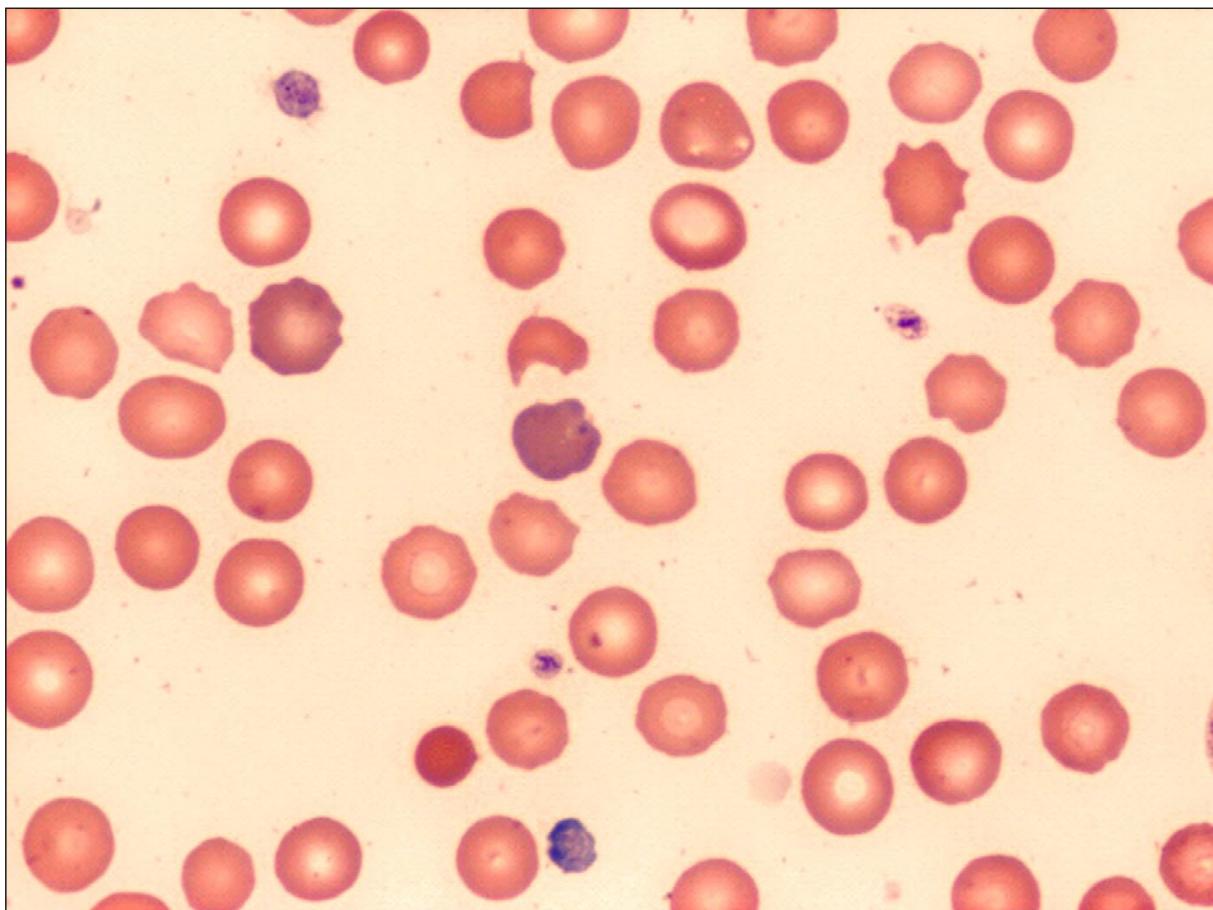


# Bilten Krohema

Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem



Volumen 4., Broj 1.

**Krohem**

## **Impresum**

Bilten Krohema

Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem  
Volumen 4., Broj 1., Svibanj 2012.

### **Nakladnik:**

Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti Krohem

### **Za nakladnika:**

Boris Labar

### **Glavni urednik:**

Dražen Pulanić

### **Tajnica Krohema:**

Dijana Perčin

### **Autori tekstova:**

|                          |                            |
|--------------------------|----------------------------|
| Igor Aurer               | Petra Korać                |
| Manuela Avirović         | Tea Kos                    |
| Sandra Bašić-Kinda       | Nevena Krnić               |
| Josip Batinić            | Boris Labar                |
| Ernest Bilić             | Eva Lovrić                 |
| Božena Coha              | Ksenija Lučin              |
| Dubravka Čaržavec        | Bojana Mohar               |
| Mara Dominis             | Damir Nemet                |
| Antica Duletić-Načinović | Zlatka Nemet-Lojan         |
| Nadira Duraković         | Slobodanka Ostojić Kolonić |
| Slavko Gašparov          | Duška Petranović           |
| Blaženka Grahovac        | Dražen Pulanić             |
| Njetočka Gredelj Šimec   | Ivo Radman                 |
| Velka Gverić-Krečak      | Ljubica Rajić              |
| Hrvoje Holik             | Radovan Vrhovac            |
| Tomislav Horvat          | Sandra Vukojan             |
| Nives Jonjić             | Vlatka Zoldoš              |
| Miroslava Katičić        |                            |

### **Uputa suradnicima:**

Materijali se šalju na adresu uredništva „Bilten Krohema“, Trg hrvatskih velikana 2, 10 000 Zagreb, u elektronskom i tiskanom obliku, te obvezno i na adresu E-pošte urednika dpulanic@yahoo.com

Objavljeni tekstovi predstavljaju stav autora i Uredništvo se ne mora slagati s iznešenim mišljenjima.

### **Opis slike na naslovnicu:**

Citološki razmaz periferne krvi bolesnika s mikroangiopatskom hemolitičkom anemijom.  
Ustupljeno i priređeno ljubaznošću dr. Sunčice Ries i dr. Koraljke Gjadrov Kuveždić,  
Klinički zavod za patologiju i citologiju KBC Zagreb.

# Sadržaj

|   |    |
|---|----|
| <b>B. Labar:</b>  |    |
| Uvodnik .....   | 2  |
| <b>D. Čaržavec:</b>   |    |
| ELN smjernice za Philadelphia negativne mijeloproliferativne neoplazme .....  | 3  |
| <b>D. Pulanić, V. Gverić-Krečak, Z. Nemet-Lojan, B. Coha, H. Holik, S. Vukojan:</b>   |    |
| Praćenje učestalosti venskih tromboembolijskih bolesti u Republici Hrvatskoj – daljnji napredak .....   | 6  |
| <b>E. Bilić, T. Kos, N. Krnić, Lj. Rajić:</b>   |    |
| Trombofilije u djece s akutnom limfoblastičnom leukemijom .....   | 9  |
| <b>J. Batinić:</b>  |    |
| Registar oboljelih od multiplog mijeloma – pregled dosadašnjih analiza .....  | 14 |
| <b>N. Duraković, D. Nemet:</b>  |    |
| Tandem transplantacija krvotvornih matičnih stanica u liječenju oboljelih od multiplog mijeloma – rezultati Zavoda za hematologiju KBC Zagreb ..... | 16 |
| <b>Nj. Gredelj Šimec, R. Vrhovac:</b>   |    |
| Smjernice KROHEM-a za prevenciju i liječenje mučnine i povraćanja izazvanih antitumorskim lijekovima i postupcima .....                             | 18 |
| <b>K. Lučin, M. Avirović, D. Petranović, A. Duletić-Načinović, I. Aurer, S. Bašić-Kinda, B. Mohar, B. Grahovac, N. Jonjić:</b>                      |    |
| CD3+Pax5+ limfoblastni limfom: bifenotip, aberantni fenotip ili normalni fenotip? .....   | 23 |
| <b>P. Korać, E. Lovrić, T. Horvat, M. Katičić, S. Ostojić Kolonić, V. Zoldoš, S. Gašparov, M. Dominis:</b>  |    |
| Epigenetika limfoma .....   | 26 |
| <b>I. Radman:</b>   |    |
| Ekstrakorporalna fotofereza u liječenju kožnih limfoma .....  | 28 |
| Fotografije iz Pule s posljednjeg sastanka KROHEM-a u studenom 2011. ....   | 32 |

## Uvodnik

Zadovoljstvo je konstatirati kako smo napravili pravi iskorak kada je riječ o važnosti i potrebi organizacijskog pristupa u hematologiji na razini Hrvatske. KROHEM više nije upitan. Naša aktivnost posljednjih godina bila je usmjerena na izradu standardnih postupnika dijagnostike i liječenja te prijedlog smjernica za liječenje hematoloških bolesti. Istodobno predloženo je i izrađeno nekoliko prospektivnih kliničkih studija koje su imale za cilj procijeniti provedivost naših dijagnostičkih i terapijskih postupnika (npr. na području tromboze, akutne mijeloične leukemije, kronične mijeloične leukemije i dr.).

Hrvatski Registar ulazi u novu fazu. Treba naglasiti da rad na Registru nije jednostavan i da ukazuje na brojne logističke poteškoće. Unatoč tome u Trakošćanu ćemo po prvi put izvijestiti o broju liječenih bolesnika sa zločudnim tumorima krvotvornog sustava u 2011. godini u Hrvatskoj.

Trebali biti zadovoljan učinjenim? Donekle. Jesmo li mogli više? Jesmo. Kada to mislim onda želim naglasiti sljedeće:

- još uvijek radimo od sastanka do sastanka KROHEM-a;
- nedostaje implementacija dogovorenih dijagnostičkih i terapijskih standarda u kliničku praksu;
- kada je riječ o Biltenu većina ili ne dostavi tekstove ili ih dostavi u posljednjem trenutku;
- sve se manje na sastancima KROHEM-a raspravlja o kliničkim prospektivnim ispitivanjima koja imaju za cilj pokazati odgovor na postavljeno aktualno kliničko pitanje, ali isto tako omogućiti što bržu (kvalitetniju) implementaciju standarda i postupnika KROHEM-a u svakodnevnu kliničku hematološku praksu;
- procjena članstva KROHEM-a još se uvijek ne temelji na aktivnostima pojedinog Centra.

Mislim da nisam naveo sve probleme koji postupno izlaze na vidjelo. Cilj ovog uvodnika nije pobrojati ih već potaknuti njihovo rješavanje. A za to svi mi zajedno u KROHEM-u nosimo svoj dio odgovornosti. I još nešto; ovo nije kritika već nastojanje da uočavanjem naših slabosti budemo što djelotvorniji u neposrednoj budućnosti. Smatram iznimno važnim da u sljedećem razdoblju 2012/2013. započnemo s prospektivnim kliničkim ispitivanjima i da (što je jednako važno) kvalitetno provodimo i izvještavamo o prospektivnim opservacijskim, neinterventnim kliničkim studijama.

Naša je grupa mala, jer je Hrvatska mala država. To ograničava mogućnost provedbe kvalitetnih kliničkih studija u mnogih bolesti. Zato treba surađivati s drugim, sličnim kooperativnim grupama, npr. s Kooperativnom grupom za leukemije srednje i istočne Europe (CELG). To je jedan od načina kako premostiti naše objektivne „probleme“. Suradnja s Europskom grupom za liječenje i istraživanje raka (EORTC), ponajprije s leukemijskom i limfomskom grupom u neposrednoj budućnosti treba sve više biti prepoznata na razini KROHEM-a, a ne samo na razini pojedinih naših kliničkih ustanova. Takva suradnja za nas, naše centre i KROHEM otvara vrata kvalitete i prepoznatljivosti, što ni u kom slučaju nije i neće biti zanemarivo u narednim godinama europskih integracijskih procesa u Hrvatskoj.

Mislim da mi zajedno, možemo i više i bolje...

Prof. dr. sc. Boris Labar, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: boris.labar@inet.hr

## ELN smjernice za Philadelphia negativne mijeloproliferativne neoplazme

**Dubravka Čaržavec, dr. med.**

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

KBC Sestre milosrdnice, Zagreb

E-pošta: dubravka.carzavec@zg.t-com.hr

Smjernice European LeukemiaNet-a objavljene su u veljači 2011. g. u Journal of Clinical Oncology, a donešene su konsenzusom panela od 21 stručnjaka iz Europe i SAD-a. Sastoje se od preglednog prikaza Philadelphia negativnih (Ph-) mijeloproliferativnih neoplazmi (MPN) i smjernica za liječenje, praćenje i definiciju odgovora, prvu i drugu liniju terapije, uključujući i posebna stanja.

Otkriće JAK2V617F mutacije u više od 90% bolesnika s policitemijom verom (PV) i oko 60% bolesnika s esencijalnom trombocitemijom (ET) i primarnom mijelofibrozom (PMF) promjenilo je naše razumijevanje kliničkih i bioloških osobina MPN. Došlo je i do promjene kriterija za dijagnozu, strategije praćenja i procjene odgovora na terapiju. Također je došlo do razvoja molekula koje specifično ciljaju na JAK2, no njihovo otkriće još nije dovelo do promjena u liječenju MPN. Liječenje i dalje ostaje poduhvat koji zahtjeva veliko iskustvo.

### Dijagnoza

Bazira se na dijagnostičkim kriterijima WHO klasifikacije iz 2008. g. Morfologija i genetika su sastavni dio WHO klasifikacije. Neki panelisti su iskazali skepsu oko korištenja morfologije za razlikovanje ET od prefibrotičke PMF. JAK2V617F mutacija ne znači uvijek prisutnost PV, ET ili PMF (potrebna je evaluacija u kontekstu anamneze, pregleda i drugih pretraga).

### Komunikacija s pacijentom

Nakon postavljanja dijagnoze potrebno je informirati bolesnika o prirodi bolesti i očekivanom preživljenju. Treba iznijeti potencijalne komplikacije (transformacija u leukemiju i fibrozu, rizik tromboze i krvarenja, konstitucijske simptome, mikrovaskularne smetnje, svrbež, spontani pobačaji) i raspraviti terapijske opcije.

### Ciljevi terapije PV i ET

- Izbjegići pojavu ili recidiv tromboze i krvarenja;
- Liječiti komplikacije;
- Kontrolirati opće simptome;
- Smanjiti rizik AML i post-PV/post-ET MF;

- Svladavati rizične situacije (trudnoća, kirurški zahvati).

### Ciljevi terapije MF

- Produciti preživljenje i ako je moguće izlječenje, koje je moguće samo s alogeničnom transplantacijom koštane srži.
- Palijativno liječenje simptoma (anemija, značajna splenomegalija i opći simptomi) i podizanje kvalitete života.

### Liječenje PV

#### *Prva linija terapije*

Svi pacijenti s PV trebaju biti liječeni venepunkcijama uz održavanje hematokrita ispod 45% i niskim dozama acetilsalicilne kiseline. Citoredukcija je indicirana za pacijente visokog rizika (Slika 1.).

#### *Slika 1. Stupnjevi rizika za bolesnike s PV i ET.*

| Stupanj rizika | Dob > 60 g. ili<br>anamneza<br>tromboembolije | Kardiovaskularni<br>rizični čimbenici |
|----------------|---|---------------------------------------|
| Niski          | NE  | NE                                    |
| Srednji ?      | NE  | DA                                    |
| Visoki         | DA  | ----                                  |

Indikacije za citoreduktivnu terapiju su slabo podnošenje venepunkcija ili potreba za čestim venepunkcijama, simptomatska ili progresivna splenomegalija, teški simptomi vezani uz bolest, trombociti viši od  $1500 \times 10^9/L$  i progresivna leukocitoza. Hidroksureja (HU) i IFN-α su prva linija citoreduktivne terapije u bilo kojoj dobi. Hidroksureja se treba koristiti s oprezom u mlađih bolesnika (dob < 40 g.), a busulfan dolazi u obzir kod starijih (dob > 70 g.). Potrebno je agresivno liječiti kardiovaskularne čimbenike rizika i savjetovati prestanak pušenja.

#### *Promjena terapije i druga linija terapije*

U bolesnika koji su rezistentni ili intolerantni (Tablica 1.) na hidroksureju druga linija liječenja je IFN-α. Acetilsalicilnu kiselinu je potrebno izostaviti u slučaju krvarenja, alergije ili intolerancije. Busulfan, pipobroman i  $^{32}P$  su druga linija terapije za bolesnike s kratkim očekivanim preživljenjem.

### **Tablica 1. ELN definicija rezistencije/intolerancije na HU u bolesnika s PV.**

- Potreba za venepunkcijom za održavanje Hct<45% nakon 3 mj. najmanje 2 gr./dan hidroksiureje, **ILI** 2. Ne-kontrolirana mijeloproliferacija (npr. Tr > 400 x 10<sup>9</sup>/L i L >10 x10<sup>9</sup>/L nakon 3 mj. najmanje 2 gr./dan HU, **ILI** 3. Neuspjeh u smanjenju masivne splenomegalije za >50% **ILI** neuspjeh u kompletном otklanjanju simptoma vezanih za splenomegaliju nakon 3 mj. najmanje 2 gr./dan HU, **ILI** 4. Apsolutni broj neutrofila < 1,0 x 10<sup>9</sup>/L **ILI** Tr < 100 x 10<sup>9</sup>/L **ILI** Hgb < 100 g/L uz najmanju dozu HU potrebnu za postignuće parcijalnog kliničkog hematološkog odgovora **ILI** 5. Prisutnost ulkusa na nogama ili druge neprihvatljive nefematološke toksičnosti, kao mukokutane manifestacije, GI simptomi, pneumonitis, ili vrućica pri bilo kojoj dozi HU.

### **Liječenje ET**

#### **Prva linija terapije**

Svi pacijenti s mikrovaskularnim poremećajima trebaju dobivati male doze acetilsalicilne kiseline. Citoredukcija je, kao i u PV, indicirana za bolesnike visokog rizika (Slika 1.). Hidroksiureja je prva linija citoreduktivne terapije u bilo kojoj dobi ali njena upotreba u mlađih bolesnika (dob<40 g.) treba biti pažljivo razmotrena. Trombociti iznad 1500 x 10<sup>9</sup>/L su rizični čimbenik za krvarenje i u tom slučaju treba razmotriti uvođenje citoreduktivne terapije neovisno o rizičnom stupnju. Kao i u PV, treba djelovati na kardiovaskularne čimbenike rizika i savjetovati prestanak pušenja.

#### **Promjena terapije i druga linija terapije**

Anagrelid je druga linija terapije za bolesnike koji su rezistentni ili intolerantni (Tablica 2.) na prvu liniju terapije hidroksiurejom. Interferon dolazi u obzir kod mlađih žena i onih bolesnika s kontraindikacijama za anagrelid. Busulfan, pipobroman i <sup>32</sup>P su druga linija terapije za bolesnike s kratkim očekivanim preživljenjem.

### **Tablica 2. ELN definicija rezistencije/intolerancije na HU u bolesnika s ET.**

- Tr > 600 x 10<sup>9</sup>/L nakon 3 mj. najmanje 2 g./dan HU (2,5 g/dan u bolesnika s težinom > 80 kg), **ILI** 2. Tr > 400 x 10<sup>9</sup>/L i L < 2,5 x 10<sup>9</sup>/L pri bilo kojoj dozi HU, **ILI** 3. Tr > 400 x 10<sup>9</sup>/L i Hb < 100 g/L pri bilo kojoj dozi HU, **ILI** 4. Prisutnost ulkusa na nogama i drugih neprihvatljivih mukokutanih manifestacija pri bilo kojoj dozi HU 5. Vrućica vezana za HU.

### **Liječenje PMF**

#### **Kako liječiti anemiju**

Razumno je početi liječiti anemiju kod hemoglobina nižeg od 100 g/L. Učinak pokazuju četiri skupine lijekova: eritropoetin, kortikosteroidi (0,5

do 1,0 mg/kg/dan), androgeni (testosteron, danazol) i imunomodulatori (talidomid u maloj dozi 50 mg/dan i lenalidomid za deleciju 5q).

#### **Kako liječiti splenomegaliju**

Lijek izbora za simptomatsku splenomegaliju je hidroksiureja koja se također koristi za kontrolu trombocitoze i/ili leukocitoze. „Involved-field“ radioterapija dovodi do olakšanja tegoba ali je odgovor kratak (3 do 6 mjeseci). Splenektomija je također opcija liječenja za splenomegaliju refraktornu na lijekove.

#### **Nehepatosplenička hematopoeza**

Najčešća u torakalnim kralješcima, limfnim čvorovima, plućima, pleuri, tankom crijevu, peritoneumu, urogenitalnom traktu i srcu. Ukoliko je simptomatska liječi se malim dozama zračenja (0,1 do 1 Gy u 5 do 10 frakcija).

#### **Splenektomija**

Indikacije su simptomatska portalna hipertenzija, splenomegalija refraktorna na terapiju i anemija ovisna o transfuzijama. Trombocitopenija je znak prijeteće leukemijske transformacije i u tom slučaju splenektomija ima loš ishod. Citoreduktivni lijekovi i antikoagulansi se daju profilaktički prije zahvata. Trombociti prije zahvata trebaju biti ispod 400 x 10<sup>9</sup>/L zbog potencijalne postoperativne trombocitoze. Postoperativni mortalitet je između 5-10%, a komplikacije nakon splenektomije se događaju u oko 50% pacijenata.

#### **Alogenka transplantacija koštane srži**

Jedini terapijski pristup koji je potencijalno kurativan, ali je kompliciran relativno visokim mortalitetom i morbiditetom vezanim za proceduru. Dolazi u obzir kod osoba mlađih od 60 godina s visokim IPSS (Tablica 3.) (preživljenje ~ 27 mj.) ili srednjim st. 2 (preživljenje ~ 40 mj.), pacijenata koji zahtijevaju transfuzije koncentrata eritrocita (preživljenje ~ 20 mj.) i onih s nepovoljnom citogenetikom (preživljenje ~ 40 mj.). Dodatni loši čimbenici za alog-SCT su opterećenje transfuzijama KE, značajna splenomegalija, nepotpuno HLA identičan srodnici ili nesrodnji donor, komorbiditet, visoka dob, uznapredovali stadij bolesti. Prema datoteki Center for Bone Marrow Transplantation Research 5-godišnje preživljenje za srodne transplantacije je 37%, a nesrodne 30%.

**Tablica 3. Međunarodni prognostički bodovni sustav (IPSS) za primarnu mijelfibrozu.***Loši prognostički čimbenici*

Dob > od 65 godina  
Konstitucijski simptomi  
Hemoglobin < 100 g/L  
Leukociti > 25 x 10<sup>9</sup>/L  
Blasti u krvi ≥ 1%

**Niski rizik-bez rizičnih čimbenika****Srednji rizik-1 jedan rizični čimbenik****Srednji rizik-2 dva rizična čimbenika****Visoki rizik ≥ 3 rizična čimbenika****Posebna pitanja u MPN***Nasljedna predispozicija*

Rizik za razvoj MPN je 5-7 puta viši među srodnicima u prvom koljenu bolesnika s MPN što po-

država tezu o prisutnosti genske sklonosti koja pre-disponira za MPN. Nema dokaza za genski prijenos JAK2V617F mutacije i nema razloga za rutinsko testiranje rođaka osoba s MPN u odsutnosti hemato-loških ili kliničkih poremećaja.

**Trudnoća**

Prisutnost Ph-negativne klasične MPN povisuje rizik pobačaja i drugih komplikacija kao abrupcije placente, preeklampsije i zastoja intrauterinog rasta. Venska tromboza se događa posebice u postpartalnom periodu i rizik je veći u osoba s anamnezom vaskularnih incidenata. Opcije liječenja uključuju flebotomiju, acetilsalicilnu kiselinu, niskomolekulski heparin i IFN-α.

Preporuke liječenja iznesene su u Tablici 4.

**Tablica 4. Strategija liječenja Philadelphia negativnih klasičnih MPN u trudnoći.**

| <b>Rizik trudnoće</b>    | <b>Terapija</b>   |
|--------------------------|---|
| Trudnoća niskog rizika   | Ciljni hematokrit u PV treba biti < 45%, niska doza ASK, profilaktička primjena LMWH 6 tjedana nakon poroda   |
| Trudnoća visokog rizika* | Kao gore plus: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. U slučaju ranije tromboze ili teških komplikacija u trudnoći LMWH tijekom cijele trudnoće</li> <li>2. U slučaju Tr &gt;1500x10<sup>9</sup>/L razmotriti IFN-α</li> <li>3. u slučaju većih krvarenja izostaviti ASK i razmotriti IFN-α za redukciju trombocitoze</li> </ol> |

\* Trudnoća viskog rizika podrazumjeva ranije venske ili arterijske tromboze, ranija krvarenja vezana uz MPN i ranije komplikacije u trudnoćama koje mogu biti u vezi s MPN.

**Tromboza splanhičnih vena**

JAK2V617F mutacija prisutna je u 45% bolesnika s Budd-Chiari sindromom i 34% s trombozom vene porte. MPN ne mora biti klinički očigledna zbog istodobnog hipersplenizma ili okultnog GI krvarenja. Liječenje uključuje LMWH i potom varfarin trajno. U slučaju trombocitoze uvesti HU za postizanje Tr < 400 x 10<sup>9</sup> čim prije.

## Praćenje učestalosti venskih tromboembolijskih bolesti u Republici Hrvatskoj – daljnji napredak

Dražen Pulanić<sup>1</sup>, Velka Gverić-Krečak<sup>2</sup>, Zlatka Nemet-Lojan<sup>3</sup>, Božena Coha<sup>4</sup>, Hrvoje Holik<sup>4</sup>, Sandra Vukojan<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb

<sup>2</sup> Odjel interne medicine, OB Šibenik

<sup>3</sup> Internistički odjel, OB „Dr. Tomislav Bardek“, Koprivnica

<sup>4</sup> Odjel za unutarnje bolesti, OB „Dr. Josip Benčević“, Slavonski Brod

Adresa autora za kontaktiranje:

Doc. dr. sc. Dražen Pulanić, dr. med.

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Osijek Sveučilišta J.J. Strossmayera u Osijeku

E-pošta: dpulanic@yahoo.com

Na posljednjem sastanku Krohema u Puli u studenom 2011. raspravljen je daljnji napredak u praćenju venskih tromboembolija (VTE) u 2011. godini u sklopu pokrenute KROHEM-ove studije praćenja incidencije VTE u Republici Hrvatskoj (RH), te su prikazani preliminarni podaci o incidenciji VTE prikupljeni u pojedinim županijskim bolnicama.

Podsjetimo, VTE su među najvećim medicinskim i najznačajnijim javnozdravstvenim problemima današnjice. Riječ je o jako čestoj bolesti u adultnoj populaciji koja nerijetko recidivira i koja može imati dugotrajne posljedice, poput kroničnog posttrombotskog sindroma. Podaci vezani uz incidenciju i karakteristike VTE u RH uglavnom do sada nisu poznati.

Na sastanku KROHEM-a u Vodicama u studenom 2010. predložena je, raspravljena i usvojena KROHEM-ova akademска, nesponzorirana, opservacijska studija praćenja učestalosti venskih tromboembolija u pojedinim županijama RH, inicijalno u Šibensko-kninskoj županiji (a kasnije su se uključili i centri iz drugih hrvatskih županija), s planom da se zatim prikupljeni podaci ekstrapoliraju na cijelu RH. Nakon toga je pokrenut administrativni postupak kako bi se navedeno praćenje moglo provesti u pojedinim bolnicama. Praćenje incidencije VTE je prvo započeto po predviđenom programu studije u OB Šibenik.

Slika 1. Šibensko-kninska županija.



Slika 2. OB Šibenik.



Na sljedećem sastanku Krohema u Tuheljskim Toplicama u svibnju 2011. je dr. Velka Gverić-Krečak iz OB Šibenik prikazala preliminarne podatke praćenja incidencije VTE u OB Šibenik, što je i opisano u Biltenu Krohema (Bilten Krohema 2011;3(2):45-46.).

Praćenju VTE u sklopu Krohemove studije aktivno su se priključili i dr. Zlatka Nemet-Lojan iz OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica te dr. Božena Coha i dr. Hrvoje Holik iz OB „Dr. J. Benčević“ u Slavonskom Brodu, tako da su u studiji aktivno participirale bolnice iz tri županije Republike Hrvatske: Šibensko-kninske, Koprivničko-križevačke, te Brodsko-posavske županije.

**Slika 3. Koprivničko-križevačka županija.****Slika 4. Bolnica OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica.****Slika 5. Brodsko-posavska županija.****Slika 6. OB „Dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod.**

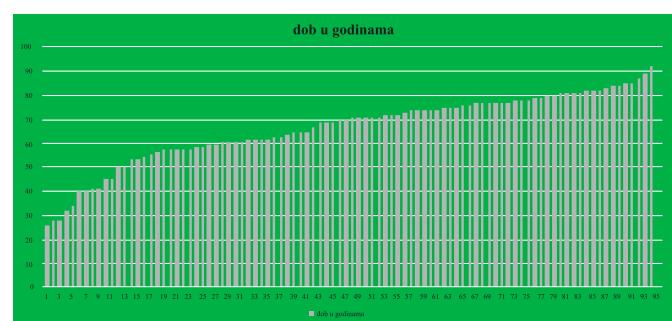
Na posljednjem sastanku Krohema u Puli u studenom 2011. dr. Velka Gverić-Krečak je prikazala daljnji napredak u praćenju VTE u OB Šibenik, dr. Zlatka Nemet-Lojan podatke o VTE iz OB „Dr. Tomislav Bardek“ iz Koprivnice, a dr. Hrvoje Holik s dr. Boženom Cohom podatke o VTE iz OB „Dr. J. Benčević“ iz Slavonskog Broda.

### Preliminarni rezultati iz OB Šibenik

Od siječnja do listopada 2011. je u OB Šibenik zabilježeno 99 hospitaliziranih bolesnika s VTE; 56 (57%) žena i 43 (43%) muška bolesnika. Medijan dobi bio je 70 godina, a raspon 26-92 godina (Slika 7).

**Slika 7. Dobna raspodjela oboljelih od VTE u OB Šibenik.**

### Dob bolesnika



U OB Šibenik u navedenom razdoblju 63 bolesnika (64%) imalo je dijagnozu DVT, 32 (32%) PE, a 4 (4%) i DVT i PE. 14 bolesnika (14%) imalo je recidiv VTE, 7 (7%) pušilo je cigarete, a nijedan oboljeli nije imao „rijetku“ lokalizaciju VTE (Tablica 1.).

**Tablica 1. Obilježja bolesnika s VTE u OB Šibenik.**

| Dijagnoza (N, %): |             |                 |
|-------------------|-------------|-----------------|
| DVT 63 (64%)      | PE 32 (32%) | DVT i PE 4 (4%) |
| Rijetke VTE       | 0           |                 |
| Recidiv VTE       | 14 (14%)    |                 |
| Cigaretе puši     | 7 (7%)      |                 |

Među navedenih 99 bolesnika, 47 (47,5%) imalo je sekundarnu VTE, a 52 bolesnika (52,5%) idiopatsku VTE. Od uzroka sekundarne VTE, najčešće su to bili oboljeli od zločudnih solidnih tumora (16 bolesnika (16%)), te immobilizacija i operacija (9, tj. 9%). Umrlo je 7 (7%) bolesnika s VTE hospitaliziranih u OB Šibenik.

## Preliminarni rezultati iz OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica

U prvih deset mjeseci 2011. g. u Općoj bolnici „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica dijagnosticirano je (CD vena ili MSCT angiografija) i liječeno 67 bolesnika s VTE: 30 muškaraca (45%) i 37 žena (55%) (Tablica 2.).

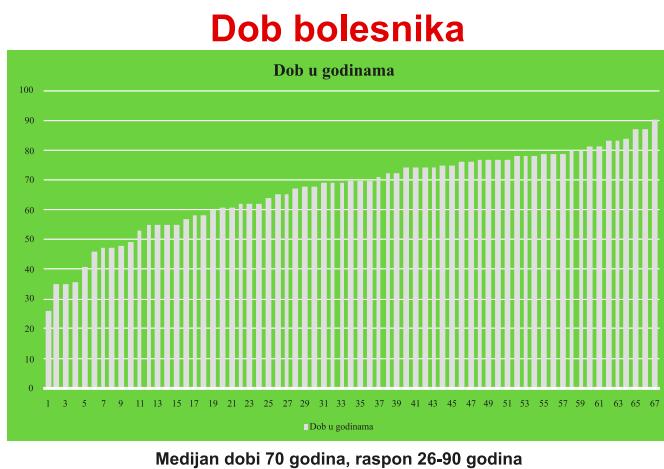
**Tablica 2. VTE u OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica.**

### VTE u OB Koprivnica

| Broj bolesnika | Spol           |
|----------------|----------------|
| 67             | Muški 30 (45%) |
|                | Žene 37 (55%)  |

Medijan dobi bio je 70 godina, raspon od 26-90 godina (Slika 8.).

**Slika 8. Dobna raspodjela oboljelih od VTE u OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica.**



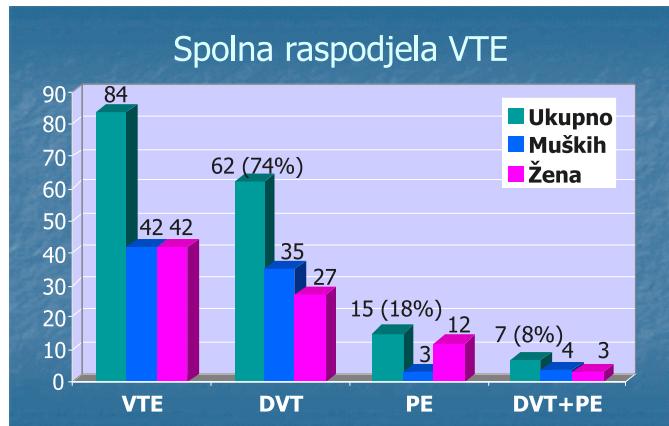
DVT imao je 41 bolesnik (61%), PE 24 (36%), a kod dvoje bolesnika dokazana je i DVT i PE (3%). Rijetka sijela VTE imala su 3 bolesnika (4,5%). Kod 7 bolesnika (10,5%) zabilježen je recidiv VTE, te kod 3 bolesnika (4,5%) anamnestički podatak o VTE u prvih srodnika. 8 bolesnika (11,9%) izjasnilo se kao pušači.

Idiopatsku VTE imala su 34 bolesnika (50,7%), a sekundarnu 33 (49,3%). Uzroci sekundarne VTE bili su: zločudni solidni tumor 15 (22,4%), imobilizacija, operacija 17 (25,4%), kronična mijeloproliferativna bolest 1 (1,5%), trudnoća i puerperij 2 (3%), upalna bolest crijeva 2 (3%), neurološka parapareza 1 (1,5%). Od ukupnog broja bolesnika (67) preminulo ih je 5 (7,5%).

## Preliminarni rezultati iz OB „Dr. Josip Benčević“ iz Slavonskog Broda

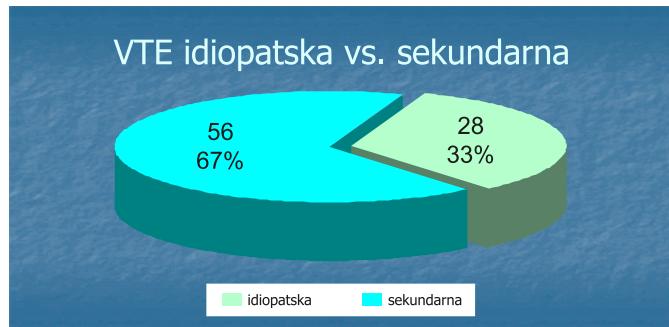
Od siječnja do listopada 2011. g. u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ iz Slavonskog Broda hospitalizirana su 84 bolesnika s VTE: 42 muškaraca (50%) i 42 žene (50%) (Slika 9.).

**Slika 9. Spolna raspodjela oboljelih od VTE u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ iz Slavonskog Broda.**



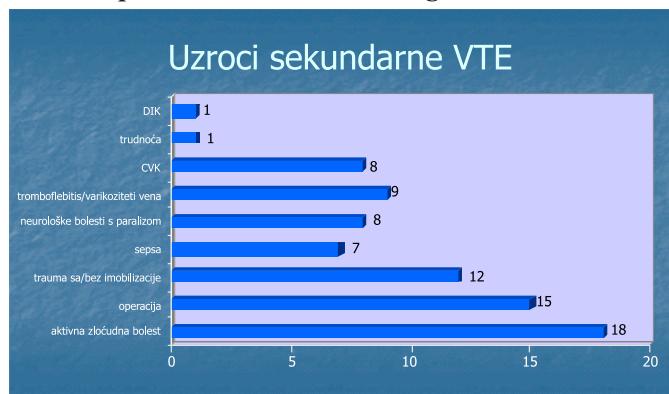
62 bolesnika (74%) imalo je samo DVT, 15 (18%) PE, a 7 (8%) i DVT i PE (Slika 9.). Ukupno je 6 bolesnika imalo recidiv VTE. 10 bolesnika (14%) pušilo je cigarete.

**Slika 10. Idiopatske i sekundarne VTE u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ iz Slavonskog Broda.**



28 bolesnika (33%) imalo je idiopatsku VTE, a 56 (67%) sekundarnu VTE (Slika 10.). 36 (64%) sekundarnih bilo je provočirano s jednim čimbenikom rizika, a 20 (36%) sekundarnih bilo je provočirano s dva i više čimbenika rizika.

**Slika 11. Uzroci sekundarne VTE u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ iz Slavonskog Broda.**



Među uzrocima sekundarne VTE u Općoj bolnici „Dr. Josip Benčević“ iz Slavonskog Broda najčešći su bili aktivna zločudna bolest, operacija te trauma s ili bez imobilizacije (Slika 11.). Ukupno su preminula 4 (5%) pacijenta s VTE u OB „Dr. Josip Benčević“, od kojih su svi bolovali od zločudnih tumorskih bolesti.

**Zaključak:** Prikupljeni preliminarni rezultati o incidenciji VTE u 2011. iz tri županijske bolnice (OB Šibenik, OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica, i OB „Dr. Josip Benčević“ Slavonski Brod) su nedvojbeno vrlo zanimljivi i vrijedni, s ukupno velikim brojem prikupljenih bolesnika.

Na idućem sastanku KROHEM-a predviđeno je prikazivanje sveukupnih podataka za cijelu 2011. u navedene tri bolnice, kao i prikaz podataka o incidenciji VTE u 2011. iz OB „Hrvatski ponos“ Knin što je prikupio dr. Mili Komljenović iz navedene

bolnice (kako bi se zaokružila cijela Šibensko-kninska županija), te podaci o VTE u OB Varaždin u 2011. što je prikupila dr. Renata Babok-Flegarić iz OB Varaždin, čime je u studiju uključena i Varaždinska županija (četvrta uključena županija RH u ovoj studiji). Također smo u iščekivanju podataka iz 2011. o VTE iz OB Nova Gradiška (kako bi se kompletirala Brodsko-posavska županija), a još je nekoliko drugih kolega hematologa iz drugih županijskih bolnica izjavilo interes za sudjelovanje u studiji.

Može se pretpostaviti da će kompletiranje podataka za 2011. godinu s aktivno uključene četiri hrvatske županije polučiti još veći i reprezentativniji uzorak bolesnika. Nadamo se da će prikupljeni podaci omogućiti donošenje zaključaka o incidenciji i karakteristikama VTE u našoj zemlji, što bi moglo imati veliku javnozdravstvenu važnost i postati značajan KROHEM-ov uspjeh.

## Trombofilije u djece s akutnom limfoblastičnom leukemijom

**Ernest Bilić, Tea Kos, Nevena Krnić, Ljubica Rajić**

Klinika za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i KBC Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

Doc. dr. sc. Ernest Bilić, dr. med.

Klinika za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i KBC Zagreb

E-pošta: ernest.bilic@zg.t-com.hr

Trombofilija je patološki povećana sklonost zgrušavanju krvi. Može biti naslijedena (u podlozi se nalaze genetski poremećaji proteina koji sudjeluju u procesu zgrušavanja) ili stечena (nastala kao posljedica terapijskih postupaka, primjene lijekova, životnog stila itd.).

Ukupna učestalost trombofilije u pedijatrijskoj populaciji je između 0,7 i 1,9 na 100 000 djece. Kod novorođenčadi učestalost trombofilije je veća zbog njihovog nezrelog antikoagulacijskog sustava.

Kod naslijedenih trombofilija najčešće se radi o poremećaju gena za faktor zgrušavanja V Leiden koji zbog točkaste mutacije postaje otporan na dje-lovanje proteina C te o mutaciji gena za protrombin 20210A zbog koje se protrombin proizvodi u povećanim količinama (1,2). Od ostalih naslijedenih stanja hiperkoagulabilnosti značajan je genetski defekt antitrombina III (pri čemu količina antitrombina III može biti uredna dok je sam protein nefunkciona-

lan), mutacije proteina C ili proteina S, povećana količina homocisteina, poremećaj strukture fibrinogena itd. Kod naslijedenih poremećaja koagulacijskog sustava prva epizoda trombofilije može se bez vidljivog povoda pojaviti u djetinjstvu. Ipak, većina naslijedenih trombofilija ne očituje se klinički do odrasle dobi.

Od stečenih trombofilija najčešća je ona uvjetovana prisutnošću središnjeg venskog katetera. Procjenjuje se da je više od 90% tromboza kod novorođenčadi i oko 66% tromboza djece starije dobi povezano s prisutnošću središnjeg venskog katetera (SVK) (3). Pri tome je vjerojatnost za vensku tromboemboliju (VTE) veća ako je kateter postavljen u femoralnu ili potključnu venu, a manja ako je SVK postavljen u jugularnu venu. Kod pacijenata s malignom bolešću mehanizam koagulacije može biti poremećen zbog prirode same bolesti ili do poremećaja dolazi nakon primjene kemoterapije. Stoga se prije ugradnje središnjeg venskog katetera (SVK) kod pedijatrijskih onkoloških bolesnika savjetuje provesti probir na najčešće genetski naslijedene protrombotske defekte (faktor V Leiden, protrombin 20210A) te odrediti razinu lipoproteina a (4). Od ostalih čimbenika koji dovode do razvoja VTE kod djece posebno je važno naglasiti dehidraciju, neke infekcije (npr. varicella), perinatalnu asfiksiju, hiperviskozni sindrom novorođenčadi, hipovolemiju, nefrotski sindrom,

traumu, kirurški zahvat, antifosfolipidni sindrom te kod adolescentica uporabu oralnih kontraceptiva koji sadrže estrogen (posebice u prvih šest mjeseci terapije) (5,6). Kod djece s urođenim srčanim greškama koje su kirurški ispravljene postoji mogućnost razvoja izolirane intrakardijalne tromboze koja je u tom slučaju najčešće asimptomatska.

Kada tromboza nastupi u kliničkoj slici uglavnom nalazimo oteklinu, crvenilo i proširene vene – najčešće na ekstremitetima, a pacijent javlja bolnost. Kod djece (uključujući i djecu oboljelu od ALL) duboka venska tromboza (DVT) se najčešće razvija u gornjem venskom sustavu (kod 90% novorođenčadi i 60% starije djece). Kada nije povezana s prisutnošću SVK tromboza se češće javlja na donjim ekstremitetima. Pri razvoju DVT u venama gornjih ekstremiteta tromb se može protezati sve do gornje šuplje vene te opstruirati njezin lumen. Pri tome dolazi do razvoja sindroma gornje šuplje vene koji se očituje oticanjem vrata i lica, obostranim periorbitalnim edemom, glavoboljom, vrtoglavicom, znojenjem lica, a simptomi se pojavljaju nakon izvođenja Val-salvinog pokusa. Tromboza se kod djece može javiti i u obliku moždanog udara do kojeg doveđe najčešće arterijska tromboza ili tromboza venskih sinus. Tromboza moždanih venskih sinusova prezentira se jakom i trajnom, najčešće retrobulbarnom glavoboljom, poremećajima vida, ispadima kranijalnih živaca te epileptičkim napadajima kod starije djece. DVT može dovesti do plućne embolije (PE) koja se klinički očituje u rasponu od asimptomatskih slučajeva pa do naglog nastanka dispneje, cijanoze, ubrzanog disanja i jakih bolova u prsištu. Kod djece je češća PE pri kojoj nema simptoma zbog povećane plućne rezerve.

Kod sumnje na postojanje tromboze kao prva dijagnostička pretraga trebao bi se primijeniti Doppler ultrazvuk. Međutim, Doppler ultrazvukom se teško mogu vizualizirati gornja šuplja vena, potključne vene, brahiocefalične vene i dublje položene vene. Ako je nalaz Dopplera nejasan, a postoji utemeljena sumnja na trombozu, kao sljedeći korak trebala bi se koristiti CT ili MR venografija (7). Kod sumnje na plućnu emboliju primjenjuje se spiralni CT i/ili ventilacijsko-perfuzijska scintigrafija. Uz navedeno potrebno je učiniti kompletну krvnu sliku, D-dimere, odrediti aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme (APTV), protrombinsko vrijeme (PT) i fibrinogen u serumu. D-dimeri su fragmenti fibrina koji nastaju njegovom razgradnjom i negativan test na D-dimere u pravilu isključuje trombozu. Pozitivan test na D-dimere ne mora nužno značiti sigurnu

prisutnost tromboze pa se ova pretpostavka treba potvrditi npr. ultrazvukom.

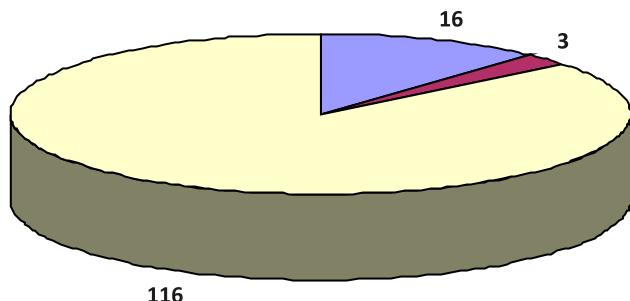
U našem istraživanju analizirali smo medicinsku dokumentaciju djece koja su liječena zbog akutne limfoblastične leukemije u Zavodu za pedijatrijsku hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju Medicinskog fakulteta KBC-a Zagreb u razdoblju od 1. siječnja 2003. do 31. prosinca 2010. te smo pratili učestalost venskih tromboza u toj skupini djece.

Ciljevi rada bili su utvrditi učestalost venskih tromboza kod djece liječene od akutne limfoblastične leukemije, utvrditi najčešće mjesto nastanka tromboze te povezanost prirođenih čimbenika trombofilije i nastanka tromboze. U navedenom razdoblju liječeno je 135 bolesnika kojima je postavljena dijagnoza akutne limfoblastične leukemije (ALL). U sklopu postavljanja dijagnoze učinjena je kompletna hematološka i biokemijska obrada iz koje smo doznali vrijednosti koagulacijskih parametara (antitrombin III, protein C, protein S, D-dimeri), a iz nalaza molekularno-bioloških pretraga (PCR analiza) dobili smo podatke o postojanju mutacija za faktor V Leiden i za faktor II 20210A.

## REZULTATI

Ispitanu skupinu činilo je 135 bolesnika s ALL u dobi od 3 mjeseca do 16 godina (prosječna dob  $6,09 \pm 5,65$  godina), od toga 88 dječaka (65,19%) i 47 djevojčica (34,81%). Svi ispitanici su imali ugrađen središnji venski kateter (SVK) tipa Broviac-Hickmann. Bolesnici su liječeni prema protokolu ALL-IC-BFM 2002 (za razdoblje od 1.11.2002. do 31.12.2009.), te ALL-IC-BFM 2009 (za razdoblje od 1.01.2010. do 31.12.2010.).

Tromboza je nađena u 19 bolesnika (14,07%), i to u 16 (11,85%) na mjestu insercije SVK, a u tri bolesnika (2,22%) tromboza se razvila u središnjem živčanom sustavu (Slika 1.). Dijagnoza tromboze postavljena je na osnovu kliničke slike i povišene razine D-dimera, te potvrđena radiološkim slikovnim pretragama (UZV s Color Dopplerom, venografija, MSCT i MR mozga).

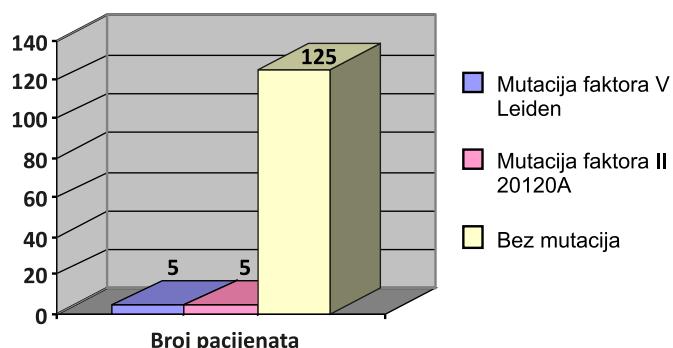


- Tromboza na mjestu insercije SVK-a (11.85%)
- Tromboza u SŽS-u (2.22%)
- Bez tromboze (85.93%)

**Slika 1. Učestalost tromboze u bolesnika s ALL liječenih u Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju KBC Zagreb u razdoblju od 1.01.2003. do 31.12.2010.**

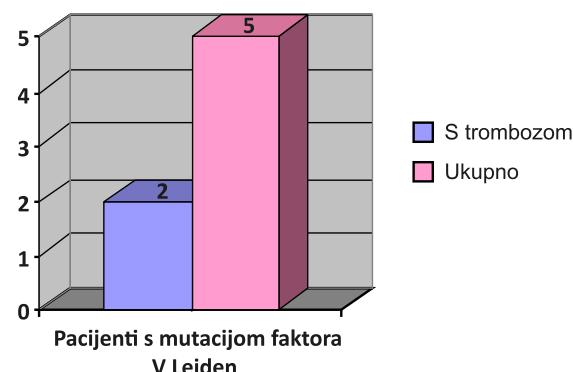
Sva tri bolesnika s trombozom u središnjem živčanom sustavu su bili adolescenti i tromboza se razvila u drugom dijelu induksijske terapije. Klinički se očitovala kod sve trojice kao jaka retrobulbarna bol. Jedan od bolesnika je heterozigot za faktor V Leiden i razvio je manji ishemijski inzult, uz glavobolju imao je i kvalitativni ispad svijesti, drugi bolesnik je imao malpoziciju SVK (vrh katetera bio je usmjeren u jugularnu venu). Kod trećeg bolesnika bolest se očitovala jakom retrobulbarnom boli i fotofobijom.

Od ukupnog broja ispitanika, 10/135 bolesnika su nosioci mutacija za naslijedne protrombotske poremećaje; svi su bili heterozigoti. Pet bolesnika je imalo mutaciju faktora V Leiden (3,7%), a 5 bolesnika (3,7%) su nosioci mutacije faktora II 20120A (Slika 2.).

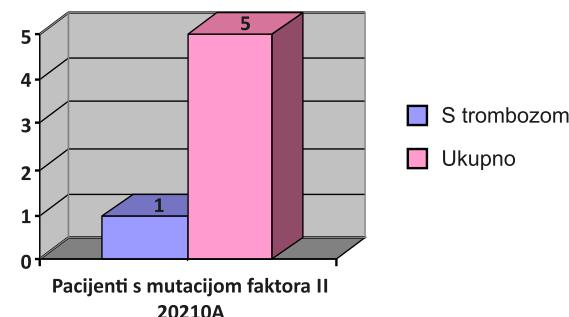


**Slika 2. Učestalost naslijednih protrombotskih poremećaja u ispitivanoj skupini bolesnika s ALL.**

Od 10 bolesnika s naslijednim protrombotskim poremećajima, 3/10 (30%) je razvilo trombozu, i to 2/5 bolesnika s mutacijom faktora V Leiden (Slika 3.) i 1/5 bolesnika s mutacijom faktora II 20120A (Slika 4.). U djece koja nisu nosioci niti jedne mutacije faktora zgrušavanja tromboza je nastala u 16/125 (12,8%) bolesnika.

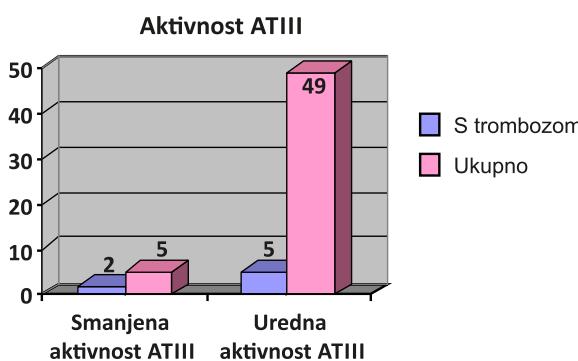


**Slika 3. Učestalost tromboza u bolesnika s ALL i mutacijom faktora V Leiden.**



**Slika 4. Učestalost tromboza u bolesnika s ALL i mutacijom faktora II 20120A**

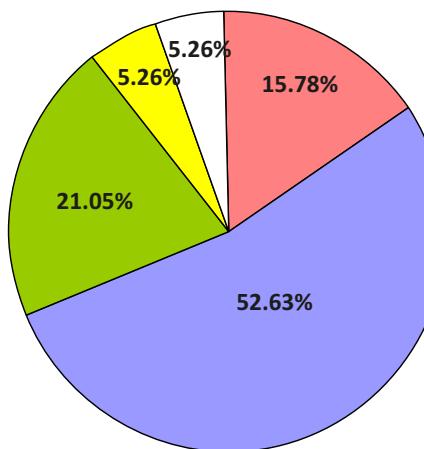
U 54 bolesnika izmjerena je i aktivnost antitrombina III (ATIII). U 5/54 bolesnika nađena je snižena aktivnost ATIII. Tromboza je nađena u 2/5 bolesnika (40%) sa sniženom aktivnošću ATIII, dok je u skupini bolesnika s normalnom aktivnošću ATIII 5/49 bolesnika (10,2%) razvilo trombozu (Slika 5.).



**Slika 5. Učestalost tromboza u bolesnika s ALL u ovisnosti o aktivnosti antitrombina III.**

Analizom prikupljenih podataka nije nađena statistički značajna povezanost između nastanka tromboze i spola i dobi bolesnika, broja leukocita na početku liječenja, imunološkog podtipa akutne limfatične leukemije, te razine D-dimera prilikom početka liječenja. Također nije nađena statistički značajna razlika u pojavnosti tromboze među skupinama djece s genetskom sklonosću i bez utvrđene genetske sklonosti za nastanak tromboze (Fisherov egzaktni test –  $p=0.133$ ).

Ispitana je i učestalost tromboze u ovisnosti od broja prisutnih čimbenika rizika, pri čemu su koagulacijske čimbenike rizika činile sljedeće varijable: snižene vrijednosti antitrombina III, proteina C i proteina S, povišene vrijednosti D-dimera i prisutnost mutacija za faktor V Leiden i FII 20210A. Od ukupnog broja bolesnika koji su razvili trombozu, gotovo polovica bolesnika (10/19; 52,63%) imala je jedan čimbenik rizika; u 3/19 (15,78%) bolesnika nije bio prisutan niti jedan čimbenik rizika; 4/19 bolesnika (21,05%) imala su dva čimbenika rizika, a po jedan bolesnik imao je tri (1/19; 5,26%), odnosno četiri (1/19; 5,26%) čimbenika rizika (Slika 6).



- Bez faktora rizika (15.78%)
- S jednim faktorom rizika (52.63%)
- S dva faktora rizika (21.05%)
- S tri faktora rizika (5.26%)
- S četiri faktora rizika (5.26%)

*Slika 6. Učestalost tromboza u ovisnosti o broju koagulacijskih čimbenika rizika.*

## RASPRAVA

Venska tromboza česta je i potencijalno opasna komplikacija u djece tijekom liječenja akutne limfoblastične leukemije. Učestalost se procjenjuje na 1,7–36,7% (8), ovisno o vrsti terapijskog protokola koji se koristi pri liječenju, te o tome radi li o simptomatskim trombozama ili su uključene i asimptomatske tromboze otkrivene radiološkim dijagnostičkim metodama, bez prethodnog postojanja kliničke slike. Rizik za nastanak simptomatskih tromboza procjenjuje se na oko 5%-18% (9).

U našoj skupini djece s ALL tromboza je nađena u 14,07% bolesnika. Svi su bolesnici inicijalno imali neki od kliničkih simptoma tromboze, a tromboza je potom potvrđena laboratorijskom (D-dimeri) i radiološkom (UZV s Color Dopplerom, venografi-

ja, MSCT ili MR mozga) dijagnostičkom obradom. Učestalost tromboze u naših bolesnika podudara se s učestalošću simptomatskih tromboza u drugim provedenim studijama. U skladu s podacima iz literature i u naših bolesnika tromboza se najčešće razvila na mjestu insercije SVK (10,11).

Rizik za nastanak tromboze u bolesnika s ALL u najvećoj je mjeri povezan s prisutnošću središnjeg venskog katetera te primjenom lijekova koji djeluju protrombotski, a od kojih se kao najvažniji čimbenici rizika spominju steroidi i L-asparaginaza. Najveći rizik za nastanak tromboze je tijekom inducijskog dijela liječenja, uslijed združenog djelovanja same osnovne bolesti (stanje hiperkoagulabilnosti potaknuto blastima) i istovremene primjene steroida (koji imaju prokoagulacijsku aktivnost) i L-asparaginaze (koja smanjuje sintezu antikoagulacijskih čimbenika).

Obzirom na dob bolesnika, dodatni čimbenik rizika za nastanak tromboze je razdoblje adolescenциje (12,13). Adolescenti imaju poremećen fibrinolički odgovor nakon venske okluzije u usporedbi s odraslim ispitanicima. Sva tri naša bolesnika koja su razvila vensku trombozu u središnjem živčanom sustavu bili su adolescenti i primali su inducijsku kemoterapiju.

Podaci o povezanosti venske tromboze u bolesnika s ALL i prisutnosti naslijednih koagulacijskih poremećaja su proturiječni. Pretpostavka kako mutacija faktora V Leiden ili faktora II 20210A povećava rizik za nastanak tromboze potvrđena je u nekim studijama (14,15,16), međutim u drugim studijama nije nađena statistički značajna povezanost tromboze i trombofilije (10,11,17). Iako trombofilija možda ne utječe na povećanje incidencije venske tromboze, čini se kako bi mogla utjecati na težinu kliničke slike (11).

Učestalost mutacija za faktor V Leiden (3,73%) i faktor II 20210A (3,73%) u našoj skupini ispitanika s ALL u skladu je s poznatom učestalošću nositelja navedenih mutacija u zdravoj odrasloj populaciji u Hrvatskoj od oko 4% (18,19). Od 10 bolesnika s mutacijama faktora V Leiden ili faktora II 20210A, 3 bolesnika su razvila vensku trombozu. U našoj skupini ispitanika nismo našli statistički značajnu povezanost tromboze i naslijednih koagulacijskih poremećaja, no zbog malog broja ispitanika nije moguće donijeti definitivne zaključke.

Iako je rizik za nastanak venske tromboze u djece s ALL nedvojbeno povećan, za sada još ne postaje sustavne preporuke za prevenciju i liječenje venske tromboze u djece s ALL. Samo provođenjem multi-

centričnih studija i prikupljanjem podataka na velikom broju bolesnika moći će se otkriti svi postojeći čimbenici koji pogoduju razvoju venske tromboze te napraviti znanstveno utemeljeni postupnici za prevenciju, dijagnostiku i liječenje venske tromboze u djece s ALL.

#### Literatura:

1. Dahlback B. Inherited thrombophilia resistance to activated protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism. *Blood*. 1999;85(3):607-14.
2. Cumming AM, Keeney S, Salden A, Bhavnani M, Shwe KH, Hay CR. The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. *Br J Haematol*. 1997;98(2):353-5.
3. Monagle P, Adams M, Mahoney M, i sur. Outcome of pediatric thromboembolic disease: a report from the Canadian Childhood Thrombophilia registry. *Pediatr Res*. 2000;47(6):763-6.
4. Knofler R, Dinger J, Kabus M, i sur. Thrombolytic therapy in children-clinical experiences with recombinant tissue-plasminogen activator. *Semin Thromb Hemost*. 2001;27(2):169-73.
5. Josephson C, Nuss R, Jacobson L, i sur. The varicella-autoantibody syndrome. *Pediatr Res*. 2001;50(3):345-52.
6. Rosendaal F, Helmerhorst F, Vandenbroucke J. Female hormones and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(2):201-10.
7. Hirsh J, Lee AYY. How we diagnose and treat deep vein thrombosis. *Blood*. 2002;99:3102-10.
8. Payne JH, Vora AJ. Thrombosis and acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2007;138:430–445.
9. Caruso V, Iacoviello L, Di Castelnuovo A, Storti S, Mariani G, de Gaetano G, i sur. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. *Blood*. 2006;108(7):2216-22.
10. Mitchell LG, Andrew M, Hanna K, i sur. A prospective cohort study determining the prevalence of thrombotic events in children with acute lymphoblastic leukemia and a central venous line who are treated with L-asparaginase: results of the Prophylactic Antithrombin Replacement in Kids with Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with Asparaginase (PARKAA) Study. *Cancer*. 2003;97(2):508-16.
11. Farinasso L, Bertorello N, Garbarini L, i sur. Risk factors of central venous lines-related thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia during induction therapy: a prospective study. *Leukemia*. 2007; 21: 552–556.
12. Monagle P, Chan AK, Albisetti M, Vegh P, Andrew M, Mitchell L. Fibrinolytic system in adolescents: response to venous occlusion stress tests. *Pediatr Res*. 2003;53:333-337.
13. Nowak-Göttl U, Junker R, Kreuz W, i sur. Risk of recurrent venous thrombosis in children with combined prothrombotic risk factors. *Blood*. 2001;97(4):858-62.
14. Nowak-Göttl U, Aschka I, Koch HG, i sur. Resistance to activated protein C (APCR) in children with acute lymphoblastic leukaemia--the need for a prospective multicentre study. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1995;6(8):761-4.
15. Nowak-Göttl U, Wermes C, Junker R, i sur. Prospective evaluation of the thrombotic risk in children with acute lymphoblastic leukemia carrying the MTHFR TT 677 genotype, the prothrombin G20210A variant, and further prothrombotic risk factors. *Blood*. 1999;93(5):1595-9.
16. Lipay NV, Dmitriev VV, Borisenok MB. Thrombotic complications during cancer treatment in children. *Exp Oncol*. 2007;29:231-235.
17. Chung B H-Y, Shiu-Kwan Ma E, Khong P-L, i sur. Inherited thrombophilic factors do not increase central venous catheter blockage in children with malignancy. *Pediatr Blood and Cancer*. 2008;51:509-512.
18. Coen D, Zadro R, Honović L, Banfić Lj, Stavljenić Rukavina A. Prevalence and association of the factor V Leiden and prothrombin G20210A in healthy subjects and patients with venous thromboembolism. *Croat Med J*. 2001;42:488-92.
19. Alfirevic Z, Simundic AM, Nikolac N, i sur. Frequency of factor II G20210A, factor V Leiden, MTHFR C677T and PAI-1 5G/4G polymorphism in patients with venous thromboembolism: Croatian case control study. *Biochimia Medica*. 2010;20(2):229-35.

## Registar oboljelih od multiplog mijeloma – pregled dosadašnjih analiza

Josip Batinić, dr. med.

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti,  
KBC Zagreb, i Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu  
E-pošta: batinic.josip@gmail.com

Registrar oboljelih od multiplog mijeloma i drugih poremećaja plazma stanica započeo je s aktivnim radom u listopadu 2008. godine. Od tada, registrar je više puta bio predstavljan na različitim sastancima, uključujući i sastanke Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem te radne skupine za multipli mijelom unutar Krohem-a, na kojima se izvještavalo o stanju u registru, raspravljalo se o eventualnim nedostatcima i načinima kako unaprijediti registrar, a ujedno i motiviralo sudionike na aktivno sudjelovanje u izradi i popunjavanju registra.

Krajem 2010. godine registrar je predstavljen na sastanku Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem u Splitu. Tada je učinjena i kraća statističko-epidemiološka obrada. U registrar je do prosinca 2010. bilo upisano 514 bolesnika, kako je prikazano u Tablici 1.

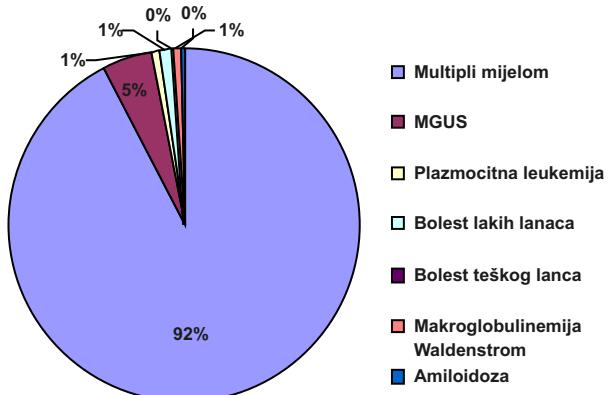
**Tablica 1.**

| CENTAR                         | BROJ UPISANIH BOLESNIKA |
|--------------------------------|-------------------------|
| KBC Zagreb                     | 137                     |
| KBC Split                      | 53                      |
| OB Koprivnica                  | 42                      |
| KBC Osijek                     | 41                      |
| KB Dubrava                     | 35                      |
| OB Karlovac                    | 30                      |
| OB Šibenik                     | 30                      |
| KBC Rijeka                     | 30                      |
| OB Varaždin                    | 22                      |
| KBC "Sestre milosrdnice"       | 21                      |
| KB Merkur                      | 19                      |
| OB Dubrovnik                   | 16                      |
| OB Slavonski Brod              | 12                      |
| OB Virovitica                  | 10                      |
| KB Sveti Duh                   | 7                       |
| OB Sisak                       | 5                       |
| OB Zadar                       | 4                       |
| OB Čakovec; OB Požega; OB Pula | 0                       |
| <b>UKUPNO</b>                  | <b>514</b>              |

Analizom podataka prema dobi i spolu dobiveni su slijedeći podaci: u registrar je upisano 259 bolesnika i 255 bolesnica, u rasponu dobi od 29 do 110 godina (vjerojatno pogrešno unesena vrijednost?), s očekivanim medijanom dobi od 65 godina.

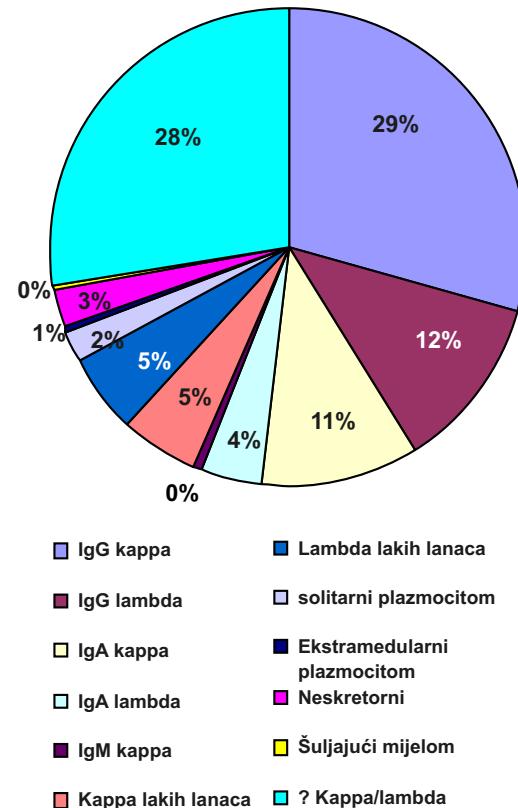
Očekivano, upisano je najviše bolesnika s multiplim mijelom (473), slijede bolesnici s MGUS-om (24), plazmocitnom leukemijom (4), bolesti lakih lanaca (5), Waldenströmovom makroglobulinemijom (4)

te bolesti teških lanaca (1) i amiloidozom (1) (Slika 1.).



**Slika 1.**

Učinjena je analiza multiplih mijeloma prema tipu monoklonskog proteina prema kojоj je najčešći tip multiplog mijeloma IgG kappa (140 bolesnika), zatim IgG lambda (55), IgA kappa (50), IgA lambda (20), kappa lakih lanaca (25) i lambda lakih lanaca (25). Analiza je također pokazala da se za veliki broj bolesnika (132) nije moglo utvrditi koji tip monoklonskog lanca produciraju (nije unešen podatak o imunoglobulinima ili su vrijednosti imunoglobulina u granicama normale) (Slika 2.).



**Slika 2.**

Prema stadiju bolesti najveći broj bolesnika je bio stadija III prema Durie-Salmonovoj klasifikaciji, odnosno stadija I prema ISS klasifikaciji (Tablica 2.).

**Tablica 2.**

|            | Durie-Salmon klasifikacija | ISS klasifikacija |
|------------|----------------------------|-------------------|
| Stadij I   | 151                        | 271               |
| Stadij II  | 94                         | 95                |
| Stadij III | 228                        | 107               |

Od ukupnog broja upisanih bolesnika 197 ih je procijenjeno kao kandidatima za transplantaciju, dok je njih 317 procijenjeno da nisu kandidati za transplantaciju. Bolesnici u kojih se planira liječenje transplantacijom, kao prvu terapiju najčešće su primali polikemopterapiju po VAD protokolu, dok su u drugoj skupini (koji nisu kandidati za transplantacijsko liječenje) najčešće primali početnu terapiju po MP/T protokolu. Za velik broj bolesnika podatak je nepoznat (Tablica 3.).

**Tablica 3.**

| POČETNA TERAPIJA             |     |                                   |     |
|------------------------------|-----|-----------------------------------|-----|
| KANDIDATI ZA TRANSPLANTACIJU |     | NISU KANDIDATI ZA TRANSPLANTACIJU |     |
| VAD                          | 165 | MP                                | 135 |
| Dexamethason                 | 4   | MPT                               | 27  |
| Dexa.+ Tahlidomid            | 3   | VAD                               | 63  |
| Thalidomid                   | 1   | VMCP                              | 8   |
| MP                           | 3   | Dexamethason                      | 21  |
| MPT                          | 4   | Dexa.+Thalidomid                  | 3   |
| CTD                          | 1   |                                   |     |
| VCAP                         | 1   |                                   |     |
| Nepoznato                    | 15  | Nepoznato                         | 60  |

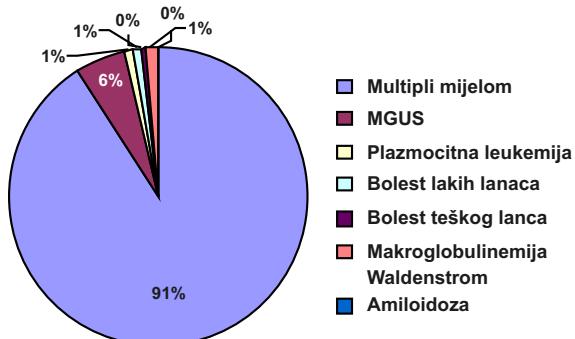
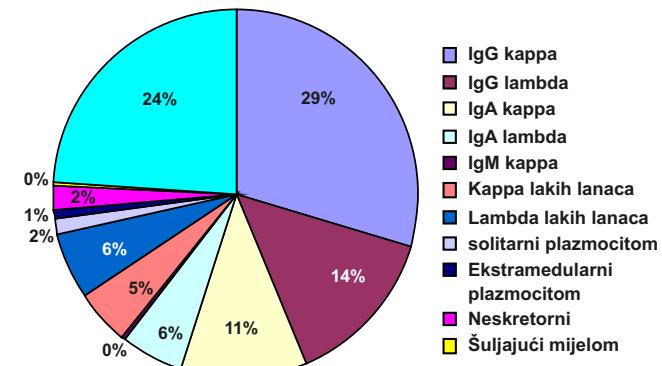
Registrar je posljednji put predstavljen na sastanku Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti Krohem u studenom 2011. u Puli. Također je učinjena slična analiza podataka kao i za 2010. godinu čiji rezultati su prikazani u tablicama i grafovima.

**Tablica 4. Broj upisanih bolesnika po centrima.**

| CENTAR                   | BROJ UPISANIH BOLESNIKA |
|--------------------------|-------------------------|
| KBC Zagreb               | 170                     |
| KBC Split                | 76                      |
| KB Merkur                | 72                      |
| KBC Rijeka               | 57                      |
| OB Koprivnica            | 49                      |
| KBC Osijek               | 48                      |
| KB Dubrava               | 37                      |
| OB Varaždin              | 36                      |
| OB Šibenik               | 34                      |
| KBC "Sestre milosrdnice" | 30                      |
| OB Karlovac              | 30                      |
| OB Slavonski Brod        | 18                      |
| OB Dubrovnik             | 18                      |
| OB Pula                  | 13                      |
| OB Virovitica            | 12                      |
| OB Sisak                 | 9                       |
| KB Sveti Duh             | 8                       |

|               |            |
|---------------|------------|
| OB Zadar      | 5          |
| OB Čakovec;   | 5          |
| OB Požega;    | 0          |
| <b>UKUPNO</b> | <b>727</b> |

Analizom podataka prema dobi i spolu dobiveni su slijedeći podatci: u registar je upisano 368 bolesnika i 359 bolesnica, u rasponu dobi od 29 do 108 godina (vjerojatno pogrešno unesena vrijednost?), s očekivanim medijanom dobi od 65 godina. Bolesnici koji su umrli za vrijeme liječenja je bilo 132.

**Slika 3. Podjela bolesnika prema dijagnozi.****Slika 4. Podjela bolesnika s multiplim mijelomom ovisno o tipu monoklonskog proteina.**

|            | Durie-Salmon klasifikacija | ISS klasifikacija |
|------------|----------------------------|-------------------|
| Stadij I   | 192                        | 361               |
| Stadij II  | 144                        | 137               |
| Stadij III | 325                        | 163               |

**Tablica 5. Podjela prema stadiju bolesti.**

| POČETNA TERAPIJA             |     |                                   |     |
|------------------------------|-----|-----------------------------------|-----|
| KANDIDATI ZA TRANSPLANTACIJU |     | NISU KANDIDATI ZA TRANSPLANTACIJU |     |
| VAD                          | 234 | MP                                | 191 |
| Dexamethason                 | 5   | MPT                               | 27  |
| Dexa.+ Tahlidomid            | 3   | VAD                               | 88  |
| Thalidomid                   | 1   | VMCP                              | 8   |
| MP                           | 10  | Dexamethason                      | 34  |
| MPT                          | 4   | Dexa.+Thalidomid                  | 3   |
| CTD                          | 1   | CTD                               | 1   |
| VCAP                         | 1   |                                   |     |
| Nepoznato                    | 23  | Nepoznato                         | 93  |

**Tablica 6. Podjela prema početnoj terapiji.**

## Tandem transplantacija krvotvornih matičnih stanica u liječenju oboljelih od multiplog mijeloma – rezultati Zavoda za hematologiju KBC Zagreb

**Dr. sc. Nadira Duraković, prof. dr. sc. Damir Nemet**

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb, i Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

E-pošta: nadira@mef.hr, dnemet@mef.hr

Danas, jednako kao i prije 15 godina, standard terapije nakon postavljene dijagnoze simptomatskog multiplog mijeloma predstavlja primjena induksijske terapije nakon koje slijedi primjena mijeloablativne kemoterapije i transplantacija autolognih hematopoetskih matičnih stanica. Iako je tijekom vremena u svijetu došlo do promjene na polju induksijske terapije, i danas je to uglavnom bortezomib-bazirana terapija, u našim uvjetima kemoterapija po VAD protokolu i dalje predstavlja standard. I dok traje rasprava koji bortezomib-bazirani protokol predstavlja najbolju uvodnu terapiju, većina se slaže da je u prvoj liniji liječenja potrebno primijeniti autolognu transplantaciju, obzirom na dokazanu djelotvornost metode (1). Nadalje, prethodno je pokazano bolesnici liječeni tandem transplantacijom imaju bolje preživljenje u usporedbi s bolesnicima liječenim jednom transplantacijom (2,3), a korisnost dvostrukе transplantacije prvenstveno se odnosila na bolesnike koji prvom transplantacijom nisu postigli barem nCR (VGPR) (2,3).

U našem smo centru krajem 1994. godine započeli prospективno praćenje bolesnika oboljelih od multiplog mijeloma odmakle faze koji su liječeni dvostrukom transplantacijom u prvoj liniji liječenja. Cilj ove studije bio je procijeniti provedljivost, učinkovitost i toksičnost ovakvog terapijskog pristupa, osobito uzimajući u obzir da je riječ o starijoj skupini bolesnika. Uključeno je ukupno 107 bolesnika, medijan dobi iznosio je 54 godine (raspon 32-66 godina). Bilo je neznatno više žena (59 bolesnica) nego muškaraca (48 bolesnika). Najviše bolesnika imalo je IgG tip mijeloma, 54%, IgA je imalo 18%, jedan bolesnik imao je IgD tip (1%), bolest lakih lanaca 18%, dok je nesekretorni mijelom imalo 9% bolesnika. Najviše bolesnika imalo je stadij mijeloma kod dijagnoze IIIA (65%) prema Salmon-Durie klasifikaciji, stadij IIA imalo je 19% bolesnika dok je stadij IIB imalo 14% bolesnika.

Ukupno 83 bolesnika od 107 uključenih, odnosno 77,5% liječeno je dvostrukom transplantacijom. Analize su učinjene na temelju „intention to treat”, odnosno analiza je obuhvatila sve bolesnike koje se

namjeravalo liječiti tom metodom, bez obzira jesu li u konačnici i primili dvostruku transplantaciju. Razlozi za odustajanje od zadanog protokola bili su sljedeći: 4 bolesnika nisu sakupila adekvatan broj stanica za dvostruku transplantaciju, 10 bolesnika imalo je neadekvatan fizički status prema mišljenju transplantacijskog tima, u 7 bolesnika nadležni liječnik donio je odluku da se ne provede druga transplantacija, 1 bolesnik je odbio drugu transplantaciju, 1 bolesnik nije transplantiran radi ranog relapsa, a u jednom slučaju je razlog nepoznat. Kao uvodnu terapiju bolesnici su primili VAD protokol, najveći broj bolesnika primio je 4 ciklusa terapije (28%), 6 ciklusa terapije primilo je 22% bolesnika, 5 ciklusa 8% bolesnika a 3 ciklusa 5% bolesnika, dok je >6 ciklusa primilo 7% bolesnika. Dvadeset i devet posto bolesnika primilo je neku drugu terapiju kao uvodnu terapiju. Bolesnici su uglavnom dobili samo jednu liniju liječenja prije transplantacije, no 14% bolesnika primilo je dvije linije liječenja. U 20% bolesnika je prije transplantacije primijenjena radioterapija.

U svrhu mobilizacije perifernih matičnih stanica koristili smo visoke doze ciklofosfamida u kombinaciji s primjenom čimbenika rasta granulocita. Medijan broja sakupljenih CD34+stanica u transplantatu iznosio je  $7,88 \times 10^6/\text{kg}$  tjelesne težine (raspon  $0,28-27,72 \times 10^6/\text{kg}$  TT). Medijan broja CFU-GM u transplantatu iznosio je  $46,19 \times 10^4/\text{kg}$  TT (raspon  $4,26-179,78 \times 10^4/\text{kg}$  TT).

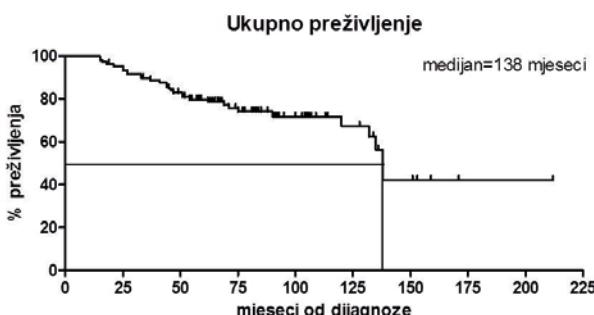
Medijan praćenja naše kohorte iznosi 58 mjeseci. Medijan ukupnog preživljjenja skupine iznosi 138 mjeseci (Slika 1.) uz postizanje platoa nakon 11 godina, dok medijan preživljjenja bez znakova bolesti iznosi 77 mjeseci (Slika 2.). Analiza odgovora na terapiju u pojedinim fazama liječenja pokazala je da nakon uvodne terapije a prije 1. transplantacije tek 8,5% bolesnika postiglo kompletну remisiju (KR) ili vrlo dobru parcijalnu remisiju (VGPR). Nakon prve transplantacije udio bolesnika raste na 42,3%, da bi nakon 2. transplantacije on iznosio 71,8%, uz 26,2% bolesnika koji su postigli parcijalnu remisiju i tek 1,9% bolesnika u kojih je zabilježena progresija bolesti nakon 2. transplantacije, čime se pokazuje aditivni učinak koji ima druga transplantacija i njezina važnost u postizanju kompletne remisije.

Obzirom da je prethodno pokazano da najveću korist od druge transplantacije imaju bolesnici koji nakon prve nisu postigli barem VGPR, željni smo analizirati učinak postizanja kompletne remisije

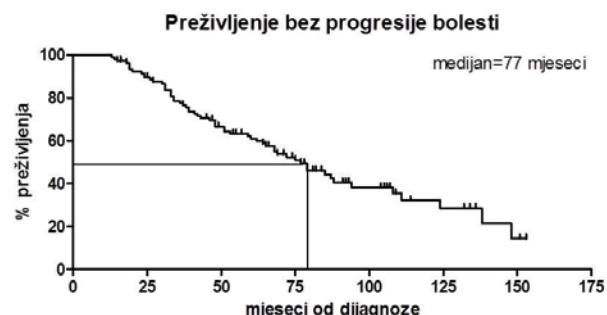
sije nakon prve odnosno druge transplantacije na ukupno preživljenje i preživljenje bez znakova bolesti. Analiza je pokazala da bolesnici koji su postigli KR/VGPR nakon prve transplantacije nemaju značajno bolje ukupno preživljenje ni preživljenje bez znakova bolesti, dok postignuta KR/VGPR nakon druge transplantacije donosi značajnu prednost u ukupnom preživljenju i preživljenju bez znakova bolesti (Slika 3), što govori u prilog značaju druge transplantacije u konsolidaciji učinka liječenja i na neki način produbljivanju postignute kompletne remisije, koja je presudna u postizanju dugotrajnog preživljenja bolesnika.

Smrtnost vezana za postupak bila je unutar očekivanoga i dosad objavljenih podataka. Ukupno su 4 od 107 bolesnika umrli od komplikacija vezanih uz transplantaciju, što čini ukupnu smrtnost od 3,4%, pri čemu moramo naglasiti da su 3 bolesnika umrla unutar 100 dana od transplantacije, te da je u jedne bolesnice zabilježena i istovremena progresija bolesti, dok je četvrti bolesnik umro 6 mjeseci nakon transplantacije od citomegalovirusne infekcije.

U zaključku možemo naglasiti da je tandem transplantacija kao prva linija terapije multiplog mijeloma učinkovita terapija koja donosi dugotrajanje preživljenje bez znakova bolesti kao i ukupno preživljenje. Smatramo da je postizanje platoa krivulje ukupnog preživljenja dijelom zasluga mogućnosti primjene „novih“ lijekova nakon relapsa bolesti. No, iako „novi“ lijekovi postaju preferirana opcija u inducijskoj terapiji multiplog mijeloma, autologna transplantacija i dalje bez sumnje zauzima ključno mjesto u procesu liječenja oboljelih.

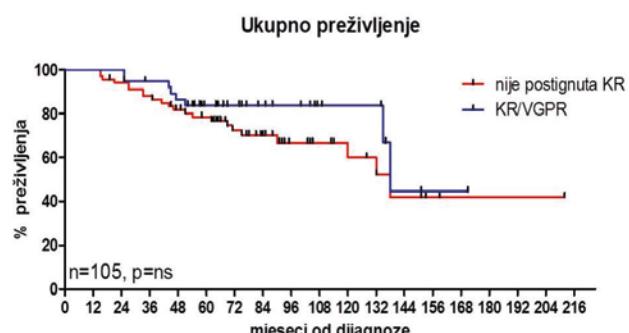


Slika 1. Ukupno preživljenje.

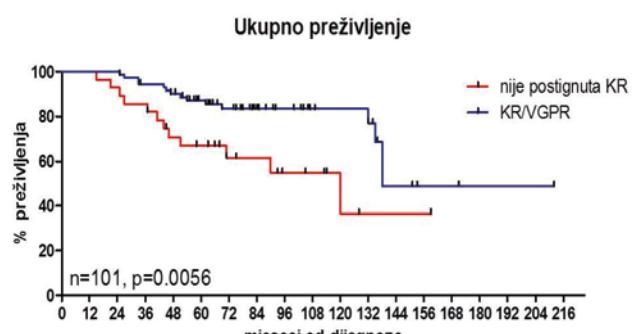


Slika 2. Preživljenje bez znakova bolesti.

A.



B.



Slika 3. Ukupno preživljenje u odnosu na postignutu KR/VGPR nakon 1. transplantacije (A) i druge transplantacije (B).

#### Literatura:

1. Barlogie B, Jagannath S, Vesole DH et al. Blood. 1997; 89(3): 789-793.
2. Cavo M, Tosi P, Zamagni E et al. J Clin Oncol. 2007;25(17):2434-41.
3. Attal M, Harousseau JL, Facon T et al. N Engl J Med. 2003;349(26):2495-502.

## Smjernice KROHEM-a za prevenciju i liječenje mučnine i povraćanja izazvanih antitumorskim lijekovima i postupcima

**Dr. sc. Njetočka Gredelj Šimec<sup>1</sup>,**

**prof. dr. sc. Radovan Vrhovac<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinička bolnica Merkur, Zagreb

<sup>2</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

E-pošta: njetocka.gredelj@zg.t-com.hr, rvrhovac@mef.hr

Mučnina i povraćanje izazvani antitumorskim lijekovima i postupcima značajne su nuspojave liječenja koje osim što mogu izazvati teške komplikacije, često značajno smanjuju kvalitetu života bolesnika i dovode do njihove smanjene suradljivosti. Stoga je prije početka terapije potrebno odrediti individualni rizik bolesnika i emetogeni potencijal terapije te na temenu te dvije činjenice napraviti strategiju prevencije akutne i odgođene emeze.

### 1. Emetogeni rizik bolesnika i stupanj emetogenog potencijala pojedinih lijekova i postupaka

1.1. Postoje jasno definirane skupine bolesnika s povišenim rizikom za emezu. To su mlađe osobe, žene, naročito žene s anamnezom emeze u trudnoći, anksiozne osobe, osobe s negativnim iskustvom vezanim uz ranije liječenje.

Na individualni rizik utječe i proširenost osnovne bolesti (naročito ako je zahvaćen probavni sustav ili SŽS), komorbiditet te ostala terapija koja može ući u interakcije s antitumorskim lijekovima kao i s antiemeticima.

Važno je istaknuti da je prema osnovnom principu prevencije emeze uvijek bolje primijeniti preventiju višeg stupnja ukoliko postoje nejasnoće o visini individualnog rizika bolesnika. Ova preporuka proizlazi iz činjenice da je jednom nastalu mučninu i povraćanje vrlo teško liječiti i prevenirati u kasnijim ciklusima.

#### 1.1.2. Prema emetogenom potencijalu lijekovi se dijele u 4 skupine.

Lijekovi visokog emetogenog rizika će u više od 90% bolesnika izazvati mučninu i povraćanje, lijekovi umjernog emetogenog rizika će kod 30% do 90% bolesnika izazvati emezu, lijekovi niskog emetogenog rizika će kod 10 do 30% bolesnika izazvati emezu, dok će lijekovi minimalnog rizika izazvati emezu kod manje od 10% bolesnika.

U Tablici 1. su prikazani lijekovi (primjenjeni intravenski) prema njihovom emetogenom potencijalu (preuzeto iz NCCN v.2012)

**Tablica 1.**

| Kategorija emetogenog rizika   | Citostatici  |  |
|--|--|--|
| <b>Visoka (&gt;90% bolesnika bit će izloženo povraćaju ako se ne primjeni antiemetска profilaksma)</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>- A/C kombinacija*</li> <li>- cisplatin <math>\geq 50 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- ciklofosfamid <math>\geq 1,500 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- dakarbazin</li> <li>- doksorubicin <math>&gt;60 \text{ mg/m}^2</math></li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- epirubicin <math>&gt;90 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- ifosfamid <math>&gt;10 \text{ g/m}^2</math></li> <li>- karmustin <math>&gt;250 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- mekloretamin</li> <li>- streptozocin</li> </ul>  |
| <b>Umjereni (30-90% bolesnika bit će izloženo povraćaju ako se ne primjeni antiemetiska profilaksma)</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- aldesleukin <math>&gt;12-15 \text{ MIU/m}^2</math></li> <li>- altretamin</li> <li>- amifostin <math>&gt;300 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- arsenov trioksid</li> <li>- azacitidin</li> <li>- bendamustin</li> <li>- busulfan</li> <li>- cisplatin <math>&lt;50 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- ciklofosfamid <math>&lt;1,500 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- citarabin <math>&gt;200 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- daktinomicin</li> <li>- daunorubicin</li> </ul>                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>- doksorubicin <math>&lt;60 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- epirubicin <math>&lt;90 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- idarubicin</li> <li>- ifosfamid <math>&lt;10 \text{ g/m}^2</math></li> <li>- interferon alfa <math>\geq 10 \text{ MIU/m}^2</math></li> <li>- irinotekan</li> <li>- karboplatin</li> <li>- karmustin <math>\leq 250 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- klofarabin</li> <li>- melfalan</li> <li>- metotreksat <math>\geq 250 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- oksaliplatina</li> <li>- temozolomid</li> </ul> |
| <b>Niska (10-30% bolesnika bit će izloženo povraćaju ako se ne primjeni antiemetiska profilaksma)</b>      | <ul style="list-style-type: none"> <li>- amifostin <math>\leq 300 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- aldesleukin <math>\leq 12 \text{ MIU/m}^2</math></li> <li>- cetuksimab</li> <li>- citarabin <math>100-200 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- docetaksel</li> <li>- doksorubicin (liposomalni)</li> <li>- eribulin</li> <li>- etopozid</li> <li>- fluorouracil</li> <li>- floksuridin</li> <li>- gemcitabin</li> <li>- interferon alfa <math>&gt;5 \text{ do } &lt;10 \text{ MIU/m}^2</math></li> <li>- iksabepilon</li> <li>- kabazitaksel</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- katumaksumab</li> <li>- metotreksat <math>&gt;50 \text{ do } &lt;250 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- mitomicin</li> <li>- mitoksantron</li> <li>- paklitaksel</li> <li>- paklitaksel-albumin</li> <li>- panitumumab</li> <li>- pemtreksed</li> <li>- pentostatin</li> <li>- pralatreksat</li> <li>- romidepsin</li> <li>- tiotepa</li> <li>- topotekan</li> </ul>  |
| <b>Minimalna (&lt;10% bolesnika bit će izloženo povraćaju ako se ne primjeni antiemetiska profilaksma)</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- alemtuzumab</li> <li>- asparaginaza</li> <li>- bevacizumab</li> <li>- bleomicin</li> <li>- busulfan</li> <li>- citarabin <math>&lt;100 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- decitabin</li> <li>- denileukin diftitoks</li> <li>- deksrazoksan</li> <li>- fludarabin</li> <li>- interferon alfa <math>\leq 5 \text{ MIU/m}^2</math></li> <li>- ipilimumab</li> <li>- kladribin</li> <li>(2-klorodeoksiadenozin)</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- metotreksat <math>\leq 50 \text{ mg/m}^2</math></li> <li>- nelarabin</li> <li>- ofatumumab</li> <li>- pegaspargaza</li> <li>- peginterferon</li> <li>- rituksimab</li> <li>- temsirolimus</li> <li>- trastuzumab</li> <li>- valrubicin</li> <li>- vinblastin</li> <li>- vinkristin</li> <li>- vinorelbina</li> </ul>  |

\* kombinacija antraciklina i ciklofosfamida

U smjernicama vodećih svjetskih društava za palijativno liječenje naveden je emetogeni potencijal lijekova kad se primjenjuju u monoterapiji (za neke lijekove ovisno i o dozi) izuzev kombinacije antra-

ciklina i ciklofosfamida (A/C). Ova kombinacija je do unazad nekoliko godina u nekim od smjernica svrstavana u terapiju umjerenog emetogenog rizika uz opasku da se kod mlađih žena treba primijeniti prevencija kao da se radi o visokom emetogenom riziku, dok je u drugima svrstavana u terapiju visokog emetogenog rizika. Recentne smjernice kombinaciju antraciklina i ciklofosfamida svrstavaju u skupinu visokog emetogenog rizika. Valja napomenuti da se najčešće korištena A/C kombinacija u hematološkim protokolima nalazi u CHOP (CHOP-R) protokolu. Kako je to ujedno i jedan od najčešće korištenih protokola u hematologiji iz iskustva znamo da kod većine bolesnika on nema visoki emetogeni potencijal (vjerojatno zbog visokih doza kortikosteroida koje se primjenjuju u sklopu protokola). Stoga, unatoč činjenici da je u Tablici 1. A/C kombinacija svrstana u terapiju visokog rizika, smatramo da je kod primjene CHOP (CHOP-R) protokola dovoljno držati se preporuka za prevenciju emeze umjernog rizika.

**1.2.2. Lijekovi koji se primjenjuju *per os* svrstani su u dvije skupine emetogenog potencijala, skupinu visokog i umjerenog rizika, te skupinu niskog i minimalnog rizika.**

U Tablici 2. su prikazani lijekovi (primjenjeni *per os*) prema emetogenom potencijalu (preuzeto iz NCCN v.2012).

**Tablica 2.**

| Kategorija emetogenog rizika | Citostatici  |  |
|------------------------------|--|--|
| Visoka i umjereni            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- altretamin</li> <li>- busulfan &gt;4mg/dan</li> <li>- ciklofosfamid &gt;100mg/m<sup>2</sup>/dan</li> <li>- estramustin</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- etopozid</li> <li>- lomustin</li> <li>- prokarbazin</li> <li>- temozolomid &gt;75mg/m<sup>2</sup>/dan</li> </ul>  |
| Niska i minimalna            | <ul style="list-style-type: none"> <li>- beksaroten</li> <li>- busulfan</li> <li>- ciklofosfamid &lt;100 mg/m<sup>2</sup>/dan</li> <li>- dasatinib</li> <li>- eroltinib</li> <li>- everolimus</li> <li>- fludarabin</li> <li>- gefitinib</li> <li>- hidroksiureja</li> <li>- imatinib</li> <li>- kapecitabin</li> <li>- klorambucil</li> <li>- lapatinib</li> <li>- lenalidomid</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- melfalan</li> <li>- merkaptopurin</li> <li>- metotreksat</li> <li>- nilotinib</li> <li>- pazopanib</li> <li>- sorafenib</li> <li>- sunitinib</li> <li>- temozolomid &lt;75mg/m<sup>2</sup>/dan</li> <li>- talidomid</li> <li>- tiogvanin</li> <li>- topotekan</li> <li>- tretinojn</li> <li>- vandetanib</li> <li>- vorinostat</li> </ul> |

**1.3. Ovisno o području tijela na kojem se provodi terapija zračanjem, definirana su 4 stupnja emetogenosti radioterapije. U Tablici 3. je prikazan emetogeni potencijal radioterapije.**

**Tablica 3.**

| Kategorija emetogenosti | Emetogeni potencijal | Polje zračenja  |
|-------------------------|----------------------|---|
| visoka                  | >90%                 | TBI (cijelo tijelo)   |
| umjereni                | 30 – 90%             | gornji dio abdomena   |
| niska                   | 10 – 30%             | donji dio toraksa, zdjelica, radiokirurgija neurokranija, kraniospinala radioterapija |
| minimalna               | <10%                 | glava i vrat, ekstremiteti, neurokranij, dojka  |

## 2. Preporuke za prevenciju mučnine i povraćanja izazvanih intravenski primijenjenim lijekovima

**2.1. Kod primjene lijekova visokog emetogenog rizika potrebno je primijeniti trojnu prevenciju emeze. Trojna prevencija provodi se antagonistima 5-hidroksitriptaminskog receptora tipa 3 (5-HT3 antagonisti) prvi dan, kortikosteroidima prva tri dana, te antagonistima neurokininskog receptora 1 (NK-1 antagonisti) kroz tri dana. Primjenom 5-HT3 antagonista, koritkosteroida i NK-1 antagonista prevenirat ćemo akutnu, a primjenom kortikosteroida i NK-1 antagonista odgodenu emezu. Potrebno je napomenuti da palonosetron ima produženo djelovanje te da je on jedini među 5-HT3 antagonistima čijom primjenom preveniramo i odgodenu emezu. Ukoliko nije moguća primjena NK-1 antagonista potrebna je dva puta veća doza kortikosteroida drugog i trećeg dana. Preporuča se primjena deksametazona jer je učinkovitost prevencije emeze najbolje ispitana uz primjenu deksametazona, no mogu se primijeniti i drugi kortikosteroidi u ekvivalentnoj dozi. Ukoliko uz emezu postoje i dispeptičke tegobe, uz trojnu se terapiju preporuča i primjena inhibitora protonske pumpe (IPP) ili antagonista histaminskih receptora tipa 2 (H2 antagonisti).**

**Tablica 4.**

| Preporuke za prevenciju akutne i odgođene mučnine i povraćanja kod primjene visoko emetogene kemoterapije |   |
|---|---|
| 5-HT3 antagonisti 1. dan  | <ul style="list-style-type: none"> <li>– palonosetron 0,25 mg i.v.</li> <li>– granisetron 2 mg p.o. 1-2x ili 0,01 mg/kg i.v.</li> <li>– tropisetron 5 mg i.v.</li> <li>– ondansetron 16-24 mg p.o. ili 8-24 mg i.v. (dolasetron 100 mg p.o.)</li> </ul> |

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| + kortikosteroidi 3-4 dana    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- deksametazon 12 mg i.v. ili p.o. 1. dan i 8 mg i.v. ili p.o. 2-3 dana (uz NK1 antagoniste)</li> <li>- deksametazon 12 mg i.v. ili p.o. 1. dan i 8 mg 2x i.v. ili p.o. 2-3 dana (bez NK1 antagonistista)</li> </ul> |
| + NK-1 antagonisti 1.- 3. dan | <ul style="list-style-type: none"> <li>- aprepitant 125 mg p.o. 1. dan, 80 mg p.o. 2. i 3. dan</li> <li>- fosapreptant 115 mg i.v. 1. dan i aprepitant 80 mg 2. i 3. dan<br/>(fosapreptant 150 mg i.v. 1. dan)</li> </ul>                                   |

2.2. Kod primjene lijekova umjerenog emetogenog rizika može se primijeniti dvojna ili trojna prevencija emeze. Dvojna prevencija akutne emeze podrazumijeva primjenu 5-HT3 antagonista i kortikosteroida, a trojna primjenu 5-HT3, kortikosteroida i NK-1 antagonista. Prevencija odgođene emeze kod umjerenog emetogenog rizika može se nastaviti kombinacijom bilo koja od dva lijeka primjenjena pri prevenciji akutne emeze.

**Tablica 5.**

| <b>Preporuke za prevenciju akutne i odgođene mučnine i povraćanja kod primjene umjerenog emetogenog kemoterapije</b> |  |
|--|--|
| 5-HT3 antagonisti 1. dan (+/- 2. i 3.dan)  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- palonosetron 0,25 mg i.v. *</li> <li>- granisetron 2 mg p.o. ili 0,01 mg/kg i.v.</li> <li>- tropisetron 5 mg i.v.</li> <li>- ondansetron 16-24 mg p.o.ili 8-24 mg i.v.<br/>(dolasetron 100 mg p.o)</li> </ul>   |
| + kortikosteroidi 3-4 dana ili 1. dan +/- 2-3 dana   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- deksametazon 8 mg i.v. ili p.o. 1. dan i 4 mg i.v. ili p.o. 2.-3. dan (uz NK1 antagoniste)</li> <li>- deksametazon 12 mg i.v. ili p.o. 1. dan i 8 mg i.v. ili p.o. 2-3 dana (bez NK1 antagonistista)</li> </ul> |
| +/- NK-1 antagonisti 1.-3. dan   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- aprepitant 125 mg p.o. 1. dan, 80 mg p.o. 2. i 3. dan</li> <li>- fosapreptant 150 mg i.v. 1. dan ili<br/>(fosapreptant 115 mg 1. dan i aprepitant 80 mg 2. i 3. dan)</li> </ul>                                 |

\* zbog produženog djelovanja daje se samo 1. dan

2.3. Kod primjene lijekova niskog emetogenog rizika dovoljno je primijeniti jedan lijek u prevenciji emeze. Iako se zbog djelovanja i na akutnu i na odgođenu emezu najčešće preporuča deksametazon (u dozi od 8 mg), u obzir dolazi i monoterapija 5-HT3 antagonistima ili primjena antagonista dopamina.

**Tablica 6.**

| <b>Preporuke za prevenciju akutne i odgođene mučnine i povraćanja kod primjene nisko emetogene kemoterapije</b> |   |
|---|---|
| kortikosteroidi 1. dan  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- deksametazon 4-12 mg i.v. ili p.o</li> </ul>   |
| ili 5-HT3 antagonisti 1. dan  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- palonosetron 0,25 mg i.v.</li> <li>- granisetron 2 mg p.o. ili 0,01 mg/kg i.v.</li> <li>- tropisetron 5 mg i.v.</li> <li>- (ondansetron 16-24 mg p.o.ili 8-24 mg i.v<br/>dolasetron 100 mg p.o)</li> </ul> |
| ili antagonisti dopamina  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- metoklopramid 10 mg 3-4x dnevno</li> <li>- tietilperazon 10 mg 3x dnevno</li> </ul>  |

2.4. Kod primjene lijekova minimalnog emetogenog rizika ne preporuča se rutinska prevencija emeze.

### 3. Preporuke za prevenciju mučnine i povraćanja izazvanih peroralno primjenjenim lijekovima

3.1. Pri peroralnoj primjeni lijekova visokog i umjerenog emetogenog rizika za prevenciju emeze potrebno je peroralno primjeniti 5-HT3 antagonist koji se po potrebi može kombinirati s H2 antagonistima ili anksioliticima.

3.2. Pri peroralnoj primjeni lijekova niskog i minimalnog emetogenog rizika za prevenciju emeze dovoljno je primijeniti antagoniste dopamina uz eventualno dodavanje H2 antagonista ili anksiolitika.

**Tablica 7.**

| <b>Preporuke za prevenciju akutne i odgođene mučnine i povraćanja kod primjene peroralne terapije visokog i umjerenog rizika</b> |  |
|--|--|
| 5-HT3 antagonisti 1. Dan   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- granisetron 2 mg p.o. tropisetron 5 mg p.o</li> <li>- (ondansetron 16-24 mg p.o ili dolasetron 100 mg p.o)</li> </ul> |
| +/- H2 blokatori   |  |
| +/- anksiolitici   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- diazepam 5-10 mg i.v., 2-5 mg 2-4x p.o.</li> <li>- lorazepam 0,5-2 mg i.v, 0,5-2 mg p.o 4-6x</li> </ul>               |
| <b>Preporuke za prevenciju akutne i odgođene mučnine i povraćanja kod primjene peroralne terapije visokog i umjerenog rizika</b> |  |
| antagonisti dopamina   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- metoklopramid 10 mg 3-4x dnevno</li> <li>- tietilperazon 10 mg 3x dnevno</li> </ul>                                   |
| +/- H2 blokatori   |  |
| +/- anksiolitici   | <ul style="list-style-type: none"> <li>- diazepam 5-10 mg i.v., 2-5 mg 2-4x p.o.</li> <li>- lorazepam 0,5-2 mg i.v, 0,5-2 mg p.o 4-6x</li> </ul>               |

#### **4. Preporuke za prevenciju mučnine i povraćanja kod primjene višednevnih, složenih kemoterapijskih protokola**

Pri primjeni višednevnih i složenih kemoterapijskih protokola potrebno je odrediti lijek s najvišim emetogenim rizikom te prema njemu prilagoditi profilaksu emeze. Ukoliko se u kasnijem tijeku liječenja uvodi lijek s višim emetogenim potencijalom od onog kome je do tada bila prilagođena profilaksa, po uvođenju emetogenijeg lijeka treba promijeniti i stupanj profilakse. Preporučaju se ranije navedena načela profilakse emeze prema kojima se uz visoko emetogene lijekove primjenjuje trojna profilaksa uz napomenu da bi, ukoliko je moguće, unutar skupine 5-HT3 antagonista trebalo izabrati palonosetron zbog njegovog produženog djelovanja. Za prevenciju odgođene emeze preporuča se dnevna primjena kortikosteroida od početka kemoterapije do dva dana nakon njenog završetka.

#### **5. Preporuke za prevenciju mučnine i povraćanja kod visokodozne kemoterapije i transplantacije krvotvornih matičnih stanica**

Pacijenti koji su podvrgnuti viskodoznim kemoterapijskim protokolima i postupku transplantacije krvotvornih matičnih stanica u povećanom su riziku za emezu. Uzrok tome su s jedne strane kombinacije često dva i više visoko emetogenih lijekova, te infuzija DMSO-a, a s druge strane stanje samog pacijenta. Ovi pacijenti često imaju izražen mukozitis, smetnje u pasaži crijeva, različite infekcije i pojačanu anksioznost što sve pridonosi nastanku mučnine i povraćanja.

Još nažalost ne postoje jasne smjernice za prevenciju i liječenje emeze kod ove naročito rizične skupine bolesnika. U ovih je bolesnika u više recentnih istraživanja ispitivana učinkovitost pojedinih 5-HT3 i NK1-antagonista, no budući da se radilo o studijama koje su provedene na relativno malom uzorku bolesnika smatra se da je prije donošenja čvrstih preporuka potrebno sakupiti i dodatna iskustva. Čini se da bi kod ove skupine bolesnika palonosetron mogao biti lijek prvog izbora. Za sada se preporuča primjena 5-HT3 antagonista i kortikosteroida, te eventualna primjena NK-1 antagonistika. Doze i režim primjene navedenih antiemetika još nisu jasno definirani.

#### **6. Preporuke za prevenciju mučnine i povraćanja kod primjene radioterapije**

6.1. Za prevenciju emeze kod pacijenta kod kojih se primjenjuje postupak visoko emetogene radiote-

rapije preporuča se primjena 5-HT3 antagonista prije svake frakcije i 24h nakon zračenja uz primjenu kortikosteroida uz svaku frakciju zračenja.

6.2. Za prevenciju emeze kod pacijenata kod kojih se primjenjuje postupak umjereno emetogene radioterapije preporuča se primjena 5-HT3 antagonista prije svake frakcije i 24h nakon zračenja uz mogućnost dodavanje kortikosteroida uz svaku frakciju zračenja. Posebno treba imati u vidu da su kortikosteroidi često indicirani i iz drugih razloga (npr. kao antiedematozna terapija).

6.3. Za prevenciju emeze kod pacijenata kod kojih se primjenjuje postupak nisko emetogene radiotherapije preporuča se primjena 5-HT3 antagonista, antagonista dopamina ili kortikosteroida. U obzir dolaze i kortikosteroidi, naročito ako su indicirani i iz nekog drugog razloga.

#### **7. Preporuke za liječenje refraktorne mučnine i povraćanja**

Refraktorna mučnina i povraćanje nastaju kao posljedica neadekvatno provedene profilakse emeze ili, ponekad, nakon dobro provedene profilakse, koja iz nekog razloga nije postigla zadovoljavajući učinak. Važnost profilakse emeze, odnosno pridržavanje preporuka za njeno sprječavanje temelji se prvenstveno na činjenici da je refraktornu emezu vrlo teško liječiti.

Liječenje treba pokušati antiemeticima iz skupina koje nisu korištene u prevenciji, a to su, ako se držimo preporuka za prevenciju, u prvom redu antagonisti dopamina, anksiolitici ili antipsihotici. Potrebno je pokušati i sa zamjenom jednog 5-HT3 antagonista drugim, uz napomenu da treba u terapiju uvesti palonosetron kao lijek prvog izbora ako ranije nije korišten.

Zbog mogućih teških komplikacija refraktornog povraćanja neophodno je provesti i druge mjere potpornog liječenja kao što su adekvatna rehidracija i nadoknada elektrolita.

Kod bolesnika koji imaju refraktornu mučninu i povraćanje potrebno je potražiti i eventualni drugi uzrok emeze (pitanje crijevne opstrukcije, infiltracije probavnog sustava osnovnom bolešću, jakog mukozitisa, proširenosti bolesti u središnji živčani sustav, itd.).

Za sljedeće je cikluse terapije neophodno promijeniti strategiju prevencije emeze. Potrebno je odrediti novi, viši rizik pacijenta, napraviti reevaluaciju bolesti, razmotriti komorbiditet kao i moguće interakcije lijekova.

## 8. Preporuke za liječenje anticipatorne mučnine i povraćanja

U nastanku anticipatorne mučnine i povraćanja značajnu ulogu ima psihološka komponenta. Najčešće se javlja kod anksioznih pacijenta i kod pacijentata koji imaju loša iskustva s ranijim liječenjem. Smatra se da je anticipatorna emeza posljedica ranije loše provedene prevencije te da je za sprječavanje njenog nastanka bitna dobra profilaksa, jer ukoliko se razvije, vrlo je refraktorna na terapiju. Ne postoje jasne smjernice za liječenje anticipatorne mučnine i povraćanja. Mogu se primijeniti anksiolitici i antipsihotici ili alternativni postupci (psihoanaliza, hipnoza, relaksacija) no ne postoji dovoljan broj kliničkih studija koje bi potvrdile učinkovitost ovih postupaka.

### Literatura:

1. Tomek R, Vrdoljak E, Vrbanec D i sur. Hrvatske smernice za prevenciju mučnine i povraćanja uzrokovanih kemoterapijom. Liječ Vjesn. 2009;131:49-53.
2. Basch E, Prestrud A.A, Hesketh PJ et al. Antiemetics: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline Update J Clin Oncol. 2011;29:4189-98.
3. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. Antiemesis. V.3.2012.
4. Roila F, Herrstedt J, Aapro M, et al. Guideline update for MASCC and ESMO in the prevention of chemotherapy- and radiotherapy-induced nausea and vomiting: results of the Perugia consensus conference. Ann Oncol. 2010;21(5):232-43.
5. Hesketh PJ, Chemotherapy -Induced Nausea and Vomiting, N Engl J Med. 2008; 358:23:2482-92.
6. Feyer P, Jordan K, Update and new trends in antiemetic therapy: continuing need for novel therapies, Ann Oncol. 2011;22:30-38.
7. Grunberg SM, Deuson RR, Mavros P, et al. Incidence of chemotherapy-induced nausea and emesis after modern antiemetics. Cancer. 2004;100:2261-2268.
8. Bloechl-Daum B, Deuson RR, Mavros P, et al. Delayed nausea and vomiting continue to reduce patients' quality of life after highly and moderately emetogenic chemotherapy despite antiemetic treatment. J Clin Oncol. 2006;24:4472-4478.
9. López-Jiménez J, Martín-Ballesteros E, Sureda A et al, Chemotherapy-induced nausea and vomiting in acute leukemia and stem cell transplant patients: results of a multicenter, observational study. Haematologica 2006;91:1:84-91.
10. ASCO Guideline for Antiemetics in Oncology:Update 2006. J Clin Oncol. 2006; 24: 2932-47.ca 2006;91:1:84-91.
11. Bubalo J S, Leis J F, Curtin P T, et al. A randomized, double-blinded, pilot trial of aprepitant added to standard antiemetics during conditioning therapy for hematopoietic stem cell transplant (HSCT). J Clin Oncol. 2007; 25:520.
12. Shah AK, Hunt, TL, Gallagher SC et al. Pharmacokinetics of palonosetron in combination with aprepitant in healthy volunteers. Current Medical Research And Opinion. 2005;21 (4):595-601.
13. Warr DG, Hesketh PJ, Gralla RJ, Muss HB. Efficacy and tolerability of aprepitant for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting in patients with breast cancer after moderately emetogenic chemotherapy. J Clin Oncol 2005;23(12):2822-30.
14. Herrstedt J, Muss HB, Warr DG, Hesketh PJ. Efficacy and tolerability of aprepitant for the prevention of chemotherapy-induced nausea and emesis over multiple cycles of moderately emetogenic chemotherapy. Cancer. 2005;104(7):1548-55.
15. Hesketh PJ, Grunberg SM, Gralla RJ, et al. The oral neurokinin-1 antagonist aprepitant for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting: A multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in patients receiving high-dose cisplatin--The Aprepitant Protocol 052 Study Group. J Clin Oncol. 2003;21(22):4112-9.
16. Poli-Bigelli S, Rodrigues-Pereira J, Carides AD, et al. Addition of the neurokinin 1 receptor antagonist aprepitant to standard antiemetic therapy improves control of chemotherapy-induced nausea and vomiting. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Latin America. Cancer. 2003;97(12):3090-8.
17. Bubalo J, Leis JF, Curtin PT, Maziarz RT. A randomized, double-blinded, pilot trial of aprepitant added to standard antiemetics during conditioning therapy for hematopoietic stem cell transplant. J Clin Oncol. 2007;25(18S):9112.
18. Abidi MH, Abrams J, Ibrahim R, et al. Phase II trial evaluating aprepitant for prevention of nausea and vomiting secondary to high-dose cyclophosphamide administered to patients undergoing autologous peripheral blood progenitor cell mobilization. Biol Blood Marrow Transplant. 2008;14(2):39-40.
19. Walko CM, Yu YA, Bhushan S, Spasojevic I, Carey L. Effect of aprepitant on cyclophosphamide pharmacokinetics in early breast cancer patients. J Clin Oncol. 2009;29(15S):abst588.
20. de Jonge ME, Huitema ADR, Holtkamp MJ, et al. Aprepitant inhibits cyclophosphamide bioactivation and thiotepa metabolism. Cancer Chemother Pharmacol. 2005;56(4):370-8.
21. Roila F, Donati D, Tamperi S, et al. Delayed emesis: incidence, pattern, prognostic factors and optimal treatment. Supp Care Cancer. 2002;10:88-95.
22. Hatoum HT, Lin SJ, Buchner D, et al. Comparative clinical effectiveness of various 5-HT(3) RA antiemetic regimens on chemotherapy-induced nausea and vomiting associated with hospital and emergency department visits in real world practice. Supp Care Cancer. 2011.
23. Polizzi V, Porretto F, Bianchini C, et al. Palonosetron and dexamethasone for prevention of nausea and vomiting in patients receiving high-dose chemotherapy with auto-SCT. Bone Marrow Transplant. 2010;45(1):123-7.

## CD3+Pax5+ limfoblastni limfom: bifenotip, aberantni fenotip ili normalni fenotip?

Ksenija Lučin<sup>1</sup>, Manuela Avirović<sup>1</sup>,  
 Duška Petranović<sup>2</sup>, Antica Duletić-Načinović<sup>2</sup>,  
 Igor Aurer<sup>3</sup>, Sandra Bašić-Kinda<sup>3</sup>, Bojana Mohar<sup>1</sup>,  
 Blaženka Grahovac<sup>1</sup>, Nives Jonjić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zavod za patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

<sup>2</sup> Zavod za hematologiju, reumatologiju i kliničku imunologiju, Klinički bolnički centar Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

<sup>3</sup> Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Adresa autora za kontaktiranje:

Prof. dr. Ksenija Lučin, Zavod za patologiju,  
 Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

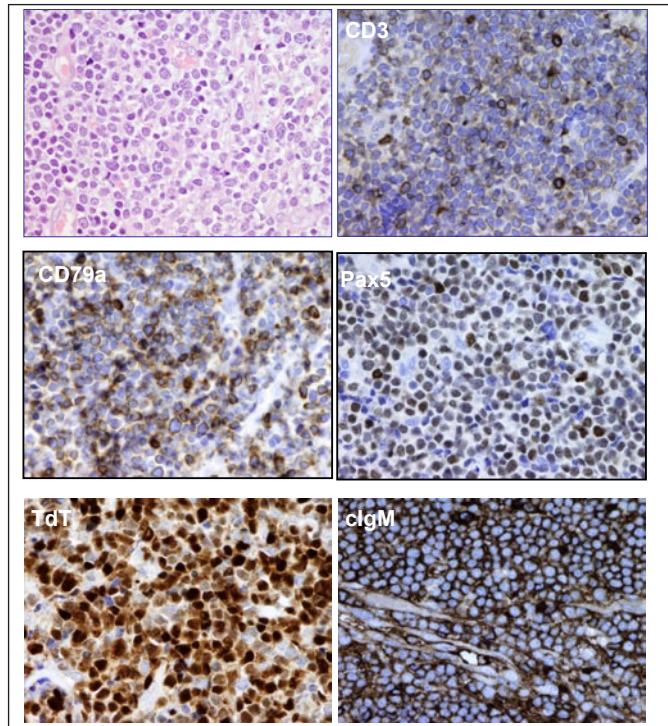
E-pošta: ksenijal@medri.hr

### Uvod

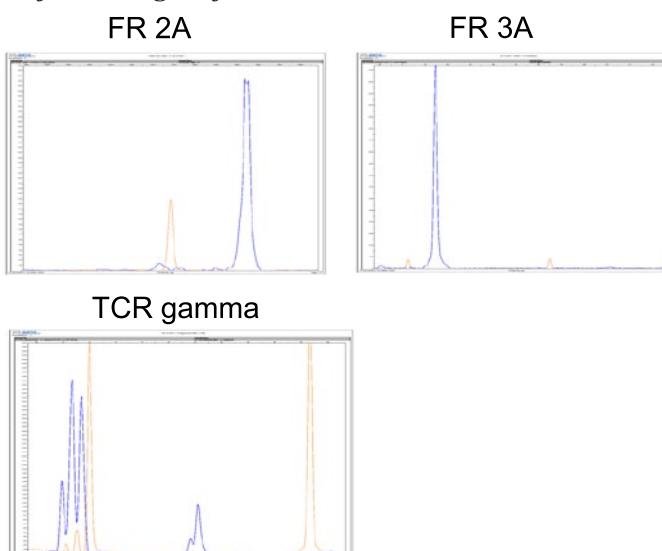
Prekursorske limfatične novotvorine obuhvaćaju akutnu limfoblastičnu leukemiju (ALL) i limfoblastični limfom (LBL) porijekla B ili T limfocita. Većina ALL porijekla su prekursorskih limfocita B, a većina tj. približno 90% LBL posjeduje fenotip prekursorskih T limfocita (1). Uz karakterističnu morfološku sliku za prepoznavanje ALL/LBL važan je izražaj TdT i CD34 biljega nezrelih stanica, a daljnje svrstavanje temelji se na izražaju markera B ili T limfocita. U radu je prikazan slučaj bolesnika s limfoblastnim limfomom koji je izražavao fenotip i B i T stanica, a na genetskoj razini pokazivao klonalan IgH uz reducirani poliklonalni tip preuređenja TCR. Ovakav limfom nije moguće klasificirati u skladu s novom WHO klasifikacijom tumora hematopoetskog i limfatičkog tkiva.

### Prikaz slučaja

Kod muškarca starog 20 godina pojavila se oteklina u području mekih tkiva obraza. Učinjena je biopsija promjene i postavljena dijagnoza limfoblastnog limfoma. Morfološki, tumor je građen od difuzne mase srednje velikih stanica s pretežno okruglastim svijetlim jezgrama istaknutih nukleola i oskudnim citoplazmama. Imunohistokemijski, utvrđen je fenotip tumorskih stanica: CD3+/-, CD2-, CD7+, CD5+, CD4-, CD8-, CD10-, TdT+, Pax5+, CD79a+, CD20-, cIgM+, CD138+, CD34-, CD15- (Slika 1.). Učinjena je molekularna analiza klonalnosti limfocita kojom je utvrđen klonalan IgH uz reducirani poliklonalan tip preuređenja TCR (Slika 2.).



Slika 1. Morfološke i imunofenotipske osobine limfoblastnog limfoma.



Slika 2. Analiza preuređenja Ig i TCR gena pokazala je klonalni tip preuređenja Ig gena (FR 2a i FR 3a regija) i reducirani poliklonalni tip preuređenja TCR gamma lanca.

Tijekom kliničke obrade na MSCT snimci grudnih organa utvrđena je ekspanzivna tvorba u gornjem prednjem medijastinumu veličine 7x6x6 cm. MSCT abdomena i UZV srca bili su urednog nalaza. Biopsija koštane srži bila je uredna, bolesnik nije imao B simptoma, laboratorijski nalazi bili su uredni osim sniženih limfocita u diferencijalnoj krvnoj slici - 0,87. Započeto je liječenje po protokolu za mlađe odrasle bolesnike s ALL. Nakon 7 dana terapije glu-

kokortikoidima nije došlo do regresije tumora što je značajka bolesti visokog rizika. Terapija je nastavljena uvodnom terapijom koja se sastojala od vinkristina, ciklofosfamida, doksorubicina, asparaginaze i steroida. Uvodnom terapijom postignuta je parcijalna remisija. Nastavljen je konsolidacijom vinkristinom, ciklofosfamidom, citarabinom, tiogvaninom, merkaptopurinom, visokim dozama metotreksata i steroidima čime je naposljetku postignuta kompletan remisija. Nakon toga je provedena intenzifikacija deksametazonom, vinkristinom dokosorubicinom, asparaginazom, tiogvaninom, etopozidom i citarabinom. Uz to je bolesnik primao profilaktički intratekalno metotreksat. Obzirom da se radi o bolesti visokog rizika, a da bolesnik nema HLA podudarnog člana obitelji, planira se liječenja nastaviti transplantacijom alogeničnih matičnih krvotvornih stanica od HLA-podudarnog nesrodnog darivatelja.

## Rasprrava

U najnovijoj WHO klasifikaciji tumora hemato-poeznog i limfatičnog tkiva limfoblastni limfom svrstan je u kategoriji akutnih leukemija kao ALL/LBL (1). Za razliku od ALL/LBL porijekla B limfocita kod kojih se uz NOS oblik izdvaja mnoštvo entiteta s definiranim genetskim abnormalnostima, kategorija T ALL/LBL predstavlja zasebni entitet koji nije raščlanjen prema imunofenotipskim ili genotipskim osobinama te stoga ne prepoznaje T-LBL koji uz biljege T limfocita izražava i biljege limfocita B. U literaturi su se povijesno koristili različiti nazivi za ovakve tumore, poput aberantni fenotip, bifenotip ili dualni fenotip, a nova WHO klasifikacija uvodi naziv „miješani fenotip“ u kategoriji akutnih leukemija nejasne linije (MPAL od engl. mixed phenotype acute leukaemia). U ovoj kategoriji nalaze se akutne T/B leukemije ili trifenotipske leukemije kao najrjeđi oblik MPAL-a. Kao kriterij za prisustvo biljega T limfocita navodi se citoplazmatski CD3 biljeg ili površinski CD3 biljeg jednakog izražaja poput onog na limfocitima periferne krvi (detektiran protočnom citometrijom). Iako za solidne oblike limfoblastnih novotvorina nisu definirani oblici s „miješanim“ fenotipom pa prema tome ni kriteriji za T/B LBL, ukoliko bismo koristili kriterije definirane za leukemijske oblike bolesti, naš slučaj LBL zbog slabijeg izražaja CD3 biljega u odnosu na male, reaktivne limfocite T, trebali bi kategorizirati kao B-LBL s aberantnom ekspresijom T biljega. Budući da je kod bolesnika dijagnosticiran medijastinalni tumor bez zahvaćanja koštane srži, najvjerojatnije se ipak radi o LBL porijekla T limfocita iz timusa.

Za razliku od limfoma perifernih limfocita T u kojih je simultani izražaj antiga B stanica rijedak slučaj (2-4), u prekursorskih T-LBL/T-ALL u čak 40-50% slučajeva primjećen je izražaj CD79a, biljega B limfocita (5,6). Izražaj CD79a biljega slabog intenziteta opisan je i na normalnim humanim timocitima te limfocitima u tkivu timoma (6) te bi, shodno tome, njegov izražaj na T-LBL mogao predstavljati „normalni“ fenotip. Stoga se CD79a smatra biljegom B limfocita samo u odsustvu mijeloičnih biljega i biljega T limfocita. CD20 biljeg nije bio izražen na tumorskim stanicama, a budući da približno četvrtina svih B ALL/LBL ne izražava CD20 molekulu, njegovo odsustvo ne govori protiv B stanične linije. LBL našeg bolesnika izražavao je uz CD79a i druge biljege limfocita B poput PAX-5, cIg i CD138. Pax-5 gen (od engl. Paired box 5) kodira transkripcijski čimbenik BSAP koji je neophodan za pokretanje i održavanje diferencijacije limfocita B i koji može pokrenuti  $V_H$ -DJ $_H$  rearanžman Ig gena. Izražaj Pax-5 biljega smatra se visoko specifičnim biljegom B linije i koristi se kao dio panela protutijela važnih za klasificiranje limfoidnih novotvorina (7,8). Ipak, izgleda da PAX-5 ekspresija nije u potpunosti specifična za B staničnu liniju u limfoma (2,3,9). Obzirom da se ovo protutijelo koristi u rutinskoj dijagnozi tek odnedavno, nema puno podataka o njegovoj ekspresiji kod limfoma porijekla T stanica. U studijama koje su uključivale prekursorske T novotvorine svega jedna navodi izražaj Pax5 gena u jednom od 5 T-LBL te u 3 od 6 ispitivanih T-ALL (10), dok su u ostalim studijama svi T-ALL/LBL bili PAX-5 negativni (7-9,11). Iako rijedak, izražaj Pax-5 gena opisan je i u perifernih T limfoma (2-4). U knockin eksperimentalnom mišjem modelu utvrđena je onkogena uloga ektopične ekspresije Pax-5 gena u razvoju T-LBL nakon rekonstrukcije t(9;14) (12).

Sve češće korištenje molekularnih pretraga je pokazalo da simultani rearanžman i IGH i TCR gena nije rijedak slučaj, posebice u nezreloj, limfoblastnoj populaciji, a u nekim slučajevima utvrđen je “neodgovarajući” rearanžman (npr. rearanžman IgH gena kod T-ALL) (13). Rearanžman IGH i TCR gena ne smatra se apsolutno specifičnim za liniju kod nezrelih limfoproliferacija te stoga ima ograničeni značaj u određivanju porijekla tumorskih stanica, tj. određivanje stanične linije od koje potječe tumor mora se temeljiti na pristupu koji uključuje morfološke, imunofenotipske i genetske osobine tumora (1).

## Zaključak

U radu je prikazan slučaj limfoblastnog limfoma s fenotipom T i B limfocita i klonalnim IgH, porijekla iz timusa. Iako se sa sigurnošću ne može odrediti stanično porijeklo ovog tumora, najvjerojatnije se radi o T-LBL kod kojeg je aberantna ekspresija Pax-5 gena pokrenula program diferencijacije limfocita B na fenotipskoj i genotipskoj razini. Dodatne citogenetske pretrage mogle bi pomoći u rasvjetljavanju onkogeneze ovog tumora. Iako je utvrđivanje staničnog porijekla od akademskog značaja i nema utjecaja na odabir terapije, mogući prognostički značaj tek treba utvrditi.

## Literatura:

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al. eds. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid tissues. Lyone, France: IARC; 2008
2. Feldman AL, Law ME, Inwards DJ. PAX-5-positive T cell anaplastic large cell lymphomas associated with extra copies of the PAX5 gene locus. *Mod Pathol.* 2010;23(4):593-602.
3. Hansson M, Jerkeman M, Dictor M. Biphenotypic bigenotypic lymphoma with simultaneous expression of PAX5/BSAP and B- and T-cell markers. *E J Haematol.* 2007;79:159-165.
4. Tzankov AS, Went PT, Münst S et al. Rare expression of BSAB (PAX-5) in mature T-cell lymphomas. *Mod Pathology.* 2007;20:632-637.
5. Pilozzi E, Pulford K, Jones JM et al. Co-expresion of CD79a (JCB117) and CD3 by lymphoblastic lymphoma. *J Pathol.* 1988;186:140-143.
6. Hashimoto M, Yamashita Y, Mori N. Immunohistochemical detection of CD79a expression in precursor T cell lymphoblastic lymphoma/leukaemias. *J Pathol.* 2002;197:341-347.
7. Torlakovic E, Torlakovic G, Nguyen PL, Brunning RD, Delabie J. The value of anti-pax5 immunostaining in routinely fixed and paraffin embedded sections: a novel pan-B and B-cell marker. *Am J Surg Pathol.* 2002;26:1343-50.
8. Desouki MM, Post GR, Cherry D et al. PAX-5: A Valuable Immunohistochemical Marker in the Differential Diagnosis of Lymphoid Neoplasms. *Clin Med Res.* 2010;8(2):84-8.
9. Tiacci E, Pileri S, Orleth A, et al. PAX5 Expression in Acute Leukemias: Higher B-Lineage Specificity Than CD79a and Selective Association with t(8;21)-Acute Myelogenous Leukemia 2004 *Cancer Res* 64:7399-7404.
10. Zhang Z, Lin Z, Kim I. Pax5 expression in non-Hodgkin's lymphomas and acute leukemias. *J Korean Med Sci.* 2003;18:804-8.
11. Nasr MR, Rosenthal N, Syrbu S. Expression profiling of transcription factors in B- or T-acute lymphoblastic leukemia/lymphoma and Burkitt lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2010;133(1):41-8.
12. Souabni A, Jochum W, Busslinger M. Oncogenic role of Pax5 in the T-lymphoid lineage upon ectopic expression from the immunoglobulin heavy-chain locus. *Blood.* 2007;109:281-289.
13. Pelicci PG, Knowles DM, Favera RD. Lymphoid tumors displaying rearrangements of both immunoglobulin and T-cell receptor genes. *J Exp Med.* 1985;162:1015-1024.

## Epigenetika limfoma

**Petra Korać<sup>1,2</sup>, Eva Lovrić<sup>2</sup>, Tomislav Horvat<sup>3</sup>, Miroslava Katičić<sup>1,4</sup>, Slobodanka Ostojić Kolonić<sup>1,4</sup>, Vlatka Zoldoš<sup>3</sup>, Slavko Gašparov<sup>1,2</sup>, Mara Dominis<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

<sup>2</sup> Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Merkur, Zagreb

<sup>3</sup> Zavod za molekularnu biologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

<sup>4</sup> Klinika za internu medicinu, KB Merkur, Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

Dr. sc. Petra Korać, dipl. ing.

Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Merkur, Zagreb,

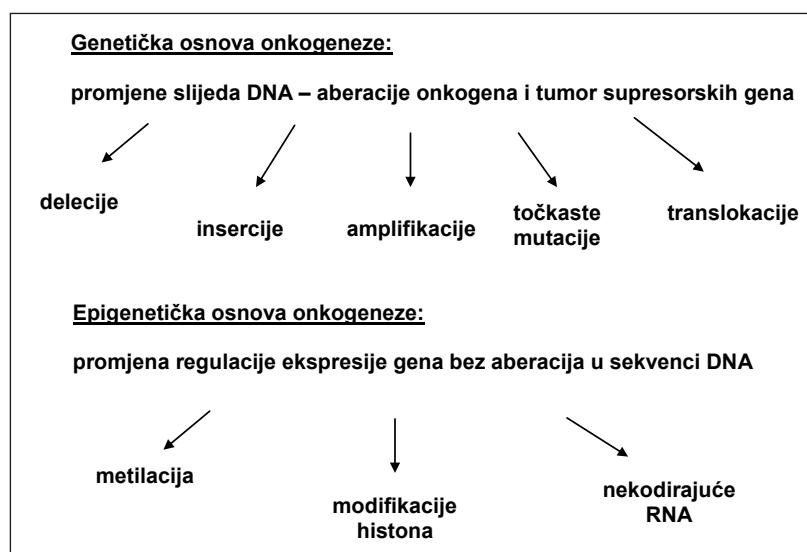
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

E-pošta: pkorac@gmail.com

Epigenetika se bavi nasljednim promjenama ekspresije gena koje nisu kodirane unutar same DNA sekvence. Istraživanja vezana uz razvoj i progresiju limfoma kojima se naša grupa do sada bavila temeljila su se na genetici (promjenama ekspresije gena kandidata koje su određene unutar sekvence DNA). Unatrag godinu dana odlučili smo proširiti istraživanja analizama promjena u regulaciji aktivacije i represije transkripcije koje ne zadiru u DNA sekvencu. Tako želimo nadopuniti znanja genetike

limfoma epigenetičkom analizom njihova razvoja kako bismo stekli kompletniju sliku.

Osnovni građevni materijal eukariotske jezgre naziva se kromatin. Njegova je osnovna funkcionalna jedinica nukleosom, građena od molekule DNA omotane oko proteina koje nazivamo histonima. N-terminalni dijelovi histona mogu biti modificirani kovalentnim vezanjem raznih kemijskih grupa (acetilacija, metilacija, fosforilacija) koje su uključene u kontrolu ekspresije gena. Nepredviđene promjene u njihovom sastavu i količini mogu predstavljati značajne aberacije odgovorne za pojedine dijelove puta onkogeneze regulirajući transkripciju gena uključenih u sam proces. Osim histonskih modifikacija epigenetički mehanizmi u regulaciji transkripcije gena uključuju i metilaciju DNA. Promjene metilacije DNA u razvoju neoplazmi imaju dvostruku ulogu: **hipermetilacija** CpG otoka tumor supresorskih gena i ostalih gena vezanih za razvoj tumora, npr. gena odgovornih za popravak DNA i sl., u većini slučajeva zaustavlja njihovu transkripciju, dok je globalna **hipometilacija** genoma tumorskih stanica često uzrok genomske nestabilnosti, npr. kromosomalnih preslagivanja kao i aktivacije proto-onkogena (Slika 1.).



Slika 1. Genetička i epigenetička osnova onkogeneze.

Objavljena epigenetička istraživanja u hematologiji najčešće su rađena na mijeloproliferativnim neoplazmama (MPN) gdje su promatrane promjene u funkciji metiltransferaza i aberantna metilacija promotora specifičnih gena (1-4).

Zanimljivo je da u MPN, tj. neoplazmi ranijih oblika sazrijevanja hematopoetskih stanica, enzim

EZH2 ima INAKTIVACIJSKU mutaciju koja dovodi do smanjenja ekspresije histonske modifikacije H3K27me3, dok isti enzim kod folikularnog limfoma i difuznog B-velikostaničnog limfoma ima AKTIVACIJSKU mutaciju koja također dovodi do smanjenja H3K27me3 (4-8).

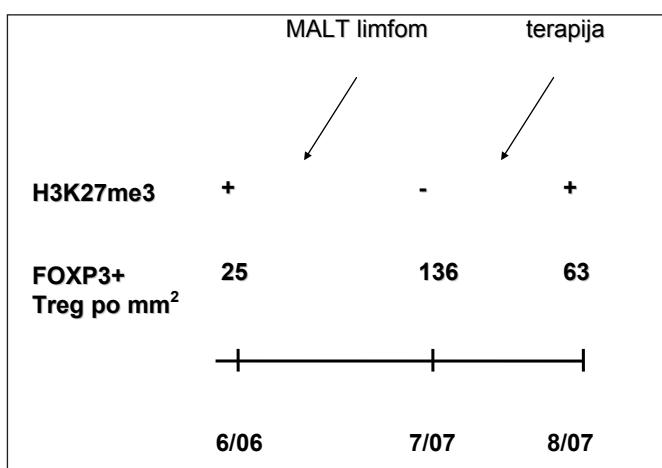
Dakle, genetičke promjene koje utječu na epige-

netičku regulaciju (9) te upravljaju razvojem i diferencijacijom npr. B-limfocita, samo su jedan dio promjena potrebnih za razvoj neoplastičnih stanica, dok drugi dio čine epigenetičke promjene. Te promjene mogu imati suprotne predznačke, ali i dovesti do istih posljedica u tumorima različitih razvojnih stanica istog tipa.

Prvi korak našeg istraživanja bio je analizirati histonsku modifikaciju H3K27me3 u MALT limfomima. Imunohistokemijskim bojenjem analizirali smo limfocite normalne sluznice želuca i vidjeli da su gotovo svi pozitivni, tj. da je u njima prisutna modifikacija histona koja obilježava utišane dijelove genoma. Kod infiltrata MALT limfoma želuca broj stanica s navedenom histonskom modifikacijom bio je drastično manji.

Budući da se zna kako epigenetičke promjene mogu biti modificirane signalima mikrookoliša (10), a s obzirom na naše prethodne projekte vezane za T stanični odgovor domaćina na B-limfome, željeli smo vidjeti postoje li i u ovom slučaju takve indikacije.

Pilot analiza bila je napravljena na uzorcima bolesnice koja je sredinom 2006. imala kronični upalni infiltrat želuca da bi godinu dana kasnije u uzorku biopsije želuca bio nađen MALT limfom. U tih godinu dana broj se limfocita sluznice želuca koji su imali H3K27me3 smanjio, dok je broj prisutnih FOXP3+ stanica po uzorku biopsije porastao gotovo 6 puta. Na uzorcima biopsije iste bolesnice nakon terapije, H3K27me3 bio je opet prisutan u većini limfocita dok se broj FOXP3 stanica smanjio (Slika 2.).



**Slika 2. Promjena količine tumorskih stanica s H3K27me3 i broja T regulatornih limfocita koji infiltriraju tumorsko tkivo tijekom razvoja i nakon terapije MALT limfoma.**

Kako bismo mogli analizirati promjene tijekom razvoja MALT limfoma u ovaj smo dio projekta uključili 11 bolesnika čije uzorke biopsija želuca promatramo kod dijagnoze i kroz praćenje tijekom 2 do 12 dolazaka na obradu i liječenje u KB Merkur. Nadamo se proširiti ovakve projekte i na druge entitete, počevši s nodalnim malostaničnim limfomima.

Za kraj – značaj epigenetike u hematologiji kao i vrijednost i potrebu ovakvih istraživanja najbolje prikazuje članak „Epigenetics: What Hematologists Need to Know“ koji se nalazi na:

<http://www.hematology.org/Publications/Hematologist/2011/6625.aspx> (11).

#### Literatura:

1. Ko M, Huang Y, Jankowska AM, et al. Impaired hydroxylatation of 5-methylcytosine in myeloid cancers with mutant TET2. *Nature*. 2010;468:839-843.
2. Barrio S, Gallardo M, Albizua E, et al. Epigenomic profiling in polycythaemia vera and essential thrombocythaemia shows low levels of aberrant DNA methylation. *J Clin Pathol*. 2011;64(11):1010-3.
3. Cechova H, Lassuthova P, Novakova L, et al. Monitoring of methylation changes in 9p21 region in patients with myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. *Neoplasma*. 2012;59(2):168-74.
4. Chim CS, Wan TS, Fung TK, et al. Methylation of TET2, CBL and CEBPA in Ph-negative myeloproliferative neoplasms. *J Clin Pathol*. 2010;63(10):942-6.
5. Sneeringer CJ, Scott MP, Kuntz KW, et al. Coordinated activities of wild-type plus mutant EZH2 drive tumor-associated hypertrimethylation of lysine 27 on histone H3 (H3K27) in human B-cell lymphomas. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:20980-20985.
6. Park SW, Chung NG, Eom HS, et al. Mutational analysis of EZH2 codon 641 in non-Hodgkin lymphomas and leukemias. *Leuk Res*. 2011;35(1):e6-7.
7. Velichutina I, Shaknovich R, Geng H, et al. EZH2-mediated epigenetic silencing in germinal center B cells contributes to proliferation and lymphomagenesis. *Blood*. 2010;116(24):5247-55.
8. McCabe MT, Graves AP, Ganji G, et al. Mutation of A677 in histone methyltransferase EZH2 in human B-cell lymphoma promotes hypertrimethylation of histone H3 on lysine 27 (H3K27). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(8):2989-94.
9. Reuther GW. Recurring mutations in myeloproliferative neoplasms alter epigenetic regulation of gene expression. *Am J Cancer Res*. 2011;1(6):752-62.
10. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*. 2003;33 Suppl:245-54.
11. Shah MY, Licht JD. Epigenetics: What Hematologists Need to Know. <http://www.hematology.org/Publications/Hematologist/2011/6625.aspx>. 2011

## Ekstrakorporalna fotofereza u liječenju kožnih limfoma

**Prim. dr. Ivo Radman**

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti,  
Klinički bolnički centar Zagreb  
E-pošta: rivot@net.hr

### UVOD

Iako je koža relativno rijetka ekstralimfatička lokalizacija, kožni limfomi su drugi po učestalosti među ekstranodalnim limfomima. Kožni limfomi čine 10% svih ekstranodalnih limfoma s godišnjom incidencijom od 0,4 na 100.000 stanovnika. Kožna lokalizacija pruža izvanrednu mogućnost vizualne procjene rasprostranjenosti i napredovanja bolesti, te učinka liječenja.

Limfomi kože su češće T-staničnog tipa, a Mycosis fungoides (MF) i Sezaryjev sindrom čine 65% svih oboljelih. Oko 20% primarnih kožnih limfoma je B-imunofenotipa (1,2).

Mycosis fungoides spada u indolentne limfome sa sporim i progresivnim kliničkim tijekom. Maligni supstrat čine T-limfociti pomoćničkog imunofenotipa (T4, helper) koji zauzimaju površne slojeve kože, epidermis i gornji dio dermisa. Razvijenoj slici limfoma može godinama prethoditi nekarakterističan nalaz kožnih promjena u obliku eritema ili ekcematoidnih papula i plakova. Čest je i nalaz *parapsoriasis in placibus*. Ove promjene s vremenom mogu preći u tumore i ulceracije i zahvatiti limfne čvorove i viscerale organe što je loš progredički znak.

Sezaryjev sindrom je leukemijska varijanta MF koja se klinički očituje eritrodermijom i generaliziranim limfadenopatijom te nalazom malignih limfocita u krvi i koštanoj srži. U najtežem obliku Sezaryjev sindrom se manifestira lavljim licem (*facies leonina*), hiperkeratozom i rascjepima kože na dlanovima i tabanima te žestokim svrbežom (3,4).

Kao i u drugih indolentnih limfoma prognoza bolesti je dobra u pogledu dugotrajnog preživljivanja, ali bez izgleda za izlječenje.

Liječenje kožnih limfoma danas se provodi lokalnom ili sustavnom terapijom. Liječenje usmjerenovo na kožu uključuje topičku primjenu glukokortikoida, mustargena, karmustina, beksarotena i imikvimoda, zatim radioterapiju, ozračenje cijelog tijela elektronom i fototerapiju. Sistemno liječenje uključuje ekstrakorporalnu fotoferezu, interferone, oralni beksaroten, denileukin diftitoks, monoklonska protutijela i citokinsku terapiju te kemoterapiju (5-8). S obzirom da se radi o rijetkoj bolesti teško je provesti velike randomizirane studije koje bi pomogle u kreiranju optimalnih programa liječenja. Stoga su danas u uporabi ra-

zličite, uglavnom eksperimentalne tehnike liječenja.

Moderno liječenje kožnih limfoma je skupo i nedostupno većini bolesnika. Osim toga, djelotvornost je u oko 80% bolesnika kratkotrajna i bolest s vremenom postaje sve otpornija te se često razvije slika generaliziranih tumora i eritrodermije. Bolesnici obično umiru od infektivnih komplikacija same bolesti ili terapije često unakaženi ružnim kožnim lezijama.

U uznapredovalom stadiju bolesti s pojmom eritrodermije i patoloških limfocita u krvi indicirana je primjena ekstrakorporalne fotofereze.

Ekstrakorporalna fotofereza je početkom 90-ih godina prošlog stoljeća postala standardna terapija za uznapredovale T-stanične limfome lože i danas se primjenjuje u više od 150 centara širom svijeta.

### POVIJEST FOTOTERAPIJE

Fototerapija ili helioterapija primjenjuje se od antičkih vremena. U mnogim je starim kulturama svjetlost smatrana izvorom života. Stari Egipćani su otkrili da biljka *Ammi Majus* koja raste na obalama Nila ima fotoaktivna svojstva jer nakon njenog uzimanja koža postaje iznimno osjetljiva na sunčevo svjetlo. Taj je učinak korišten za liječenje depigmentacija kože. Početkom 1940. godine egipatski znanstvenici su potvrđili otkriće svojih predaka o uspješnom liječenju vitiliga izlaganjem kože sunči nakon uzimanja lišća *Ammi Majus*. To je potaklo američke istraživače iz Michigana na novo otkriće: u 50-im godinama prošlog stoljeća su iz spomenute biljke izolirali aktivnu tvar, 8-metoksipsoralen (8-MOP) koja u prisustvu svjetla liječi vitiligo. U 70-im je otkriveno da zračenje kože ultraljubičastim svjetлом nakon uzimanja 8-MOP povoljno djeluje na psorijazu te je uveden termin PUVA (psoralen ultraviolet A). Istodobno je Gilchrest sa suradnicima ustanovio povoljan učinak ovakvog liječenja na bolesnike s kožnim limfomom. Na temelju opažanja da T limfociti propadaju pod utjecajem 8-metoksipsoralena i ultraljubičastog zračenja Edelson je sa suradnicim postavio metodu ekstrakorporalne fotofereze. U ovom procesu se bolesniku postupkom leukaferese izdvoje limfociti, treiraju psoralenom i ultraljubičastim svjetлом i vrate bolesniku (9-12).

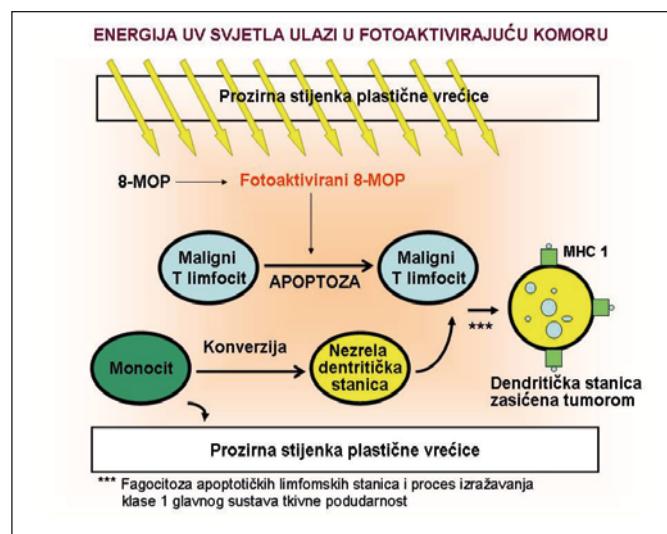
### MEHANIZAM DJELOVANJA EKSTRAKPORALNE FOTOFEREZE

Ekstrakorporalna fotofereza (EKF) je imunomodulacijski postupak koji se sastoji od tri dijela: leukaferese, ozračivanja stanica s ultraljubičastim zrakama (UVA) i transfuzije stanica. U postupku leukaferese

se pomoću staničnog separatora iz krvi bolesnika centrifugiranjem izdvajaju leukociti u posebnu vrećicu u koju se dodaje 8-metoksipsoralen. Potom se vrećica s leukocitima i lijekom izlaže djelovanju ultraljubičastih zraka nakon čega se ozračeni leukociti vraćaju bolesniku.

Metoksipsoralen (8-MOP) pripada ferokumarinima, tvarima koje se nalaze u voću i povrću. Nakon peroralnog uzimanja postiže maksimalnu koncentraciju u krvi i tkivima za 2 do 4 sata. Unutar 24 sata se skoro u cijelosti izlučuje iz organizma. Psoralen je inertna tvar dok se ne izloži ultraljubičastoj svjetlosti. Tada uzrokuje oštećenja DNA, a konačni rezultat je zaustavljanja proliferacije tretiranih stanica. Aktivacija psoralena traje svega nekoliko milisekunda, a nakon prestanka izlaganja ultraljubičastom svjetlu vraća se u inertno stanje.

Opće je prihvaćeno mišljenje da se djelovanje EKF zasniva na uništavanju patoloških limfocita premda mehanizam djelovanja nije potpuno jasan. Iako se tijekom leukaferoze prikupi 15-20% cirkulirajućih limfocita to je minoran udio svih limfocita u organizmu (manje od 5%) te je lako zaključiti da učinak koji bi se temeljio isključivo na uništavanju te male populacije limfocita ne bi imao klinički značaj. Stoga se nameće zaključak da se radi o imunomodulacijskom učinku EKT. Dokazano je da se tijekom fotofereze odvijaju dva simultana i sinergistička procesa: indukcija apoptoze u T limfocitima i masivna konverzija monocita u dendritičke stanice koje fagocitiraju apoptozičke limfocite. Maligni limfociti su osjetljiviji na djelovanje 8-MOP/UVA od ostalih mononuklearnih stanica u krvi. Cirkulirajući monociti adheriraju na plastične stijenke čime se ubrzava proces pretvaranja u dendritičke stanice. Reinfuzija stanica koje na svojoj površini imaju predočene tumorske antigene potiče žestoki antitumorski odgovor posredovan CD8 T limfocitima. Girardi je sa suradnicima 2002. godine uveo novi postupak inkubacije mononukleara u vrećici. Naime, leukaferezom prikupljene stanice ostavljaju se preko noći u prisustvu 8-MOP. Više limfomskih stanica je izloženo apoptizi, a više monocita transformaciji u dendritičke stanice. Posljedično, novovostvorene dendritičke stanice fagocitiraju više apoptozičnih tumorskih stanica i jače ispoljavaju tumorske antigene. Stoga je ovaj postupak nazvan transimunizacija. Mechanizam djelovanja ekstrakorporalne fotofereze prikazan je na Slici 1.

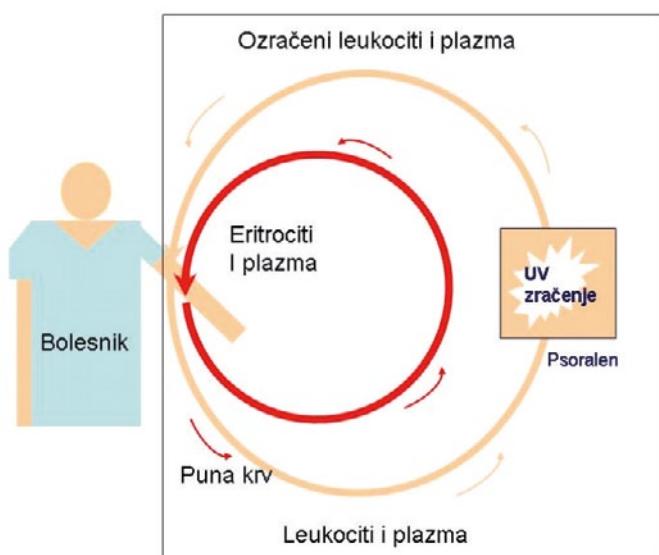


*Slika 1. Predmnenjivani mehanizam djelovanja fotofereze.*

Ekstrakorporalnu fotoferezu s lijekom 8-metoksipsoralenom je godine 1988. odobrila Američka agencija za lijekove i hranu, FDA (*Food and Drug Administration*) za liječenje T-staničnog kožnog limfoma. U tijeku su studije koje ispituju njenu primjenu u liječenju reakcije presadka krvotvornih matičnih stanica protiv primatelja (engl. graft-vs-host disease, GVHD), odbacivanja presađenih solidnih organa kao i autoimunih bolesti. Dosadašnji rezultati tih studija pokazuju uspjeh u liječenju.

## POSTUPAK EKSTRAKORPORALNE FOTOFEREZE

Za leukaferizu se koristi stanični separator COBE Spectra kojim se procesuiraju jedan do dva volumena bolesnikove krvi. Postupak fotofereze prikazan je na Slici 2. Za potrebe sakupljanja leukocita iz krvi bolesnika potrebno je u obje ruke uvesti po jednu iglu u periferne vene. Ako bolesnik već ima ugrađen centralni venski kateter bit će potrebno uvesti još samo jednu dodatnu iglu. Kroz jednu iglu se uzima krv koja ulazi u stanični separator u kome se krv nakon centrifugiranja razdvaja na eritrocite, leukocite i plazmu. Većina sastojaka krv se odmah nakon prolaza kroz aparat vraća u tijelo. Mononuklearne stanice se sakupljaju u sterilnu vrećicu posebno namijenjenu za zračenje UVA zrakama i doda se 8-metoksipsoralen *ex vivo*. Potom se vrećica sa stanicama ozrači s 2 J/cm<sup>2</sup> u posebnom aparatu. Finalni produkt se mora bolesniku reinfundirati unutar 3 sata nakon zračenja. Za transfuziju se koristi ista igla kojom su leukociti i sakupljeni. EKF se provodi svaki tjedan 2 dana za redom tijekom 2 mjeseca, potom svaki drugi tjedan sljedeća 2 mjeseca te jednom mjesечно sljedeća 3 mjeseca. U slučaju kada nema znakova poboljšanja, EKF se prekida nakon 6 postupaka.



**Slika 2. Shematski prikaz ekstrakorporalne fotofereze.**

## KLINIČKI REZULTATI EKSTRAKORPORALNE FOTOFEREZE

Učinkovitost ekstrakorporalne fotofereze u liječenju eritrodermijskog oblika kožnog limfoma je prvi put dokazana u multicentričnom kliničkom istraživanju Edelsona i sur. u kojem je EKF učinjena 2 dana za redom svaka 4 tjedna s kliničkom evaluacijom nakon 6 mjeseci liječenja. Za kliničku evaluaciju 37 bolesnika korišten je sustav procjene kože (*skin scoring system*) u rasponu od 0 (koža bez znakova bolesti) do 400 (zahvaćena cijela koža, s maksimalnom eritrodermijom i induracijom). Bolesnici koji su pokazali značajno kliničko poboljšanje zadržani su na ovom rasporedu liječenja do maksimalnog povlačenja simptoma. Nakon toga EKF je primjenjivan još dodatnih 6 mjeseci dok nije postignut stabilan odgovor. Kod bolesnika je postupno produživano razdoblje između postupaka EKF do potpunog prekida. U ovom istraživanju uspješnost liječenja bila je 73%, a očitovalo se s više od 25% poboljšanim stanjem kože (*skin score*). Od 27 bolesnika koji su uspješno reagirali na liječenje, kod 9 je došlo do kompletne remisije (24%) dok je kod ostalih 18 došlo do djelomičnog poboljšanja (76%). Bolesnici s generaliziranim eksfolijativnom eritrodermijom su bolje odgovorili od bolesnika sa samo lokalno zahvaćenom kožom i tumorima (83% vs. 38%). Nije bilo razlike u odgovoru na liječenje između bolesnika s i bez zahvaćenih limfnih čvorova.

Uz poboljšanje simptoma bolesti kože, Edelson i sur. su pokazali smanjenje opsega zahvaćenosti periferne krvi. Kod bolesnika je došlo do značajnog smanjenja broja cirkulirajućih CD4+ malignih stanica. Smanjen je također i broj atipičnih stanica s cerebriformnim oblikom jezgre (Sezaryjeve stanice). Ukupno trajanje liječenja do pozitivnog odgovora u ovom istraživanju bilo je 22,4+9,6 tjedana. Praćenje bolesnika pokazalo je da EKF može produžiti preživljenje u odnosu na

očekivano nakon konvencionalnog liječenja. Četvero bolesnika koji su uspješno odgovorili na liječenje EKF ostalo je bez znakova bolesti 6-10 godina bez liječenja. Biopsija njihove kože nije više pokazivala znakove patoloških infiltrata, a u krvi se nisu niti molekulskim tehnikama (Southern blot) analize preuredbe gena za T-stanični receptor moglo dokazati rezidualne maligne stanice. Ovi rezultati su značajno bolji u odnosu na rezultate liječenja standardnim metodama kod kojih je medijan preživljenja bio samo 30 mjeseci (11).

Nekoliko drugih istraživanja je pokazalo slične rezultate. Između 401 bolesnika liječenih fotoferezom u 19 kliničkih studija povoljan odgovor zabilježen je u 217 bolesnika (54%), a kompletna remisija postignuta je u 68 bolesnika (18%). U svim istraživanjima se pokazalo da je jedina varijabla koja korelira s postizanjem kompletne remisije početni omjer CD4/CD8. U većini ispitivanja osnovni plan liječenja sadrži dva postupka EKF dan za danom, svaka 4 tjedna, ukupno 16 do 20 procedura (12-15).

Na Međunarodnoj konferenciji o preporukama za dijagnostiku i liječenje kožnih T staničnih limfoma 1994. godine ekstrakorporalna fotofereza je prihvaćena kao standardna metoda liječenja bolesnika s eritrodermijskim fazom Mycosis fungoides. Girard je sa suradnicima 2003. detaljno proučio dotad objavljene rezultate liječenja EKF i našao da je od 650 bolesnika povoljan odgovor zabilježen u 500 bolesnika (75%), a u 25% postignuta je kompletna remisija (15). (Većina autora se slaže da su povoljni prognostički pokazatelji kraće trajanje simptoma, odsustvo ekstrakutane bolesti, manji broj patoloških limfocita u krvi, normalan broj supresorskih T limfocita i prethodno liječenje bez intenzivne kemoterapije (Tablica 1.). Do sada je objavljeni više rezultata liječenja EKF u kombinaciji sa zračenjem kože (TSEB), interferonom, bekso-rotenu i čimbenicima rasta krvotvornih matičnih stanica. Dosadašnji rezultati pokazuju bolji odgovor s kombiniranom terapijom, ali pokazuju i potrebu za prospективnim randomiziranim istraživanjem koji će usporediti rezultate kombiniranog liječenja u odnosu sa samo EKF. Učinak EKF na preživljenje bolesnika predmet je oštrenih rasprava (16).

**Tablica 1. Čimbenici koji povoljno utječu na učinkovitost EKT.**

- Trajanje bolesti kraće od 2 godine
- Bez značajne limfadenopatije
- Bez zahvaćanja viscerálnih organa
- Broj leukocita manji od  $20.000/\text{mm}^3$
- 10-20% mononuklearnih stanica
- Normalna NK aktivnost
- Normalan broj perifernih CD8+ T limfocita
- Bez prethodne intenzivne kemoterapije

## NEŽELJENE REAKCIJE FOTOFEREZE

Udio neželjenih reakcija tijekom ekstrakorporalne fotofereze manji je od 2%.

Tijekom fotofereze mogu se u bolesnika manje tjelesne težine javiti simptomi hipotenzije zbog čega treba primjeniti infuziju fiziološke otopine. Nakon vraćanja ozračenih leukocita u bolesnika se može javiti blag porast temperature. Ove febrilne reakcije u pravilu spontano prolaze.

Za vrijeme postupka može doći do pada tlaka koji se može očitovati osjećajem vrtoglavice, mučninom, ili kratkotrajnom nesvjesticom što se u veoma kratkom vremenu može riješiti nadoknadom tekućine intravenskim putem. Vitalne funkcije krvotoka se zbog mogućnosti pojave neželjenih reakcija nadziru prije, tijekom i nakon postupka fotofereze. Ako bolesnikove vene nisu prikladne za ovaj postupak, indicirano je postavljanje centralnog venskog katetera. Kao antikoagulans se u pravilu koristi otopina citrata. Citrat izaziva smanjenje koncentracije kalcija u krvi, što može uzrokovati pojavu osjećaja trnjenja po licu i šakama. Ovi simptomi nestaju u kratkom vremenu nakon primjene kalcija u obliku tableta ili u infuziji.

Istraživanja na životinjama su pokazala da primjena 8-metoksipsoralena u puno većim koncentracijama od onih koje se primjenjuju kod fotofereze može uzrokovati rak. Kod ljudi je nakon oralne primjene 8-metoksipsoralena opisana pojava mučnine, preosjetljivosti na sunce, sive mrne na očima (katarrakt) i zločudne bolesti kože. Budući da se može javiti osjetljivost na sunce, čak kad sunčeve zrake prolaze kroz prozorsko staklo, svim bolesnicima se 24 sata nakon svakog postupka preporučuje nošenje zaštitnih UVA sunčanih naočala, korištenje krema za zaštitu od sunca s zaštitnim faktorom (LSF 15), a koža treba biti pokrivena.

## NAŠI REZULTATI

U retrospektivnoj analizi obuhvaćeno je sedam bolesnika koji su liječeni u KBC Zagreb u razdoblju do 2006. do 2010. Kriteriji za početak terapiji bili su otpornost na dvije i više linija terapije i eritrodermija ili prisustvo limfomskih stanica u perifernoj krvi. Izvanjelesna fotofereza se provodila svakog tjedna 2 dana za redom tijekom 2 mjeseca, potom svakog drugog tjedna sljedeća 2 mjeseca te jednom mjesecno sljedeća 3 mjeseca. U slučaju kada nije bilo znakova poboljšanja, EKF se prekidala nakon 3 mjeseca terapije.

Bolesnici su liječeni najmanje 3 mjeseca s prosječno 26 postupaka EKF (raspon 23-102). Povoljan terapijski odgovor postignut je u 57% bolesnika (n=4; 1 KR; 3 PR). Medijan trajanja terapijskog učinka bio je

12 mjeseci, a medijan preživljjenja 24,2 mjeseca (raspon 6,1-48,5). Tijekom primjene EKF nije bilo značajnih nuspojava (17).

## ZAKLJUČAK

Ekstrakorporalna fotofereza je etablirana imunomodulacijska terapija koja je klinički sigurna i učinkovita u liječenju uznapredovalih stadija T staničnog kožnog limfoma. S obzirom da se dosadašnji rezultati uglavnom odnose na male skupine bolesnika za pravu procjenu učinka EKF potrebno je provesti prospективne randomizirane kliničke studije s većim brojem bolesnika.

## LITERATURA

1. Hwang ST, Janik JE, Jaffe ES, Wilson WH. Mycosis fungoides and Sezary syndrome. Lancet. 2008;371(9616):945-957.
2. Siegel RS, Pandolfino T, Guitart J, Rosen S, Kuzel TM. Primary cutaneous T-cell lymphoma: review and current concepts. J Clin Oncol. 2000;18(15):2908-2915.
3. Kim EJ, Hess S, Richardson SK, et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. J Invest. 2005;116(4):792-812.
4. Gardner JM, Evans KG, Musiek A, Rook AH, Kim EJ. Update on treatment of cutaneous T-cell lymphoma. Curr Opin Oncol. 2009;21(2):131-137.
5. Kim EJ, Hess S, Richardson SK, et al. Immunopathogenesis and therapy of cutaneous T cell lymphoma. J Clin Invest. 2005;115(4):798-812.
6. Pichardo DA, Querfeld C, Guitart J. Cutaneous T-cell lymphoma: a paradigm for biological therapies. Leuk Lymphoma. 2004;45(9):1755-65.
7. Trautinger F, Knobler R, Willemzhe R, et al. EORTC consensus recommendations for treatment of mycosis fungoides/Sezary syndrome. Eur J Cancer. 2006;42(8):1014-1030.
8. McKenna KE, Whittaker S, Rhodes LE, et al. Evidence-based practice of photopheresis 1987-2001: a report of a workshop of the British Photodermatology Group and the U.K. Skin Lymphoma Group. Br J Dermatol. 2006;154(1):7-20.
9. Greinix HT, Volc-Platzer B, Rabitsch W, et al: Successful use of extracorporeal photochemotherapy in the treatment of severe acute and chronic graft-versus-host disease. Blood. 1998;92(9):3098-104.
10. Rook AH, Suchin KR, Kao DM, et al: Photopheresis: clinical applications and mechanism of action. J Invest Dermatol Symp Proc. 1999;4(1):85-90.
11. Edelson R, Berger C, Gasparro F, et al. Treatment of cutaneous T-cell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy. Preliminary results. N Engl J Med. 1987;316(6):297-303.
12. Yoo EK, Rook AH, Elenitsas R, et al: Apoptosis induction of ultraviolet light A and photochemotherapy in cutaneous T-cell Lymphoma: relevance to mechanism of therapeutic action. J Invest Dermatol. 1996;107(2):235-42.
13. Heald P, Rook A, Perez M, et al. Treatment of erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma with extracorporeal photochemotherapy. J Am Acad Dermatol. 1992;27(3):427-33.
14. Richardson SK, McGinnis KS, Shapiro M. Extracorporeal photopheresis and multimodality immunomodulatory therapy in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma. J Cutan Med Surg. 2003;7(4 Suppl):8-12.
15. Berger CL, Hanlon D, Kanada D, Girardi M, Edelson RL. Transimmunization, a novel approach for tumor immunotherapy. Transfus Apher Sci. 2002; 26(3):205-16.
16. Knobler R, Bar ML, Couriel DR, et al. Extracorporeal photopheresis: past, present and future. J Am Acad Dermatol. 2009;61(4):652-665.
17. Radman I, Bojaníć I, Čeović R. Uloga ekstrakorporalne fotofereze u liječenju bolesnika s limfomima kože. Liječ Vjesn. 2012;134 (2 Suppl):55.

## Fotografije iz Pule s posljednjeg sastanka KROHEM-a u studenom 2011.





