en de Graaff, W.C., Klinische Diagnostiek, Deel I, pag. 276, Stenfert Kroese, Leiden, zevende druk).

15.2.3. Serum bilirubine:

Methode volgens Jendrassik en Grof met oeffeine Na-benzoaat reagens (Jendrassik, L., Grof, P. Biochem. Zeitschr. 297 : 81, 1938).

15.2.4. SGPT, SGOT, ~~SLDH~~:

UV bepaling met behulp van Boehringer testsets.

15.2.5. Totaal eiwit in serum:

Biureet reactie volgens Weichselbaum (Weichselbaum, T.E. Standard Methods of Clinical Chemistry, vol. I, page 88, Academic Press, N.Y. 1953).

15.2.6. Eiwitspectrum:

Papierelectroforesis 16 uur, pH 8,8, Amidozwart kleuring.  
Scannen met Analytrol-Beckman.

15.2.7. Serum alkalische phosphatase:

Methode volgens Bessy.  
(R.I.V. Standaard voorschrift).

15.2.8. Serum calcium:

Titrimetrische bepaling met calcium titrator (Marius, Utrecht). EDTA als complex vormer en calceïne als indicator.

15.2.9. Serum urinezuur:

Urikase methode met Boehringer testset.

15.2.10. Serum immunoglobulinen:

Quantitatieve bepaling d.m.v. immunodiffusie.  
(Mancini, G., Carbonara, A.C., Heremans, J.F.  
Immunological quantitation of antigen by single radial immunodiffusion. Immunochemistry, 2 : 235, 1965).

15.3. Onderzoek van liquor cerebro spinalis. *Auswerking*

15.3.1. Liquor-eiwit:

(Meulemans, O. Determination of total protein in spinal fluid with sulphosalicylic acid and trichloro-acetic acid. Clin.Chim.Acta, 5 : 757, 1960).

15.3.2. Liquor-glucose:

1. Methode volgens Hagedorn en Jensen, modificatie Fujita.  
(Hagedorn, H.C., Jensen, B.N., Biochem.Zeitschr. 135 : 46, 1923).  
(Fujita, A., Okamoto, K., Biochem.Zeitschr. 225 : 368, 1930).
2. of: glucose-oxydase methode met Boehringer testset.

15.3.3. Cellen in liquor:

(Gorter, E. en de Graaff, W.C. Klinische Diagnostiek, Deel II, pag. 869, Stenfert Kroese, Leiden, zevende druk).

15.3.4. Liquor cytologie:

Voor concentratie van de cellen, en voor cytologisch onderzoek, zie:

Bots, G.Th.A.M., Went, L.N., Schaberg, A.

Een toestel voor cytologisch onderzoek van de liquor cerebro spinalis.

Ned.Tijdschr.v.Geneesk. 107 : 445, 1963.

(44, 45, 46, 47).

16. APPENDIX 5

Enkele richtlijnen voor obductie.

16.1. Het verdient aanbeveling om in alle gevallen van overlijden van patienten met leukemie te streven naar het doen verrichten van een obductie.

16.2. Het verdient aanbeveling om de obductie zo kort mogelijk na de dood te verrichten.

16.3. Daar in de praktijk vaak geruime tijd zal verlopen tussen het overlijden van de patient en het verrichten van de obductie, verdient het aanbeveling direct na de dood beenmergpunctie te verrichten (zie Appendix 2), alsmede lever-, milt- en eventueel lymfeklierpunctie. Ook is het raadzaam direct na de dood hartpunctie te verrichten voor het inzetten van een bloedkweek.

16.4. In geval van obductie kunnen de volgende richtlijnen gelden:

16.4.1. Routine histologisch onderzoek van:

lymfeklieren, lever, milt, beenmerg (van meerdere plaatsen, b.v. wervel en sternum), tonsillen, evt. testikels, evt. thymus, hersenen en meningen (indien schedelobductie toegestaan), ruggemerg. Daarnaast het gebruikelijke routine-histologisch onderzoek zoals van longen, nieren, etc.

16.4.2. Uitsrijk preparaten maken van beenmerg.

16.4.3. Dep - preparaten maken van lymfeklier, lever en milt.

17. APPENDIX 6

Criteria voor het schatten van het prestatie vermogen (1)

---

Klasse I

In staat tot normale activiteit;  
geen speciale zorg nodig. In staat  
de school geregeld te bezoeken; in  
staat normaal aan spel deel te  
nemen.

99% - Normaal; geen klachten, geen  
tekenen van ziekte.

80% - Vrijwel normale activiteit,  
doch met enige tekenen van  
ziekte.

---

Klasse II

Beperkte activiteit;  
niet in staat tot volledig school-  
bezoek; in staat thuis te leven;  
een zekere mate van extra zorg is  
nodig.

60% - Zorgt voor zichzelf; niet in  
staat tot volledig normale acti-  
viteit, maar kan de school ge-  
deeltelijk bezoeken.

40% - Heeft vrij veel hulp nodig en  
regelmatig extra zorg. Heeft  
weinig zin in spelen.

---

Klasse III

Sterk verminderde activiteit;  
heeft verpleging nodig; de ziekte  
kan snel voortschrijden.

20% - Bedlegerig door ziekte ver-  
schijnselen.

10% - Ernstig ziek;  
maximale zorg nodig.

0% - Stervende; snel progressief en  
fataal verloop.

## 18. APPENDIX 7

Aanbevelingen voor de behandeling van kinderen met leukemie, waarbij

1. geen complete remissie wordt bereikt met behulp van de inductiebehandeling met vincristinesulfaat en prednison gedurende 5 weken (overeenkomstig het gestelde onder 7.1. in het protocol),
2. een recidief optreedt (overeenkomstig de criteria onder 9.2.2. in het protocol),
3. een acute myeloïde leukemie, een myelo-monocytaire leukemie of een monocytenukemie wordt gediagnostiseerd.

### 18.1. Het niet bereiken van een complete remissie

Reevaluatie van de patiënt is noodzakelijk: algemene toestand, beenmerg, perifere bloed. Blijft de oorspronkelijke diagnose (ALL) gehandhaafd, dan:

#### 18.1.1. bij aan complete remissie grenzende verbetering (criteria

CR in protocol onder nummer 3.2.1. - 3.2.3. en slechts matige neurotoxische complicaties t.g.v. het reeds toegepaste vincristinesulfaat (zie protocol 8.2.4.):

- vervelg van ingestelde inductiebehandeling d.m.v. een 6e toediening van vincristinesulfaat en bij alsnog bereiken van complete remissie;
- onderhouds- en consolidatiebehandeling overeenkomstig het gestelde onder 7.3.1., 7.4.1 en 7.4.2. van het protocol.

#### 18.1.2. bij geen of onvoldoende verbetering en/of bij ernstige neurotoxische complicaties t.g.v. het reeds toegepaste vincristinesulfaat en in geval een 6e vincristine toediening niet tot complete remissie geleid heeft:

- instellen van een andere inductiebehandeling.

Voor de voorwaarden en complicaties van de onder de punten 18.1.2.1. tot 18.1.2.5. genoemde middelen zij verwezen naar het protocol onder 8 en 14.(6).

In aanmerking komen:

##### 18.1.2.1. Combinatie van methotrexaat en prednison:

|              |                                                |                              |
|--------------|------------------------------------------------|------------------------------|
| methotrexaat | 50-75 mg/m <sup>2</sup> lich.opp./1x per week, |                              |
|              |                                                | intraveneus                  |
| prednison    | 40 " "                                         | /per dag, per os             |
|              | gedurende <u>3 weken</u> ,                     | waarna hernieuwde evaluatie. |

+ 60P 50mg/m<sup>2</sup> po qd 4 day  
8) Andoxa 80 mg/m<sup>2</sup> i.v.

18-24 uur later - 33 -  
dag 3 snel i.v.  
dag 4 lang 72.

IV

18.1.2.2. Combinatie van 6-mercaptopurine en prednison(55):  
6-mercaptopurine 50 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal  
(50-90 mg/m<sup>2</sup>)

prednison 40 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal,  
gedurende 3 weken, waarna hernieuwde evaluatie.

IA

18.1.2.3. Combinatie van rubidomycine en prednison(55):  
rubidomycine 20 mg/m<sup>2</sup> lich.opp. intraveneus op  
dag 1 en 2 van elke week, of 30 mg/m<sup>2</sup> lich.opp.  
intraveneus op dag 1 van elke week  
prednison 40 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal,  
gedurende 3 weken, waarna hernieuwde evaluatie.

IA

18.1.2.4. Combinatie van cyclophosphamide en prednison(55,  
56, 57):  
cyclophosphamide 50-100 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal  
of 400 mg/m<sup>2</sup> lich.opp. 1x per week,  
intraveneus  
prednison 40 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal,  
gedurende 3 weken, waarna hernieuwde evaluatie.

I

18.1.2.5. Behandeling met L-asparaginase(55, 58):  
L-asparaginase 200 E/kg lich.gew./dag, intra-  
veneus, gedurende minimaal 2 weken en maximaal  
4 weken, waarna hernieuwde evaluatie(dosering  
opgegeven: 200-1000 E/kg lich.gew./dag.)

lang-  
zaam

18.1.3. - onderhouds- en consolidatiebehandeling wordt na elk  
van deze inductiebehandelingen aangepast aan de wijze  
waarop de remissie wordt bereikt:

onderhoudsbehandeling:

- na inductie volgens 18.1.2.1. en 18.1.2.3.:  
methotrexaat 75 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./1 maal per 2 weken,  
intraveneus gedurende perioden van 6 weken.
- na inductie volgens 18.1.2.2.:  
6-mercaptopurine 50-90 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal,  
gedurende perioden van 6 weken.

- na inductie volgens 18.1.2.4.:  
cyclophosphamide 400 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./1 maal per week,  
intraveneus, gedurende perioden van 6 weken.
- na inductie volgens 18.1.2.5.:  
bij voldoende beenmergactiviteit en goede leverfuncties:  
6-mercaptopurine of cyclophosphamide in doseringen als  
boven vermeld, geen methotrexaat(59).

#### consolidatiebehandeling:

na inductie en onderhoud volgens 18.1.2.1. t/m 4:

- combinatie rubidomycine en prednison:  
rubidomycine 20 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./intraveneus op dag 1 en 2  
of rubidomycine 30 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./intraveneus op dag 1  
van de consolidatieweek.  
prednison 40 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal gedurende deze  
week, waarna in 3 dagen dosis tot 0 wordt gereduceerd.  
Deze consolidatieweek valt in de 8e week na het begin  
van elke onderhoudsbehandeling; de eigenlijke onder-  
houdsmiddelen zijn dan gestaakt.

na inductie en onderhoud volgens 18.1.2.5.:

- eventueel herhaling van de L-asparaginase inductie be-  
handeling, b.v. na 3 maanden onderhoudsbehandeling.

### 18.2. Het optreden van een recidief (criteria protocol 9.2.2.)

#### 18.2.1. Reinductiebehandeling met de combinatie(60):

vincristinesulfaat 2 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./1x per week, intra-  
veneus, gedurende 5 weken  
prednison 40 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal, gedurende 5 weken,  
overeenkomstig het gestelde onder nr. 7.1.1. en 7.1.2.  
van het protocol.

Bij falen van deze reinductiebehandeling volg men de  
gedraglijn zoals vermeld onder 18.1.

18.2.2. Onderhouds- en consolidatiebehandeling na bereiken van hernieuwde complete remissie met combinatie vincristine-sulfaat en prednison:

onderhoudsbehandeling:

- 6-mercaptopurine 50-90 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal gedurende 4 weken

of

- methotrexaat 50-75 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./1x per week, intraveneus, gedurende 4 weken.

consolidatiebehandeling:

- combinatie vincristinesulfaat en prednison, dan wel combinatie vincristinesulfaat, prednison en rubidomycine, overeenkomstig 7.4.1. en 7.4.2. van protocol, met dien verstande, dat deze consolidatieweek valt in de 6e week na het begin van elke onderhoudsbehandeling. De toepassing van rubidomycine is gebonden aan de voorwaarden onder 7.4.2. en 8.4. van het protocol.

18.2.3. Bij optreden van 2e, 3e etc. recidief reinductiebehandeling als boven beschreven.

Onderhoudsbehandeling met een der niet toegepaste onderhoudsmiddelen.

Consolidatiebehandeling als boven beschreven.

Bij falen van reinductiebehandeling volg men gedragslijn zoals vermeld onder 18.1.

18.3. Behandeling van kinderen met een acute myeloide, myelomonocytair of monocytalen leukemie.

Gezien de problemen, die de behandeling van bovengenoemde vormen van leukemie geeft, verdient het aanbeveling deze patienten in een centrum te behandelen.

De volgende behandelingsmogelijkheden dienen vermeld:

N.B. PREDNISON IS HIERBIJ ALS REGEL NIET GETINDICEERD.

Inductie met  
6MP 80-90 mg/m<sup>2</sup>

18.3.1. Inductie en onderhoud met 6-mercaptopurine 50-90 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal.

18.3.2. Inductie met rubidomycine(61), 20 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./intraveneus op dag 1, 2 en 3, te herhalen na herstel van het beenmerg tot 2 of 3 kuren gegeven zijn.

Onderhoud met 6-mercaptopurine 50-90 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal.

18.3.3. Inductie met combinatie cytosine-arabinoside en rubidomycine(62):  
cytosine-arabinoside 1-2 mg/kg lich.gew./dag/intraveneus gedurende 5 dagen  
rubidomycine 1.5 mg/kg lich.gew./intraveneus, 1x op dag 1.  
herhaling van deze combinatie tot 2 of 3 maal met minstens 1 week rust tussentijds.

Onderhoud: 6-mercaptopurine 50-90 mg/m<sup>2</sup> lich.opp./dag, oraal.

consolidatie eventueel na 6-8 weken onderhoudsbehandeling met eenmaal cytosine-arabinoside en rubidomycine als inductie.

18.3.4. Inductie en onderhoud met combinatie van cytosine-arabinoside en thioguanine(63, 64)  
cytosine-arabinoside 80 mg/m<sup>2</sup>/dag vanaf dag 1 gedurende  
5 dagen, intraveneus  
of subcutaan.

geen medicatie op dag 6 en dag 7

thioguanine 70 mg/m<sup>2</sup>/dag vanaf dag 8 gedurende  
5 dagen, oraal.

geen medicatie op dag 13 tot dag 22.

op dag 22 begin van herhalingskuur zoals boven omschreven.

Na remissie onderhoudschema overeenkomstig inductieschema, waarbij de dosering van de middelen wordt opgevoerd tot:

cytosine-arabinoside 200 mg/m<sup>2</sup>/dag

thioguanine 100 mg/m<sup>2</sup>/dag

De behandeling bestaat uit doorlopende kuren.

18.3.5. Inductie met combinatie cytosine-arabinoside en cyclophosphamide(66):

cytosine-arabinoside 4 opeenvolgende dagen per 2 weken, 75-150 mg/m<sup>2</sup>/dag.

cyclophosphamide op dezelfde 4 opeenvolgende dagen per 2 weken, 75-150 mg/m<sup>2</sup>/dag.

Deze inductietherapie zou b.v. gebruikt kunnen worden indien men cytosine-arabinoside niet wenst te combineren met thioguanine, omdat de patient vroeger reeds 6-mercaptipurine heeft gehad waarvan bekend is dat het een kruis-resistentie met thioguanine heeft.

LITERATUUR

1. Colebatch, J.H. et al. Cyclic drug regimen for acute childhood leukaemia. Australian Cancer Society's childhood leukaemia study group. Lancet I: 313, 1968.
2. Colebatch, J.H. et al. Australian Cancer Society's childhood leukaemia study group. Protocol II, 9-11-1968.
3. Cox, K.R. -. First national clinical trial in Australia. Med.J.Australia 55: 1023, 1968. 8
4. Leading article. Acute childhood leukaemia. Med.J.Australia 55: 1059, 1968.
5. Hertl, M., Landbeck, G. -. Leukämie bei Kindern. G. Thieme Verl. Stuttgart 1969. 9
6. Karon, M., Freireich, E.J., Bodey, G.P. -. The chemotherapy of acute leukaemia: A therapeutic model for the management of childhood tumors; In: Neoplasia in childhood. Year book med.publ., Chicago 1969, p.241.
7. Pinkel, D., Hernandez, K., Borella, L., Holton, C., Aur, R., Samoy, G. and Pratt, C. -. Drug dosage and remission duration in childhood lymphocytic leukaemia. Cancer 27: 247, 1971.
8. Hardisty, R.M., McElwain, T.J., Darby, C.W. -. Vincristine and prednisone for the induction of remissions in acute childhood leukaemia. Brit.med.J. II: 663, 1969. B
9. Hertl, M., Landbeck, G. -. Leukämie bei Kindern. G.Thieme Verl. Stuttgart 1969, p.73.
10. Ibidem, page 80.
11. Dupré, J., Rojas, L., White, J.J., Unger, R.H., Beck, J.C. -. Rubidomycin. A new agent active in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. Lancet II: 27, 1966.

12. Hertl, M., Landbeck, G -. Leukämie bij Kindern. G.Thieme Verl. Stuttgart 1969, p.75.
13. Massimo, L., Fossati-Guglielmoni, A., Fortuna, E -. Daunomycin in the treatment of acute leukaemia and neoplastic diseases in childhood. *Helv.paed.Acta* 23: 315, 1968. E
14. Miller, R.W -. Decline in U.S. childhood leukaemia mortality. *Lancet* II: 1189, 1969.
15. Stewart, A., Kneale, G.W -. Changes in the cancer risk associated with obstetric radiography. *Lancet* I: 104, 1968.
16. Sunderman, C.R., Pearson, H.A -. Growth effects of long-term anti-leukemic therapy. *J.Pediatrics* 75: 1058, 1969.
17. Mulder, E., Kuipers, J -. Het tellen van thrombocyten. *Nederl.Tijdschr.v.Geneesk.* 113: 2022, 1969.
18. Bijl, v.d., W.J.F -. Typische stoornissen bij het gebruik van corticosteroiden. *Ned.Tijdschr.v.Geneesk.* 115: 447, 1971.
19. Greulich, W.W., Pyle, S.I -. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist. 2nd.ed. Stanford U.P., Stanford 1959.
20. Sullivan, M.P -. Complications in the treatment for acute leukaemia; In: Neoplasia in childhood. Year book med.publ., Chicago 1969, p.259. S
21. Sullivan, M.P. et al. Writing Committee, Pediatric Division, the Southwest Cancer Chemotherapy study group. Clinical investigations in the treatment of meningeal leukaemia: Radiation therapy regimens vs. conventional intrathecal methotrexate. *Blood* 34: 301, 1969. S
22. Nagao, T., Lampkin, B.C., Maner Alvin, M -. Maintenance therapy in acute childhood leukaemia. *J.Pediatrics* 76: 134, 1970. S

23. Aur, R.J.A., Simone, J., Omar Hustu, H., Walters, T., Borella, L., Pratt, C., Pinkel, D -. Central nervous system therapy and combination chemotherapy of childhood lymphocytic leukaemia. *Blood* 37: 272, 1971.
24. Johnson, H.D., Johnson, W.W -. *Pneumocystis carinii* pneumonia in children with cancer. Diagnosis and treatment. *JAMA* 214, 1067, 1970.
25. Perera, D.R., Western, K.A., Johnson, D., Johnson, W.W., Schultz, M.G., Akers, P.V -. *Pneumocystis carinii* pneumonia in a hospital for children. Epidemiological aspects. *JAMA* 214: 1074, 1970.
26. Schwartz, I.R., Kajani, M.K -. Methotrexate therapy and pulmonary disease. *JAMA* 210: 1924, 1969.
27. Hagberg, B., Sillanpaa, M -. Benign intracranial hypertension (pseudotumor cerebri). *Acta paed.Scand.* 59: 328, 1970.
28. Biesel, H.F -. Criteria for the evaluation of response to treatment in acute leukaemia. Letter to the editor. *Blood* 11: 676, 1956.
29. Finklestein, J.Z., Dymant, P.G., Hammond, G.D -. Leukemic infiltration of the testes during bone marrow remission. *Pediatrics* 43: 1042, 1969.
30. Bodey, G.P., Hersh, E.M.-. The problem of infection in children with malignant disease; In: *Neoplasia in childhood*. Year book med.publ., Chicago 1969, p.135.
31. Prager, D., Bruder, M., Sawitsky, A -. Disseminated varicella in a patient with acute myelogenous leukaemia: treatment with cytosine arabinoside. *J.Pediatrics* 78: 321, 1971.
32. Cangir, A., Sullivan, M.P., Sutow, W.W., Taylor, G -. Cytomegalovirus syndrome in children with acute leukaemia. Treatment with floxuridine. *JAMA* 201: 612, 1967.

33. Suk, C.C -. Urinary cytologic diagnosis of cytomegalic inclusion disease in childhood leukaemia. *Acta cytologica* 14: 338, 1970.
34. Abell, C., Holland, P -. Acute toxoplasmosis complicating leukaemia. *Amer.J.Dis.Childh.* 118: 782, 1969.
35. Pennoit, H., Lameire, M., de Tollenaere, G -. Opflakking van toxoplasmosis door corticosteroidtherapie bij longsarcoïdose. *Ned.Tijdschr.v.Geneesk.* 114: 1288, 1970.
36. Brunell, P.A., Ross, A., Miller, L.H., Kuo, B -. Prevention of varicella by Zoster immune globulin. *New Engl.J.Med.* 280: 1191, 1969.
37. Freireich, E.J., Shively, J.A., Jongh, D.S. de -. Platelet replacement; In: *Neoplasia in childhood. Year book med.publ., Chicago 1969*, p.125.
38. Abildgaard, C.F -. Recognition and treatment of intravascular coagulation. *J.Pediatrics* 74: 163, 1969.
39. Hartl, M., Landbeck, G -. *Leukämie bei Kindern. G.Thieme Verl. Stuttgart 1969*, p.58 and 100.
40. Hayhoe, F.G.J., Quaglino, D., Doll, R -. The cytology and cytochemistry of acute leukaemias. *Med.Res.Council report series* no. 304. London 1964.
41. Austin, J.H., Bischof, M -. A histochemical method for sulfatase activity in hemio cells and organ in prints. *Blood* 17: 216, 1961.
42. Skeel, R.T., Henderson, E.S., Bennett, J.M -. The significance of bone marrow lymphocytosis of acute leukaemia patients in remission. *Blood* 32: 767, 1968, *idem* 35: 356, 1970.
43. Slooff, J -. A method for making bone-marrow smears. *Maandschr.kindergeneesk.* 22: 9, 1954.

44. Bots, G.Th.A.M -. Liquor cytologie. Ned.Tijdschr.v.Geneesk. 108: 342, 1964.
45. Den Hartog Jager, W.A -. Cel- en tumordiagnostiek in de liquor; grenzen en mogelijkheden. Ned.Tijdschr.v.Geneesk. 109: 1371, 1965.
46. Oriëndt, J.C. van de -. Onderzoek van vormelementen in de urine met behulp van de sedimenteer koker. Ned.Tijdschr.v.Geneesk. 111: 1318, 1967.
47. Bots, G.Th.A.M., Swaag, E.J.C., Schaberg, A -. Cytologisch onderzoek van de liquor bij leukemie patienten met neurologische symptomen. Ned.Tijdschr.v.Geneesk. 115: 792, 1971.
48. Farmacotherapeutische overzichten, Cytostatica. Ned.Tijdschr.v. Geneesk. 112: 205, 1968.
49. Hertl, M., Landbeck, G -. Leukämie bei Kindern. G.Thieme Verl. Stuttgart 1969.
50. Rosner, F., Lee, S.L., Kagen, M., Morrison, A.N -. Intrathecal methotrexate. Lancet I: 249, 1970.
51. Zubred, C.G -. The clinical toxicities of L-asparaginase. Pediatrics 45: 555, 1970.
52. Ellison, R.R. et al (Acute Leukemia Cooperative group B). Arabinosyl cytosine: A useful agent in the treatment of acute leukemia in adults. Blood 32: 507, 1968.
53. Krivit, W., Gilchrist, G., Beatty, E.C -. The need for chemotherapy after prolonged complete remission in acute leukemia of childhood. J.Pediatrics 76: 138, 1970.
54. Holland, J.F -. Progress in the treatment of acute leukemia, 1966; In: Perspectives in leukemia. Grune and Stratton, New York-London 1968, p. 217.

55. Krepler, P -. Grundlagen und Fortschritte der Leukämiebehandlung beim Kinde. (Beiheft zum Archiv für Kinderheilkunde 62. Heft) Stuttgart, 1970, p. 30 e.v. Ferdinand Enke Verlag.
56. Pierce, M., Shore, N., Sitarz, A., Murphy, M.L., Louis, J., Severo, N -. Cyclophosphamide therapy in acute leukemia of childhood. *Cancer* 19: 1551, 1966.
57. Fernbach, D.J., Griffith, K.M., Haggard, M.E., Holcomb, T.M., Sutow, W.W., Vietti, T.J., Windmiller, J -. Chemotherapy of acute leukemia in childhood. Comparison of cyclophosphamide and mercaptopurine. *New Engl.J.Med.* 275: 451, 1966.
58. Reerink, H., Cleton, F.J., Elkerbout, F., Stenfert Kroese, W.F -. De toepassing van L-asparaginase bij de behandeling van leukemie. *Ned.Tijdschr.v.Geneesk.* 114: 1330, 1970.
59. Capizzi, R.L., Summers, W.P., Bertine, J.R -. Antagonism of the antineoplastic effect of methotrexate by L-asparaginase or L-asparagine deprivation. *Proc.Am.Ass.Cancer Res.* 11: 15, 1970.
60. Starling, K., Lane, D.M., Sutow, W.W., Monto, R.W., Thurman, W.G -. Third and fourth remission induction with prednisone and vincristine in children with acute leukemia. *Cancer Chemotherapy Reports* 54: 293, 1970.
61. Krepler, P -. Grundlagen und Fortschritte der Leukämiebehandlung beim Kinde. (Beiheft zum Archiv für Kinderheilkunde 62. Heft) Stuttgart 1970, p. 83. Ferdinand Enke Verlag.
62. Crowther, D., Bateman, C.J.T., Vartan, C.P., Whitehouse, J.M.A., Malpas, J.S., Hamilton-Fairley, G., Bodley Scott, R -. Combination chemotherapy using L-asparaginase, Daunorubicin, and Cytosine Arabinoside in adults with acute myelogenous leukaemia. *Brit.Med.J.* IV: 513, 1970.

63. Guyer, R.J., Winfield, D.A., Shahani, R.T., Blackburn, E.K --.  
Combination chemotherapy in acute myeloblastic leukaemia.  
*Brit.Med.J.* I: 231, 1971.
64. Gee, T.S., Yu, K.P., Clarkson, B.D --. Treatment of acute adult  
leukemia with arabinosyl cytosine and thioguanine. *Cancer* 23:  
1019, 1969.
65. Neville, B.G.R., Wilson, J --. Benign intracranial hypertension  
following corticosteroid withdrawal in childhood. *Brit.Med.J.*  
III: 554, 1970.
66. Freedman, M., Finklestein, J.Z., Hammond, G.D., Karon, M --.  
The effect of chemotherapy on acute myelogenous leukemia in  
children. *J.Ped.* 78: 526, 1971.