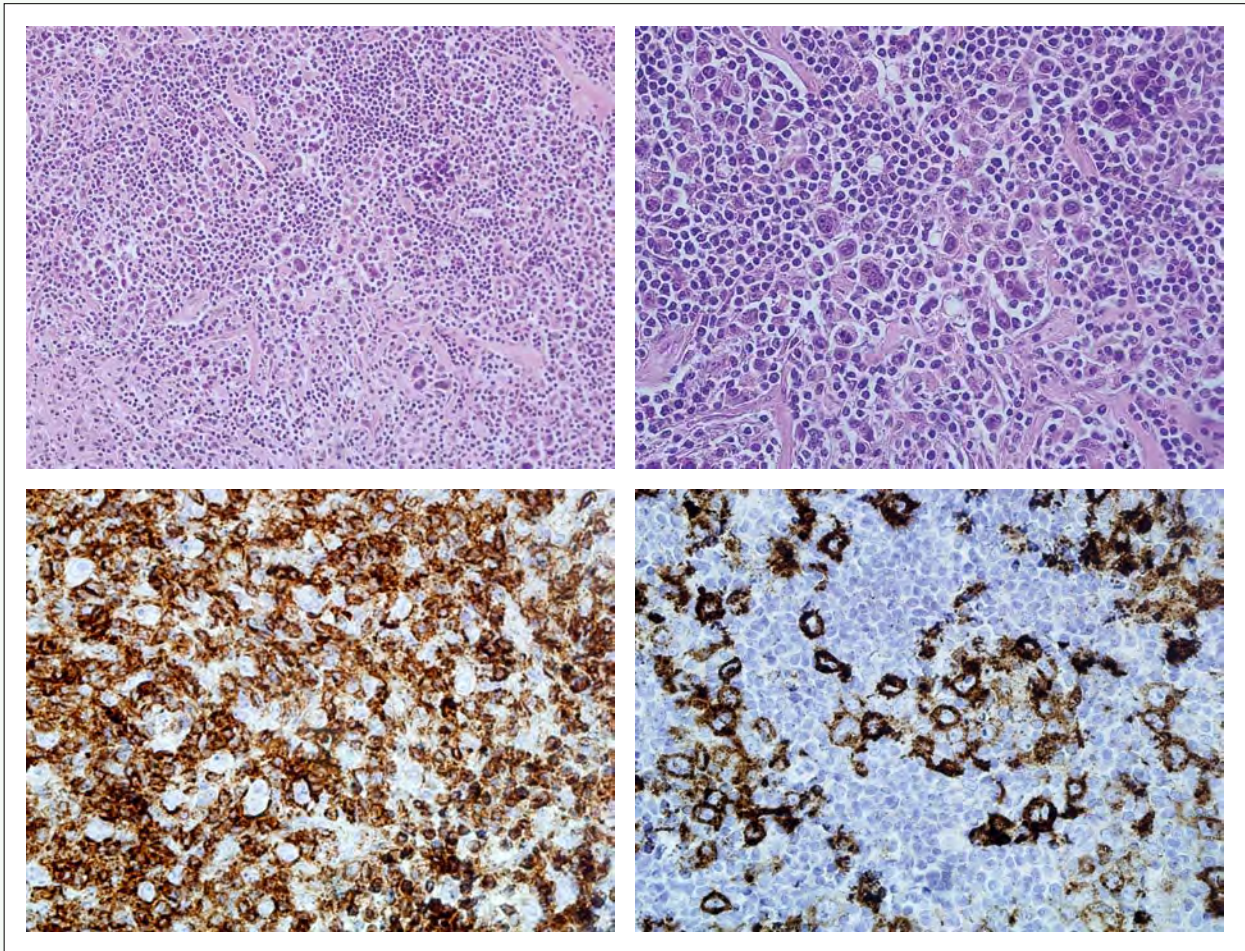


Bilten Krohema

Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KROHEM



Volumen 4., Broj 2.

Krohema

Impresum

Bilten Krohema
Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KROHEM
Volumen 4., Broj 2., Studeni 2012.

Nakladnik:

Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti KROHEM

Za nakladnika:

Damir Nemet

Glavni urednik:

Dražen Pulanić

Tajnica Uredništva:

Lana Grković

Uredništvo:

Srdana Čulić, Vlatka Čuljak, Ivan Host, Inga Mandac, Mario Piršić

Tajnica KROHEM-a:

Dijana Perčin

Autori tekstova:

Radmila Ajduković-Stojisavljević

Igor Aurer

Emina Babarović

Renata Babok-Flegarić

Sandra Bašić-Kinda

Drago Batinić

Josip Batinić

Ernest Bilić

Ana Boban

Vinko Bogdanić

Ines Bojanić

Božena Cođa

Dubravka Čaržavec

Elizabeta Čorović-Arneri

Srdana Čulić

Sanja Davidović

Sara Dejanović

Mara Dominis

Snježana Dotlić

Barbara Dreta

Irena Drmić-Hofman

Klara Dubravčić

Antica Duletić-Načinović

Nadira Duraković

Ranka Femenić

Slavko Gašparov

Marija Gilming Vintar

Branka Golubić Čepulić

Blaženka Grahovac

Zorana Grubić

Velka Gverić-Krečak

Hrvoje Holik

Tomislav Horvat

Nives Jonjić

Ika Kardum Skelin

Miroslava Katičić

Mili Komljenović

Josip Konja

Petra Korać

Jasminka Kovačević Metelko

Marko Kralik

Rajko Kušec

Boris Labar

Tatjana Ladenhauser

Ružica Lasan-Trčić

Verica Lazić-Prodan

Eva Lovrić

Ksenija Lučin

Marko Marinić

Maruška Marušić

Mirta Mikulić

Mirando Mršić

Damir Nemet

Zlatka Nemet-Lojan

Alen Ostojić

Slobodanka Ostojić Kolonić

Maja Pavlović

Sanja Pećanić

Zinaida Perić

Dražen Pulanić

Ivo Radman

Ljubica Rajić

Koraljka Rajković Molek

Jelena Roganović

Irena Seili Bekafigo

Dubravka Sertić

Ranka Serventi Seiwerth

Jasminka Sinčić-Petričević

Višnjica Suvić-Križanić

Fedor Šantek

Ljubica Škare-Librenjak

Sanja Štifter

Goran Tešović

Toni Valković

Renata Zadro

Vlatka Zoldoš

Silva Zupančić Šalek

Dubravka Županić-Krmek

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 naslovnici:

Gore lijevo: limfni čvor, Hodgkinov limfom, s aberantnom imunohistokemijskom ekspresijom nekih markera za T limfocite; hemalaun-eozin (HE), povećanje 200x.; Gore desno: isti limfni čvor, infiltracija velikih atipičnih stanica, hiperlobuliranih, dijelom potkovastih jezgara sa istaknutim nukleolima, hemalaun-eozin (HE), povećanje 400x.;

Dolje lijevo: CD3 400x, aberantna ekspresija CD3 u tumorskim stanicama, imunohistokemija, povećanje 400x.;

Dolje desno: CD15 400x, ekspresija CD15 u tumorskim stanicama, imunohistokemija, povećanje 400x.

Ustupljeno i priređeno ljubaznošću **Jasmine Rajc, dr. med.**, Klinički zavod za patologiju i sudsku medicinu, KBC Osijek.

Sadržaj

D. Nemet:

Uvodnik	3
---------------	---

Dijelovi Statuta KROHEM-a koji definiraju kriterije i uvjete za izbor

članova KROHEM-a	4
------------------------	---

Damir Nemet, Dubravka Sertić, Ivo Radman, Jasminka Kovačević Metelko, Vinko Bogdanić, Ines Bojanić, Drago Batinić, Branka Golubić Čepulić, Josip Batinić, Barbara Dreta, Nadira Duraković, Sandra Bašić Kinda, Igor Aurer, Ranka Serventi Seiwerth, Silva Zupančić Šalek, Mirando Mrsić, Dražen Pulanić, Ana Boban, Boris Labar:

Napredak u liječenju multiplog mijeloma	5
---	---

Emina Babarović, Irena Seili Bekafigo, Sanja Pećanić, Sanja Štifter, Toni Valković, Antica Duletić-Načinović, Koraljka Rajković Molek, Ksenija Lučin, Nives Jonjić:

Plazmastanični infiltrati i mikrookoliš u multiplom mijelomu	11
--	----

Igor Aurer, Slavko Gašparov, Marko Kralik, Fedor Šantek:

Drugi hrvatski konsenzus o dijagnostici i liječenju limfoma	13
---	----

Petra Korać, Snježana Dotlić, Marija Gilming Vintar, Tomislav Horvat, Eva Lovrić, Miroslava Katičić, Slobodanka Ostojić Kolonić, Vlatka Zoldoš, Slavko Gašparov, Mara Dominis:

H3K27me3 u malostaničnim limfomima	16
--	----

Dubravka Sertić, Boris Labar, Renata Zadro, Rajko Kušec, Blaženka Grahovac, Sanja Davidović, Ružica Lasan-Trčić, Antica Duletić-Načinović, Slobodanka Ostojić Kolonić, Jasminka Sinčić-Petričević, Ljubica Škare-Librenjak, Božena Coha, Dubravka Čaržavec, Dubravka Županić-Krmek, Radmila Ajduković-Stojisavljević, Renata Babok-Flegarić, Višnjica Suvić-Križanić, Elizabeta Čorović-Arneri, Verica Lazić-Prodan, Irena Drmić-Hofman:

Nove dijagnostičko-terapijske preporuke za Philadelphia pozitivnu kroničnu mijeloičnu leukemiju – prijedlog radne skupine KROHEM-a za KML	18
---	----

Maruška Marušić, Rajko Kušec:

JAK2 ekson 12 mutacije u policitemiji veri	24
--	----

Boris Labar:

Učestalost zloćudnih tumora krvotvornog sustava u Hrvatskoj u 2011. godini	25
--	----

Zinaida Perić, Alen Ostojić, Boris Labar:

Intenzivirana kemoterapija prema pedijatrijskom protokolu u ALL kod odraslih - EORTC HOVON 100 studija	31
--	----

Nadira Duraković, Alen Ostojić, Boris Labar:

Opservacijska studija AML-1: početak uključivanja bolesnika	34
---	----

Ranka Serventi Seiwerth:

Nacrt smjernica za liječenje alogeničnom transplantacijom	36
---	----

Mirta Mikulić, Zorana Grubić:

Postupak pronalaženja nesrodnog darivatelja krvotvornih matičnih stanica 39

Zorana Grubić:

Tipizacija HLA u procjeni kompatibilnog darivatelja 42

**Dražen Pulanić, Velka Gverić-Krečak, Zlatka Nemet-Lojan, Božena Coha, Hrvoje Holik,
Renata Babok-Flegarić, Mili Komljenović:**

Venske tromboembolije u pet bolnica Republike Hrvatske 45

Marko Marinić:

Kvaliteta života osoba s hemofilijom – deskriptivni prikaz pojedinih obilježja odraslih osoba
s hemofilijom u Republici Hrvatskoj 47

Tatjana Ladenhauser:

Stečena hemofilija A - prikaz slučaja iz KBC Osijek 52

Jelena Roganović:

Imuna trombocitopenija u djece 55

Srdana Čulić:

Smjernice dijagnostike i liječenja hemokromatoze u pedijatrijskoj kliničkoj praksi 57

**Ljubica Rajić, Sara Dejanović, Ranka Femenić, Maja Pavlović, Josip Konja,
Ika Kardum Skelin, Goran Tešović, Drago Batinić, Klara Dubravčić, Ernest Bilić:**

Hemofagocitna limfohistiocitoza - smjernice za dijagnostiku i liječenje 60

Dubravka Sertić, Dijana Perčin:

Fotografije s posljednjeg sastanka KROHEM-a u Trakošćanu u svibnju 2012. 64

Uvodnik



Drage kolegice i kolege, članice i članovi KROHEM-a,

pred vama je novi broj Biltena, časopisa koji je postao zaštitnim znakom KROHEM-a, s ambicijom da bude časopis koji objavljuje vaše znanstvene i stručne radove, preglede, mišljenja i pisma. Do sada je Bilten bio rezultat napora i entuzijazma kolege doc. dr. Dražena Pulanića. Od sada su tu nove snage za novi važan korak, pa je tako uz doc. Dražena Pulanića, glavnog urednika Biltena, imenovano i Uredništvo Biltena s predstavnicima svih većih hrvatskih centara, dr. Lana Grković je tajnica Uredništva, a angažirani su i profesionalni lektor i korektor. Logistika je tu, na redu su članovi KROHEM-a sa svojim priložima, možda i drugi zainteresirani.

KROHEM postaje potencijalno zanimljiv i kao regionalna institucija, od organizacije kvalitetnih stručnih sastanaka do zajedničkih istraživačkih projekata. Također i kao nacionalna kooperativna skupina sposobna za međunarodnu suradnju.

Najvažnija zadaća KROHEM-a je unaprjeđenje hrvatske hematologije koja se kontinuirano provodi kroz stvaranje stručnih standarda, poticanje opservacijskih i (nešto teže ili kasnije) intervencijskih kliničkih istraživanja, izgrađivanje svakog ponaosob kao hematologa i hematologije općenito. Napredak je već evidentan i u teoriji i u svakodnevnoj praksi liječenja bolesnika, no još uvijek zahtijeva veću implementaciju dogovorenih dijagnostičkih i terapijskih standarda i algoritama.

KROHEM je već sada opravdao svoje postojanje, a pred nama je da krenemo i korak dalje od korisnih i vrlo uspješnih jesenskih i proljetnih sastanaka. Registar hematoloških bolesti u Hrvatskoj koji je sada najveći projekt KROHEM-a, trenutno je zaustavljen. Radi se na novoj koncepciji i strukturi Registra, no do sada sakupljeni podaci su sačuvani i osnova su za nastavak rada na Registru. Epidemiologija hematoloških bolesti u Hrvatskoj je vrlo složen zadatak i zahtijeva precizan pristup. Radi se i na ideji apliciranja projekta KROHEM-a za financiranje iz europskih fondova što je dug i težak put; prvi korak je specifična edukacija za izradu prijedloga projekta. Želimo postići što je moguće veći stupanj financijske neovisnosti KROHEM-a kao preduvjet realizacije njegovih projekata.

Sastanci KROHEM-a su vrlo produktivni, i za sada koncept sastanaka ostaje isti: voditelji radnih skupina kreiraju stručni dio sastanaka, a voditelje radnih skupina se potiče na samostalno organiziranje radnih sastanaka s time da na sastancima KROHEM-a prezentiraju rezultate postignutih dogovora, izlažu planove kliničkih istraživanja ili pripremaju pitanja za opću raspravu.

Ne treba zaboraviti potrebu racionalizacije dijagnostičkih i terapijskih postupaka stvaranjem smjernica i algoritama uvažavajući opću situaciju u hrvatskom zdravstvu i društvu općenito, istovremeno vodeći računa da naši bolesnici ne budu zakinuti za kvalitetnu zdravstvenu skrb i suvremen pristup dijagnostici i liječenju. U tome uvelike mogu pomoći i farmaceutske tvrtke.

Za sada KROHEM vjerno služi svojim članovima omogućavajući im nesmetana putovanja putem donacija farmaceutskih tvrtki u svrhu edukacije članova. Članove koji koriste ove oblike edukacije molimo da Upravi KROHEM-a dostave potvrde (certifikate) o sudjelovanju na pojedinom sastanku. Barem toliko. Postoji velik interes novih kolega za učlanjenje u KROHEM. Pitanje je žele li aktivno raditi ili samo koristiti beneficije koje pruža članstvo u KROHEMU-u? Slijedi revizija članstva, a na stranicama Biltena podsjetit ćemo na dijelove Statuta KROHEM-a koji definiraju uvjete za članstvo.

Pozivam sve na aktivno sudjelovanje u radu KROHEM-a, starije kolege svojim iskustvom, znanjem i vizijom, mlađe kolege svojim idejama, energijom i entuzijazmom. Samo tako ćemo stvoriti respektabilnu i potpuno operativnu kooperativnu nacionalnu skupinu.

Prof. dr. sc. Damir Nemet, dr. med.
Predsjednik KROHEM-a

Dijelovi Statuta KROHEM-a koji definiraju kriterije i uvjete za izbor članova KROHEM-a

Članak 10.

Članovi Udruge su liječnici hematolozi, internisti i pedijatri koji se bave hematologijom, svi djelatnici visoke stručne sprema koji izravno sudjeluju u dijagnostici i liječenju hematoloških bolesti (patolog, citolog, imunolog, transfuziolog, citogenetičar, molekularni biolog, specijalist kliničke biokemije i ostali stručnjaci za koje Upravni odbor Krohema ustvrdi da zadovoljavaju uvjete za redovnog člana).

Članovi KROHEM-a su i liječnici na specijalizaciji iz interne medicine i/ili znanstveni novaci na projektima koji su vezani na hematologiju.

Članovi Udruge su redovni, pričuveni, izvanredni, vanjski i počasni

Liječnici koji su izabrani u status redovnih, izvanrednih ili pričuvenih članova moraju djelovati i raditi u hrvatskim zdravstvenim ustanovama.

Liječnici koji nemaju završni ispit bilo koje struke biraju se u pričuvene članove.

Članak 11.

Kriteriji za izbor članova su:

Redovni članovi

Za izbor u redovnog člana KROHEM-a kandidat mora ispunjavati jedan od navedenih posebnih kriterija:

- Predsjednik ili član Upravnog odbora KROHEM-a;
- Voditelj projekta KROHEM-a;
- Voditelj ili član radne skupine KROHEM-a;
- Voditelj ili član ekspertnog tima KROHEM-a;
- prijava najmanje 3 bolesnika (za 1 god.) u istraživanja KROHEM-a;
- upis 10 bolesnika tijekom 1 godine u Registre KROHEM-a.

Pričuveni članovi

Za izbor u pričuvnog člana KROHEM-a kandidat mora ispunjavati jedan od navedenih posebnih kriterija kako je to navedeno za redovnog člana i:

- potvrda mentora da je kandidat na specijalizaciji ili potvrda o znanstvenom novaštvu.

Izvanredni članovi

Za izbor u izvanrednog člana KROHEM-a biraju se kandidati koji ispunjavaju opći kriterij naveden u Čl. 10. ali ne ispunjavaju ni jedan kriterij za izbor u redovnog člana.

Vanjski članovi

Za izbor u vanjskog člana biraju se kandidati koji zadovoljavaju kriterije općeg izbora navedene u Čl.10. a nisu državljani republike Hrvatske.

Počasni članovi

Za izbor u počasnog člana KROHEM-a mogu biti birani:

- osobe u mirovini s više od 5 godina rada kao redovni članovi;
- inozemni državljani eksperti iz hematologije ako postoji obostrani interes za suradnju.

Članak 15.

Postupak provedbe izbora u članove KROHEM-a: izbor u članove KROHEM-a provodi se jednom godišnje početkom godine na sastanku UO (u siječnju svake godine). Izbor se provodi na sljedeći način:

temeljem kriterija tajnica KROHEM-a predlaže Predsjedniku nove članove KROHEM-a. Istodobno tajnica KROHEM-a predlaže Predsjedniku KROHEM-a produljenje statusa člana za prije izabrane članove, ako i dalje udovoljavaju kriterijima izbora za člana.

Predsjednik KROHEM-a na sastanku UO predlaže listu novih članova, kao i listu članova kojima se produljuje status za slijedeću godinu. Istodobno obrazlaže razloge zbog čega su neki od članova izgubili status člana ili su predloženi za drugačiju statusnu razinu člana.

Upravni odbor potvrđuje listu članova za narednu kalendarsku godinu i ima pravo nadopuniti odnosno mijenjati listu.

Napredak u liječenju multiplog mijeloma*

Damir Nemet, Dubravka Sertić, Ivo Radman, Jasminka Kovačević Metelko, Vinko Bogdanić, Ines Bojanić, Drago Batinić, Branka Golubić Čepulić, Josip Batinić, Barbara Dreta, Nadira Duraković, Sandra Bašić Kinda, Igor Aurer, Ranka Serventi Seiwerth, Silva Zupančić Šalek, Mirando Mrsić, Dražen Pulanić, Ana Boban, Boris Labar

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

Prof. dr. sc. Damir Nemet, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

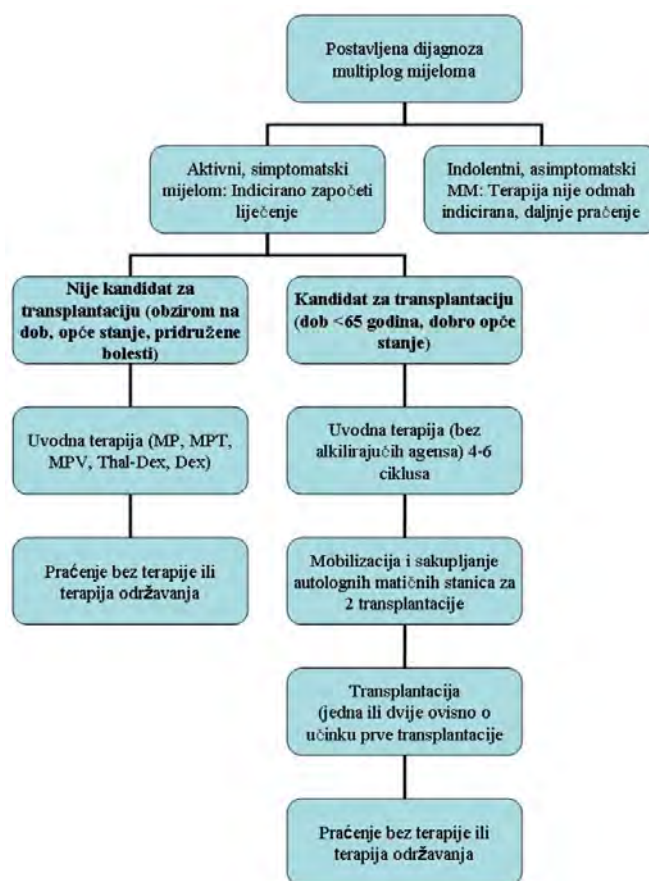
E-pošta: dnemet@mef.hr

Uvod

Liječenje multiplog mijeloma (MM) uvelike ovisi o stanju bolesnika, komorbiditetu i dobi. Kod bolesnika mlađih od 65 godina, dobrog općeg stanja, sa zadovoljavajućom funkcijom svih organskih sustava, liječenje se sastoji od uvodne terapije kojom se nastoji smanjiti tumorska masa, potom primjene visokih doze melfalana i transplantacije autolognih hematopoetskih matičnih stanica, a u nekih bolesnika, ovisno o odgovoru, provode se i dvije uzastopne transplantacije tzv. tandem transplantacija. Stariji bolesnici (> 65 godina) ili oni s ozbiljnijim komorbiditetom i/ili oštećenom funkcijom organskih sustava liječe se konvencionalnom kemoterapijom različitog intenziteta. Na Slici 1 prikazan je suvremeni pristup liječenju multiplog mijeloma.

Razvoj liječenja multiplog mijeloma

Prije 1990. liječenje MM sastojalo se od primjene kemoterapije alkilirajućim agensima, najčešće kombinacijom melfalana i prednizona (MP) te kombiniranom kemoterapijom koja je uglavnom sadržavala vinkristin, adriamicin, deksametazon ili prednizon, melfalan, ciklofosamid, BCNU, rjeđe druge citostatike (VAD, VMCP, VBAP, M2 protokoli). Odgovor na terapiju postizao se u oko 70% bolesnika, a postizanje KR bio je rijedak slučaj. Prvi bitan napredak u liječenju učinjen je primjenom visokih doza melfalana i transplantacijom autolognih matičnih stanica (ATMS) krajem osamdesetih godina. Prvo izvješće o primjeni ATMS u liječenju MM datira iz 1983. (1). Osamdesetih godina prošlog stoljeća ATMS se sve češće promjenjuje u liječenju limfoproliferativnih



Slika 1. Algoritam liječenja multiplog mijeloma.

MP=melfalan i prednizon, MPT=melfalan, prednizon i talidomid, MPV=melfalan, prednizon i Velcade (bortezomib), Thal-Dex=talidomid i deksametazon, Dex=deksametazon

* Dijelovi teksta preuzeti su iz Liječničkog Vjesnika Suppl 1, 2012.

bolesti, poglavito limfoma i akutnih leukemija, sve češće i multiplog mijeloma (2,3,4-7). Početkom devedesetih godina u mnogim centrima ATMS postaje standardan pristup liječenju MM, kada rezultati primjenom jedne ili dvije ATMS pokazuju superiordan rezultat u odnosu na konvencionalnu kemoterapiju (8-11,12). Preživljenje bolesnika nakon 5 godina iznosilo je 52% u transplantiranih u usporedbi s 12% u onih liječenih konvencionalnom terapijom s jednakom smrtnošću u obje skupine od 3% (8). Primjena dvije transplantacije evaluirana je u francuskoj studiji koja je pokazala da bolje preživljenje bolesnika liječenih s dvije ATMS (12). Kasnija analiza rezultata utvrdila je da je bolji rezultat samo u skupini bolesnika koji nakon prve transplantacije nisu postigli kompletnu remisiju (KR) ili vrlo dobru parcijalnu remisiju (VDPR) što je donekle promijenilo pristup dvostrukoj transplantaciji.

Devedesetih godina dominantan pristup liječenju MM u bolesnika mlađih od 65-70 godina bio je VAD protokol praćen jednom ili dvije ATMS (8-10,12). Bolesnici koji nisu bili prikladni za transplantaciju zbog visoke dobi ili komorbiditeta liječeni su uglavnom MP ili VAD protokolom kao i u prethodnom periodu. Takav pristup bio je praksa i u našoj sredini gdje je liječenje MM ATMS započeto 1993. i postalo standardan pristup liječenju bolesnika mlađih od 65 godina (7). Transplantacija je, međutim, rijetko kurativna metoda te je prije ili kasnije dolazilo do relapsa, odnosno progresije bolesti. Bolesnici u kojih se javio relaps ili progresija bolesti nakon transplantacije dalje su bili liječeni isključivo kemoterapijom navedenim protokolima s relativno skromnim rezultatom produženja života. Pojava novih lijekova krajem devedesetih i nakon 2000. godine, prvo talidomida, zatim bortezomiba i lenalidomida otvorila je nove mogućnosti i napredak u liječenju kako bolesnika koji se liječe transplantacijom tako i bolesnika koji nisu prikladni za transplantaciju, odnosno onih u kojih se javio relaps, odnosno progresija bolesti nakon transplantacije.

Prvi od tih lijekova bio je talidomid, antiangiogenezni i imunomodulatorni agens. Prva klinička istraživanja (13) pokazala su njegovu djelotvornost kod refraktorne bolesti i u bolesnika u relapsu, a kasnije studije (14) potvrdile su njegovu još veću djelotvornost u kombinaciji s deksametazonom i drugim protokolima sa ili bez ASCT. U našem centru talidomid se počeo sporadično primjenjivati, uglavnom kao terapija bolesnika u relapsu/progresiji bolesti već nakon 2000. godine. Glavni problem u njegovoj primjeni bila je dostupnost, obzirom da ni danas

talidomid nije registriran u Hrvatskoj pa je primjenjivan izvan priznate indikacije, a većina bolesnika lijek je morala nabavljati o vlastitom trošku. To je značajno ograničilo njegovu širu primjenu. Danas se bolesnicima osigurava na teret bolničkog računa. Drugi lijek sličnog mehanizma djelovanja, lenalidomid, značio je daljnji korak u poboljšanju terapije MM (15). U Hrvatskoj lenalidomid također nije registriran, a s obzirom na to da je tek relativno nedavno i u zapadnim zemljama registriran za terapiju relapsa/refraktorne bolesti te s obzirom na visoku cijenu, u našem centru, osim sporadično, do sada nije primjenjivan.

Bortezomib je inhibitor proteasoma, odobren za primjenu nakon 2005. u SAD i zapadnoj Europi (16). Njegova djelotvornost je dokazana u monoterapiji i u različitim kombinacijama s deksametazonom i kemoterapijskim protokolima (VMP, PAD) kao i u kombinacijama s novim lijekovima, talidomidom i lenalidomidom te je danas jedan od temeljnih lijekova za liječenje MM.

Bortezomib je u Hrvatskoj registriran relativno rano nakon prvih studija koje su dokazale njegovu djelotvornost 2006. godine kao treća linija terapije tj. za liječenje bolesnika nakon drugog relapsa/progresije bolesti. U našem centru primjenjivan je u tih bolesnika, a sporadično u ranijim fazama bolesti. Na žalost, od tada, unatoč rezultatima koji su pokazivali njegovu veću ulogu pri primjeni u ranijim fazama bolesti (17,18) bortezomib je u Hrvatskoj i dalje odobren samo za treću liniju terapije pa je time njegova primjena ograničena. Ipak primjenjivan je u značajnog broja bolesnika pa je moguće da je donekle utjecao na promjenu ishoda bolesnika u relapsu/progresiji bolesti.

Novi lijekovi, talidomid, bortezomib, lenalidomid, su, više ili manje, u rutinskoj primjeni u većini europskih zemalja, sami ili u kombinaciji s drugim lijekovima. Novija retrospektivna istraživanja napretka u liječenju multiplog mijeloma (19,20-24) pokazala su da su spomenuti novi terapijski pristupi rezultirali značajnim poboljšanjem preživljenja bolesnika, posebno mlađih dobnih skupina ispod 65 godina starosti. Analiza bolesnika s Mayo klinike (21) ukazuju na značajan napredak kako kod novodijagnosticiranih bolesnika tako i u bolesnika u relapsu bolesti nakon transplantacije.

Za razliku od rezultata prijašnje terapije gdje je postizanje kompletne remisije bio relativno rijedak rezultat, primjenom nove strategije liječenja MM kompletna remisija postiže se u velikog broja bolesnika. Postizanje KR ili VDPR cilj je liječenja tran-

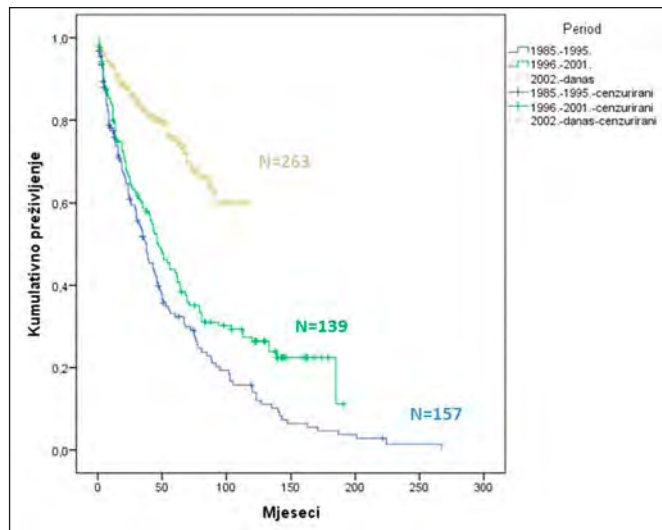
splantacijom u kombinaciji s novim lijekovima jer je krajnji ishod liječenja bolesnika koji postignu CR ili VGPR znatno bolji.

Svi novi lijekovi pokazuju superioran rezultat konvencionalnoj kemoterapiji i inkorporirani su u liječenje bolesnika prije i nakon transplantacije kao uvodna terapija ili terapija bolesnika u relapsu/progresiji bolesti. Za sada niti jedna terapija nije značajno superiorna drugoj no jasno je da dodatak bilo kojeg od novih lijekova kemoterapijskom protokolu poboljšava ishod liječenja, a uključivanje novih lijekova već u uvodnu terapiju MM se generalno preporučuje. Buduća klinička istraživanja razjasnit će ulogu novih lijekova u liječenju MM općenito kao i u pojedinim subpopulacijama bolesnika stratificiranim prema određenim čimbenicima rizika (citogenetika, bubrežna insuficijencija, prisutnost neuropatije i sl.).

Napredak u liječenju multiplog mijeloma u zavodu za hematologiju KBC Zagreb

Primjenom novih lijekova, unatoč njihovoj ograničenoj dostupnosti u Hrvatskoj, ali zahvaljujući i ranoj i sve široj primjeni transplantacije autolognih matičnih stanica (ATMS) za očekivati je i napredak u rezultatima liječenja mijeloma koji bi se trebao očitovati produženjem preživljenja bolesnika, posebno onih mlađih od 65 godina, prikladnih za liječenje transplantacijom. S tim ciljem analizirali smo dužinu života 560 bolesnika s MM liječenih u Zavodu za hematologiju KBC Zagreb u periodu od 1985. do 2010. Analiza je provedena u različitim vremenskim periodima tj. od 1985. do 1995. tj. u vremenu prije šire primjene ATMS, zatim od 1996. do 2001. u periodu sve šire primjene ATMS te od 2002. do 2010. što se podudara s vremenom primjene novih lijekova, talidomida i bortezomiba.

Kada se preživljenje bolesnika analizira po definiranim periodima, vidljiva je značajna razlika u dužini života bolesnika liječenih u tim periodima što odražava napredak koji je postignut prvo transplantacijom autolognih matičnih stanica, a zatim transplantacijom u kombinaciji s novim lijekovima, talidomidom i bortezomibom (Slika 2).



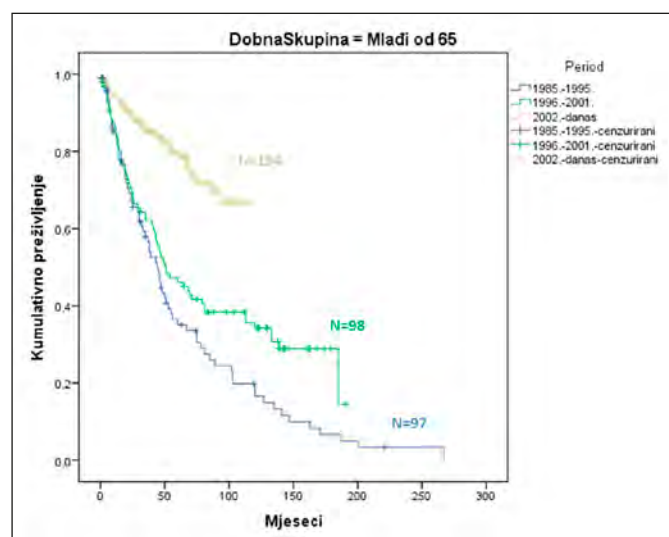
Slika 2. Usporedba očekivanog preživljenja u skupini od 560 bolesnika liječenih u Zavodu za hematologiju KBC Zagreb od 1985. do 2010. prema periodima kada je postavljena dijagnoza.

157 bolesnika dijagnosticirano je u periodu od 1985. do 1995., 139 bolesnika u periodu od 1996. do 2001., a 263 bolesnika u periodu od 2002. do 2010.

Medijan preživljenja bolesnika čija je dijagnoza postavljena u periodu od 1985. do 1995. (N=157) iznosi 38 mjeseci, a duže od 10 godina živi preko 15% bolesnika što je nešto bolje nego u povijesnoj skupini bolesnika liječenih od 1974. do 1988. gdje je medijan preživljenja iznosio 28 mjeseci i duže od 10 godina živjelo manje od 10% bolesnika (Kovačević i sur. 1989.). Nasuprot tome u bolesnika u kojih je dijagnoza postavljena periodu od 1996. do 2001. (N=139) medijan preživljenja iznosi 47 mjeseci, a duže od 10 godina živi blizu 30% bolesnika što je statistički signifikantno bolje u odnosu na prethodni period ($p=0,009$). Konačno, u skupini bolesnika kojima je dijagnoza postavljena nakon 2001. (N=263) medijan preživljenja nije dosegnut, a vjerojatnost preživljenja nakon deset godina iznosi 60% što je visoko statistički signifikantno u odnosu na prethodne periode ($p=0,000$) (Slika 2).

Pristup liječenju bolesnika s MM mlađih od 65 godina znatno se razlikuje od pristupa liječenju starijih bolesnika, prvenstveno u mogućnosti liječenja transplantacijom autolognih matičnih stanica što nije prikladno za starije bolesnike. Zbog toga je uobičajeno odvojeno prikazivati rezultate liječenja kod mlađih i starijih bolesnika. U našoj skupini bolesnika 389 bolesnika bilo je prema dobi i općem stanju prikladno za liječenje transplantacijom. 170 bolesnika su bili stariji od 65 godina.

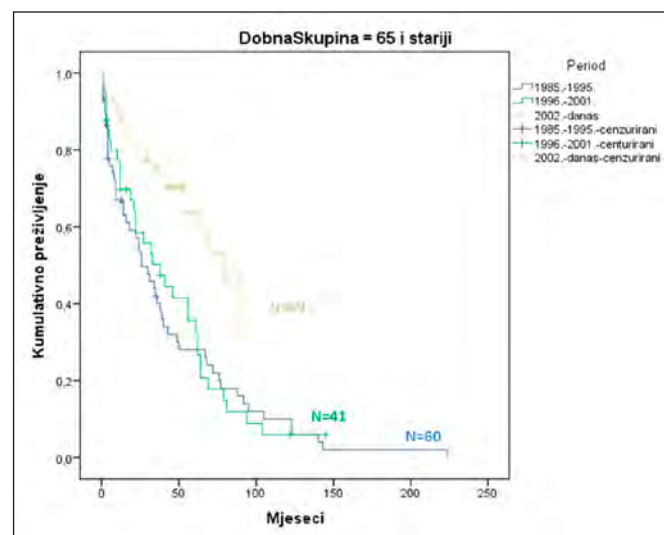
U skupini bolesnika prikladnih za transplantaciju 97 bolesnika su liječeni u periodu od 1985. do 1995., 98 bolesnika u periodu od 1996. do 2001., a 194 bolesnika u periodu od 2002. do 2010. Medijan preživljenja bolesnika liječenih u prvom periodu iznosio je 45 mjeseci, a 20% bolesnika živi duže od 10 godina. U drugoj skupini medijan preživljenja iznosi 51 mjesec, a 40% bolesnika živi duže od 10 godina. Razlika je statistički značajna, a treba istaknuti da se krivulje preživljenja značajno razdvajaju tek nakon tri godine praćenja. Još veća razlika vidljiva je u trećoj skupini gdje nije dosegnut medijan preživljenja, a vjerojatnost preživljenja nakon deset godina je veća od 65% što je visoko statistički značajno u odnosu na druge skupine (Slika 3). Ukupno medijan preživljenja za cijelu skupinu bolesnika mlađih od 65 godina iznosio je 85 mjeseci.



Slika 3. Usporedba očekivanog preživljenja u skupini bolesnika mlađih ili jednako 65 (N=389) prema periodima kada je postavljena dijagnoza.

Starijih od 65 godina bilo je 170 bolesnika, 60 bolesnika dijagnosticirano je u periodu od 1985. do 1995., 41 bolesnik u periodu od 1996. do 2001., a 60 bolesnika u periodu od 2002. do 2008. medijan preživljenja u prvoj skupini iznosio je 26 mjeseci, a u drugoj skupini 38 mjeseci što nije statistički signifikantno i ove dvije krivulje preživljenja se u većoj mjeri preklapaju (Slika 4). Ovo ne iznenađuje s obzirom na to da su u ova dva perioda bolesnici starije dobi liječeni jednako, standardnom kemoterapijom. U drugom periodu samo mlađi bolesnici su liječeni drugačije, transplantacijom autolognih matičnih stanica. Izvjestan trend nešto boljeg rezultata u drugom periodu, mada statistički nesignifikantan, moguće je objasniti nešto boljom potpornom terapijom. Manje od 10% bolesnika u obje skupine živi duže

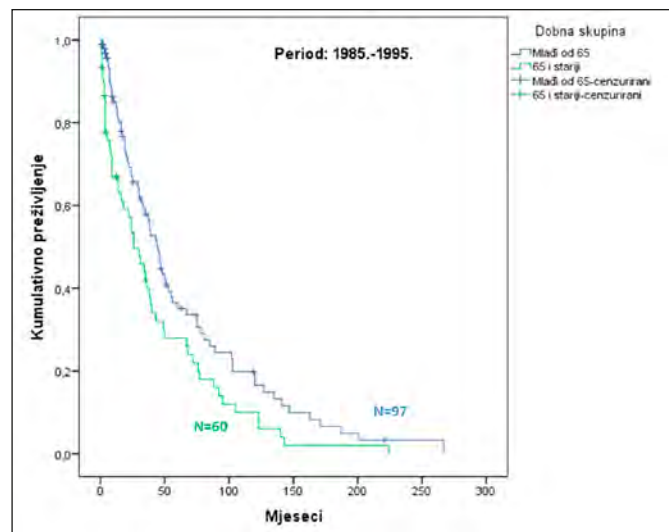
od 10 godina. U trećoj skupini bolesnika, u kojih je dijagnoza postavljena u periodu nakon 2001. godina vidljiva je značajno poboljšanje preživljenja s medijanom od 79 mjeseci pri čemu oko 45% bolesnika ima vjerojatnost preživljenja 7 godina, a preko 30% bolesnika živi deset godina (Slika 4). Ovaj napredak u skupini bolesnika koji se ne liječe transplantacijom može se pripisati primjeni novih lijekova i boljoj potpornoj terapiji.



Slika 4. Usporedba očekivanog preživljenja u skupini bolesnika starijih od 65 (N=170) prema periodima kada je postavljena dijagnoza.

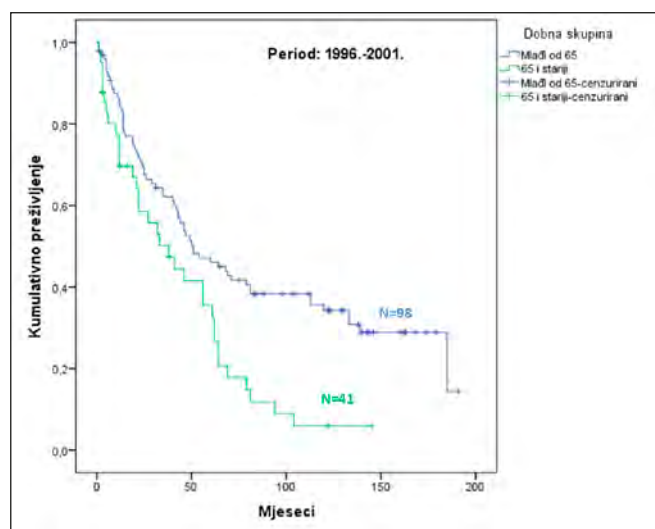
Kako bi se procijenio utjecaj terapijskih pristupa ali i dobi u pojedinim vremenskim periodima učinjena je usporedna analiza preživljenja bolesnika mlađih od 65 godina i starih 65 godina i više u pojedinim vremenskim periodima tj. od 1985. do 1995., od 1996. do 2001. te od 2002. do 2010.

Preživljenje bolesnika mlađih od 65 godina i 65 godina i starijih u kojih je dijagnoza postavljena 1985. do 1995. tj. u eri konvencionalne terapije prikazano je na Slici 5. Vidljivo je da su krivulje podudarne i paralelne ali postoji veća vjerojatnost preživljenja mlađih bolesnika što je statistički signifikantno ($p=0,02$). Medijan preživljenja starijih bolesnika iznosi 26 mjeseci, a oko 10% bolesnika je živo nakon 10 godina. Kod mlađih bolesnika medijan preživljenja je 45 mjeseci, a 20% bolesnika su živi nakon 10 godina (Slika 5).



Slika 5. Usporedba očekivanog preživljenja prema dobnim skupinama (< 65 i ≥ 65 god.) u periodu od 1985. do 1995.

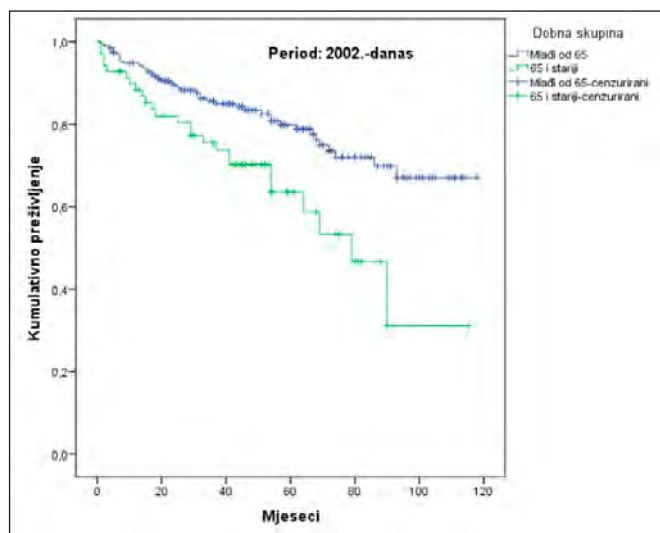
U periodu od 1996. do 2001. trebao bi se očitovati utjecaj učestalije primjene transplantacije autolognih matičnih stanica u mlađih bolesnika i poboljšanje preživljenja uvjetovano terapijskim potencijalom transplantacije (Slika 6). Medijan preživljenja starijih bolesnika u tom periodu bio je 38 mjeseci, a manje od 10% njih doživi deset godina. Ovaj rezultat je tek nešto bolji u usporedbi s populacijom bolesnika iste dobi liječenih u periodu od 1985. do 1995. U bolesnika mlađih od 65 godina poboljšanje preživljenja je očito i značajno bolje nego u prethodnom periodu. Medijan preživljenja bolesnika mlađih od 65 godina bio je 51 mjesec što je statistički značajno bolje nego u starijih bolesnika i značajno bolje nego u istoj dobnj skupini u prethodnom periodu. Pri tome blizu 40% bolesnika ima vjerojatnost da će doživjeti deset godina (Slika 6).



Slika 6. Usporedba očekivanog preživljenja prema dobnim skupinama (< 65 i ≥ 65 god.) u periodu od 1996. do 2001.

U trećem periodu, od 2002. do 2010. očekivan je utjecaj terapijskog potencijala rutinske primjene transplantacije autolognih matičnih stanica u mlađih bolesnika te primjene novih lijekova, talidomida i bortezomiba u svih bolesnika, kao i bolje potporne terapije bolesnika s mijelomom.

Na Slici 7 prikazane su krivulje preživljenja starijih i mlađih bolesnika u kojih je dijagnoza postavljena u periodu od 2002. do 2010. Mada je u ovom periodu medijan praćenja nešto kraći nego u prethodnim periodima vidljivo je značajno poboljšanje preživljenja i u mlađih i u starijih bolesnika, u obje skupine značajno bolje nego u istim dobnim skupinama u prethodnim vremenskim periodima. Ipak, u bolesnika mlađih od 65 godina preživljenje je značajno bolje nego u starijih bolesnika ($p=0,002$) što odražava veći terapijski potencijal transplantacije i novih lijekova u usporedbi sa samo primjenom konvencionalne terapije i novih lijekova u starijoj dobnj skupini. Medijan preživljenja bolesnika starijih od 65 godina iznosio je 79 mjeseci što je dramatično bolje nego u prethodnim vremenskim periodima za istu dobnj skupinu. U bolesnika mlađih od 65 godina medijan preživljenja nije dosegnut nakon deset godina no približno 70% bolesnika ima vjerojatnost preživljenja od deset godina (Slika 7).



Slika 7. Usporedba očekivanog preživljenja prema dobnim skupinama (< 65 i ≥ 65 god.) u periodu od 2002. do 2010.

Uz specifičnu antitumorsku terapiju važan dio liječenja MM je profilaksa i potporna terapija koštane bolesti, boli, anemije, bubrežne insuficijencije, osjećaja slabosti i umora, infekcija, hiperkalcemije i emocionalnog stresa. Ove mjere značajno pridonose smanjenju morbiditeta, poboljšanju kvalitete života bolesnika ali i produženju života smanjujući uče-

stalost i težinu komplikacija s potencijalno smrtnim ishodom.

Zaključak

U zaključku treba reći da, mada se multipli mijelom i dalje smatra većinom neizlječivom bolešću, u zadnjih petnaest godina uslijedio je značajan napredak u rezultatima liječenja u svijetu i u našoj zemlji. Ovaj napredak može se pripisati trima novim terapijskim pristupima: transplantaciji autolognih matičnih stanica, primjeni novih lijekova, s novim i potentnim mehanizmima djelovanja, talidomidu, bortezomibu i lenalidomidu te napretku u potpornoj terapiji mijeloma, prvenstveno primjeni bisfosfonata za liječenje koštane bolesti i hiperkalcemije, prevenciji i liječenju infekcija, bubrežnog oštećenja i sl. U kasnim fazama kliničkih istraživanja tj. vrlo blizu šire kliničke primjene je velik broj novih lijekova koji će značajno i još više poboljšati rezultate liječenja mijeloma. To su novi lijekovi iz grupe inhibitora proteasoma (carfilzomib), novi imunomodulatorni agensi (pomalidomid), monoklonska protutijela (elotuzumab) te još niz drugih obećavajućih lijekova.

Ovom analizom pokazali smo nedvojben napredak u rezultatima liječenja multiplog mijeloma u zadnjih petnaest godina u našem centru u KBC Zagreb što je sigurno indikativno i ukazuje na općenit napredak u liječenju mijeloma u Hrvatskoj. U ukupnom broju bolesnika značajan je broj bolesnika liječenih transplantacijom, a očit je značajan trend ka primjeni novih lijekova unatoč njihovoj ograničenoj dostupnosti.

Ova je analiza jasno pokazala da se što ranijom primjenom novih metoda liječenja i novih lijekova može postići vrlo vidljiv napredak u liječenju jedne bolesti. Analiza je korisna i poučna za poticanje promjene u konzervativnim stavovima o liječenju multiplog mijeloma te za planiranje, prihvaćanje i provođenje novih terapijskih pristupa u lokalnoj sredini.

Literatura:

- McElwain TJ, Powles RL. High-dose intravenous melphalan for plasma-cell leukaemia and myeloma. *Lancet*. 1983;2:822-824.
- Harousseau JL, Moreau P. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2009;360:2645-54.
- Mehta J, Singhal S. Current status of autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma. *Bone Marrow Transplant*. 2008;42(Suppl 1):S28-S34.
- Nemet D. Transplantacija autologne koštane srži- Novi pristup liječenju malignih hematoloških bolesti, I Dio: Znanstveni principi i metodologija liječenja. *Lij Vjes*. 1989; 111: 466-74.
- Nemet D. Transplantacija autologne koštane srži - Novi pristup liječenju malignih hematoloških bolesti, II Dio: rezultati liječenja u akutnih leukemija, malignih limfoma i solidnih tumora. *Lij Vjes*. 1990; 112: 53-58.
- Nemet D, Labar B, Bogdanić V i sur. Liječenje neoplastičnih hematoloških bolesti intenzivnom radiokemoterapijom i transplantacijom krioprezervirane autologne koštane srži. *Lij Vjes*. 1989; 111: 348-53.
- Nemet, D. Sertić D, Mrišić M i sur. Stem cell transplantation for multiple myeloma in Croatia: evaluation of the efficacy of double stem cell transplantation. *Leukemia Research*. 2007;31 (Suppl 2): S20-S21
- Attal M, Harousseau JL, Stoppa AM i sur. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *N Engl J Med*. 1996;335:91-97.
- Child JA, Morgan GJ, Davies FE i sur. High-dose chemotherapy with hematopoietic stem-cell rescue for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003;348:1875-1883.
- Barlogie B, Jagannath S, Vesole DH i sur. Superiority of tandem autologous transplantation over standard therapy for previously untreated multiple myeloma. *Blood*. 1997;89:789-793.
- Barlogie B, Tricot GJ, van Rhee F et al. Long-term outcome results of the first tandem autotransplant trial for multiple myeloma. *Br J Haematol*. 2006;135:158-164.
- Attal M, Harousseau JL, Facon T i sur. Single versus double autologous stem-cell transplantation for multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2003;349:2495-2502.
- Singhal S, Mehta J, Desikan R i sur. Antitumor activity of thalidomide in refractory multiple myeloma. *N Engl J Med*. 1999;341:1565-1571.
- Palumbo A, Facon T, Sonneveld P i sur. Thalidomide for treatment of multiple myeloma: 10 years later. *Blood*. 2008;111:3968-3977.
- Richardson PG, Blood E, Mitsiades CS i sur. A randomized phase 2 study of lenalidomide therapy for patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma. *Blood*. 2006;108:3458-3464.
- Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW i sur. Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med*. 2005;352:2487-2498.
- Palumbo A, Gay F. How to treat elderly patients with multiple myeloma: combination therapy or sequencing. *Hematology, ASH Educational Book*. 2009:566-577.
- San Miguel JF, Mateos M-V. How to treat a newly diagnosed young patient with multiple myeloma. *Hematology, ASH Educational Book*. 2009:555-565.
- Kyle RA, Rajkumar SV. Multiple myeloma. *Blood*. 2008;111:2962-72.
- Kumar S. Progress in the treatment of multiple myeloma. *Lancet*. 2006;367:791-792.
- Kumar SK, Rajkumar SV, Dispenzieri A i sur. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. *Blood*. 2008;111:2516-20.
- Blade J, Rosinol L. Advances in therapy of multiple myeloma. *Curr Opin Oncol*. 2008;20:697-704.
- Kastritis E, Palumbo A, Dimopoulos MA. Treatment of relapsed/refractory multiple myeloma. *Semin Hematol*. 2009;46:143-57.
- Kristinsson SY, Landgren O, Dickman PW, Derolf AR, Björkholm M. Patterns of survival in multiple myeloma: a population-based study of patients diagnosed in Sweden from 1973 to 2003. *J Clin Oncol*. 2007;25:1993-1999.

Plazmastanični infiltrati i mikrookoliš u multiplom mijelomu

Emina Babarović¹, Irena Seili Bekafigo², Sanja Pećanić¹, Sanja Štifter¹, Toni Valković³, Antica Duletić-Naćinović³, Koraljka Rajković Molek², Ksenija Lučin¹, Nives Jonjić¹

¹ *Zavod za patologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka*

² *Klinička jedinica za kliničku citologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka*

³ *Zavod za hematologiju, reumatologiju i kliničku imunologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka*

Adresa autora za kontaktiranje:

Prof. dr. sc. Nives Jonjić, dr. med.

Zavod za patologiju

Klinički bolnički centar Rijeka

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

E-pošta: nives@medri.hr

Multipli mijelom (MM) drugi je najčešći oblik krvne maligne bolesti koja se razvija u mikrookolišu koštane srži. Mikrookoliš koštane srži u MM sastoji se od tumorskih plazma stanica, proteina izvanstaničnog matriksa, stromalnih stanica koštane srži i njihovih čimbenika rasta i inhibitora, vaskularnih endotelnih stanica, mikrovaskulature i angiogenih čimbenika, osteoblasta, osteoklasta i upalnih stanica (1). Komponente tumorskog mikrookoliša su tijesno povezane u svim fazama tumorskog rasta te danas postoje značajni dokazi da interakcije između tih komponenti igraju ključnu ulogu u proliferaciji, migraciji i preživljavanju tumorskih plazma stanica, kao i u razvoju rezistencije na lijekove i progresije bolesti (2,3). Unatoč brojnim

metodama koje se koriste u dijagnostici MM-a morfološka procjena, odnosno analiza aspirata koštane srži i biopsije koštane srži i dalje predstavljaju zlatni standard. Precizna procjena i kvantifikacija plazmastaničnih infiltrata u koštanoj srži izuzetno je važna kako u dijagnostici tako i u praćenju bolesnika s plazmastaničnim diskrazijama. Upravo stoga do sada su provedene brojne studije s ciljem da se preporuča najpouzdanija metoda za procjenu plazma-

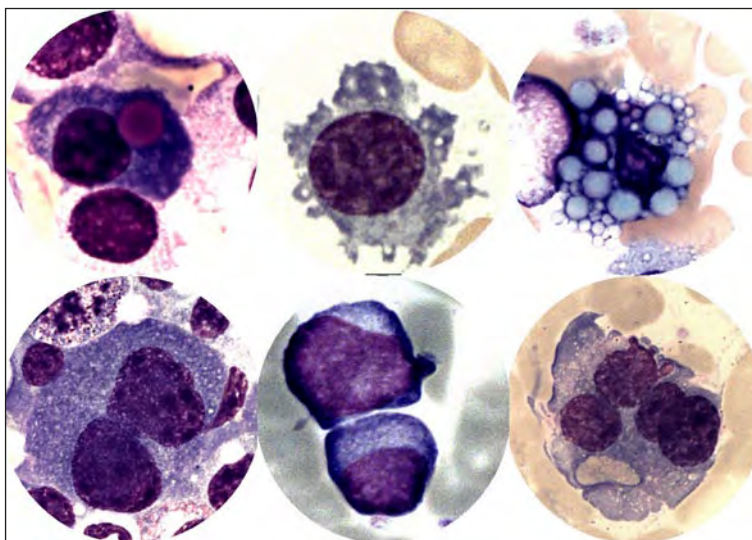
staničnih infiltrata u rutinskom radu (4,5). Zbog toga je primarni cilj našeg istraživanja bio dati doprinos trenutnim spoznajama o važnosti morfoloških metoda pregleda koštane srži. Prema dobivenim rezultatima zaključili smo da kombinirana morfološka analiza aspirata i biopsije koštane srži u rutinskoj praksi omogućava temeljitiji i objektivniji pristup

u procjeni zastupljenosti plazma stanica u koštanoj srži, što je značajno ne samo za dijagnozu, već i za kliničko praćenje i prognozu bolesti (6).

S obzirom na to da je aspirat koštane srži najadekvatniji za evaluaciju plazmastanične morfologije, sljedeći korak u našoj studiji bio je ispitati povezanost između morfoloških i morfometrijskih parametara u razmazima koštanih srži s preživljenjem u

bolesnika s MM. Utvrdili smo da pojedine morfološke i morfometrijske karakteristike mijelomskih stanica, kao npr. anizocitoza i veći promjer jezgre, predstavljaju prognostičke čimbenike (Slika 1).

Retikulin je normalna komponenta koštane srži, a umnožen se može u biopsiji koštane srži naći u raznim neoplastičnim i ne-neoplastičnim oboljenjima. Etiologija i klinički značaj umnoženih stromalnih retikulinskih vlakana u koštanoj srži još uvijek nisu



Slika 1. Primjeri morfološke raznolikosti mijelomskih plazma stanica u aspiratu koštane srži (May-Gruenwald-Giemsa, x1000).

do kraja razjašnjeni. Danas postoji sve više studija koje sugeriraju da je povećano odlaganje stromalnih vlakana u koštanoj srži posredovano transformirajućim čimbenikom rasta β (engl. transforming growth factor β , TGF- β) i drugim čimbenicima koje luče megakariociti, ali i druge stanice koštanog mikrookoliša (7). Proces angiogeneze u mikrookolišu koštane srži ima vrlo važnu ulogu u patogenezi i progresiji bolesti. Štoviše, pojačana angiogeneza u bolesnika s novodijagnosticiranim MM može predvidjeti lošiji ishod, tj. kraće preživljenje. Prijašnje studije su pokazale da umnožena mikrovaskulatura u koštanoj srži (angiogeneza) perzistira i ne mijenja se niti nakon provedenog liječenja kemoterapijom ili transplantacijom, pojačana angiogeneza perzistira čak i u bolesnika koji su postigli kompletan terapijski odgovor (8).

Stoga smo proveli sljedeće istraživanje s ciljem da tijekom pregleda koštane srži procijenimo i usporedimo morfološke promjene u koštanom mikrookolišu. Procjenjivali smo fibrozu, angiogenezu i plazmastanične infiltrate u koštanoj biopsiji bolesnika s MM u času postavljanja dijagnoze i nakon završene prve linije terapije te smo međusobno usporedili analizirane parametre u biopsiji koštane srži prije i poslije terapije. U konačnici smo plazmastanične infiltrate, angiogenezu i fibrozu u obje biopsije usporedili s odgovorom na terapiju i preživljenjem. Utvrdili smo povezanost angiogeneze i fibroze u biopsiji kosti prilikom postavljanja dijagnoze, dok je u ponovljenoj biopsiji nakon provedenog liječenja fibroza bila izraženija u onih bolesnika koji nisu odgovorili na terapiju i kod kojih je sveukupno preživljenje bilo kraće (9).

Postignut je znatan napredak u razumijevanju biologije bolesti što je dovelo do razvoja brojnih novih učinkovitijih lijekova s različitim mehanizmima djelovanja. Nove spoznaje otvaraju mogućnost bolje i individualizirane terapije bolesnika te stoga smatramo da su ključni zadaci za budućnost razviti precizne i standardizirane metode praćenja bolesnika. Rezultati naših istraživanja podržavaju našu teoriju da je za praćenje bolesnika s MM vrlo važno morfološki detaljno analizirati mikrookoliš koštane srži zajedno s morfologijom i postotkom plazmastaničnih infiltrata.

Literatura:

1. Balakumaran A, Robey PG, Fedarko N, Landgren O. Bone marrow microenvironment in myelomagenesis: its potential role in early diagnosis. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010;10(4):465-80.
2. Mahindra A, Hideshima T, Anderson KC. Multiple myeloma: biology of the disease. *Blood Rev.* 2010;24 Suppl 1:S5-11.
3. Ribatti D, Vacca A. The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *Genes Nutr.* 2008;3(1):29-34.
4. Rajkumar SV, Fonseca R, Dispenzieri A, et al. Methods for estimation of bone marrow plasma cell involvement in myeloma: predictive value for response and survival in patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2001; 68:269-75.
5. Charles KS, Winfield DA, Angel C, et al. Audit of bone marrow aspirates and trephine biopsies in multiple myeloma – a single centre study. *Clin Lab Haematol.* 2004; 26:403-6.
6. Štifter S, Babarović E, Valković T, et al. Combined evaluation of bone marrow aspirate and biopsy is superior in the prognosis of multiple myeloma. *Diagn Pathol.* 2010;5:30.
7. Kuter DJ, Bain B, Mufti G, et al. Bone marrow fibrosis: pathophysiology and clinical significance of increased bone marrow stromal fibres. *Br J Haematol.* 2007;139:351-362.
8. Kumar S, Gertz MA, Dispenzieri A, et al. Prognostic value of bone marrow angiogenesis in patients with multiple myeloma undergoing high-dose therapy. *Bone Marrow Transplant.* 2004;34:23523-9.
9. Babarović E, Valković T, Štifter S, Budisavljević I, Seili-Bekafigo I, Duletić-Naćinović A, Lučin K, Jonjić N. Assessment of bone marrow fibrosis and angiogenesis in monitoring patients with multiple myeloma. *Am J Clin Pathol.* 2012; 137(6):870-8.

Drugi hrvatski konsenzus o dijagnostici i liječenju limfoma

Igor Aurer^{1,2}, Slavko Gašparov^{2,3}, Marko Kralik⁴, Fedor Šantek^{2,5}

¹ Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb, Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

³ Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Merkur, Zagreb

⁴ Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju, KBC Zagreb, Zagreb

⁵ Klinika za onkologiju, KBC Zagreb, Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

Prof. dr. sc. Igor Aurer, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: iaurer@mef.hr

Drugi hrvatski konsenzus o dijagnostici i liječenju limfoma održan je pod pokroviteljstvom KROHEM-a i Hrvatskog društva za hematologiju i transfuziologiju Hrvatskog liječničkog zbora 2.3.2012. u Zagrebu. Na njemu su sudjelovala 84 stručnjaka iz 4 područja: dijagnostike, slikovnih prikaza, sustavnog liječenja i zračenja. Značajno su proširene i modernizirane preporuke 1. konsenzusa. Kompletan tekst preporuka ćemo pokušati objaviti u Liječničkom Vjesniku i postaviti na mrežnoj stranici KROHEM-a.

Morfološka dijagnostika

S obzirom na kompleksnost postupaka, dijagnozu limfoma treba postaviti u nekom od ekspertnih centara za hematopatologiju: KBC Zagreb, KBC Split, KBC Rijeka, KBC Osijek, KB Merkur ili KB Dubrava. Preporučuje se da se FISH koristi kao rutinski dio algoritma dijagnostičke obrade limfoma malih limfocita / kronične limfocitne leukemije, folikularnog limfoma, ekstrapnodalnog limfoma marginalne zone i za razlikovanje Burkittovog od limfoma sive zone.

Slikovna dijagnostika i praćenje

Najveće promjene u preporukama odnose se na rutinsku upotrebu PET-a. Ovu scintigrafsku metodu uvijek treba kombinirati sa CT-om. PET treba rutinski koristiti u inicijalnom određivanju proširenosti i završnoj procjeni odgovora kod bolesnika s B-velikostaničnim limfomom i Hodgkinovim limfomom te u inicijalnoj procjeni proširenosti indolentnih nodalnih limfoma u stadiju I koje se planira liječiti samo zračenjem zahvaćenog polja. Kod ostalih vrsta limfoma PET treba koristiti u situacijama u kojima je nalaz CT-a dvojbjen ili nejasan. PET ne treba

koristiti za procjenu osjetljivosti na liječenje tijekom terapije (tzv. *interim* PET) osim u bolesnika s proširenim Hodgkinovim limfomom i nepovoljnim prognostičkim faktorima liječenih ABVD-om. U bolesnika s limfomom mozga određivanje proširenosti bolesti, procjenu osjetljivosti na liječenje i odgovora na terapiju treba provoditi MR-om. Kod asimptomatskih bolesnika koji su postigli remisiju tijekom praćenja ne treba ponavljati ni radiološke niti nuklearno-medicinske slikovne metode.

Sustavno liječenje

Indolentne nodalne limfome u stadiju I bez nepovoljnih prognostičkih čimbenika je dovoljno samo zračiti, a ako imaju nepovoljne prognostičke značajke, treba im prethodno dati sustavno liječenje kao za proširenu bolest. Starije osobe s potpuno ekstirpiranim tumorom mogu se samo pratiti. Nije bilo promjena u preporukama za započinjanje liječenja i uvodnu sustavnu terapiju proširenih indolentnih nodalnih B limfoma, osim što je kao opcija naveden bendamustin, lijek koji na žalost još uvijek nije registriran u Hrvatskoj. S obzirom na to da su rezultati novih studija potvrdili ulogu terapije održavanja rituksimabom, ona se sada preporučuje u svih bolesnika koji nisu nakon postizanja remisije transplantirani.

Ekstrapnodalne limfome marginalne zone želuca i adneksa oka treba prvo liječiti eradikacijom *H. pylori*, odnosno *Chlamidiae*, a tek ako to ne pomogne, blažom imunokemoterapijom (R-CVP ili slično). Prva linija liječenja spleničkih limfoma marginalne zone je, bez obzira na proširenost bolesti, splenektomija.

Kod B-velikostaničnih limfoma terapiju treba prilagoditi riziku. Preporuke za stadij I su ostale ne-

promijenjene, bolesnike u stadiju II s aaIPI=0 je dovoljno liječiti sa 6 ciklusa R-CHOP imunokemoterapije i 2 ciklusa rituksimaba. Bolesnike mlađe od 60 godina s aaIPI=1, treba liječiti s 8 ciklusa R-CHOP-a, dok se onima s visokorizičnom bolešću mogu dati agresivniji protokoli, poput R-CHEOP14 ili DA-R-EPOCH. Stariji bolesnici ne podnose dobro agresivnije protokole od R-CHOP-a. Preporuke za kasnije linije liječenja se nisu bitnije mijenjale. Indikacije za zračenje su navedene u odgovarajućem odjeljku.

Kako limfomi plaštenih stanica mogu imati indolentan tijek, važno je takve slučajeve prepoznati i na odgovarajući način tretirati. One s agresivnijom bolešću treba, ako su mlađi od 60-65 godina, liječiti imunokemoterapijom koja sadrži visoke doze citarabina (npr. R-CHOP/R-DHAP) i nakon postizanja remisije autotransplantirati. Terapija izbora za starije je 8 ciklusa R-CHOP-a nakon koje slijedi terapija održavanja rituksimabom.

Burkittov limfom treba liječiti DA-R-EPOCH-om ili imunokemoterapijskim protokolima temeljenim na visokim dozama metotreksata. Ista preporuka je za tzv. limfom sive zone, pravim imenom „neklasificirani agresivni B-limfom sa značajkama između B-velikostaničnog i Burkittovog“, osim što kod ovih bolesnika treba razmotriti autotransplantaciju u 1. kompletnoj remisiji. Drugu vrstu limfoma

sive zone, „neklasificirani agresivni B-limfom sa značajkama između B-velikostaničnog i Hodgkinovog“ treba liječiti kombinacijom rituksimaba i eskaliranog BEACOPP-a.

Kombinacija visokih doza metotreksata i citarabina nakon čega slijedi zračenje glave je optimalna terapija bolesnika s B velikostaničnim limfomom središnjeg živčanog sustava koji su u dobrom općem stanju i uredne bubrežne i jetrene funkcije. Bolesnicima kojima je ovakvo liječenje preagresivno, treba dati samo visoke doze metotreksata i zračenje, dok kod vrlo starih bolesnika i onih vrlo lošeg općeg stanja dolazi u obzir samo palijativno liječenje zračenjem bez kemoterapije.

Nije bilo bitnijih promjena u preporukama o liječenju perifernih T-limfoma. ALK- bi bilo dobro liječiti uvodnom terapijom koja sadrži etopozid i nakon postizanja remisije autotransplantirati. Novije studije su pokazale da NK-stanični limfomi bolje odgovaraju na terapiju koja sadrži asparaginazu. Stoga se za liječenje lokaliziranog oblika ektranodalnog NK staničnog limfoma nosnog tipa preporučuje prvo zračenje uz konkomitantnu tjednu primjenu cisplatine, a potom kemoterapija po VIDAL protokolu (Tablica 1), a za liječenje drugih NK-staničnih limfoma AspaMetDex protokol (Tablica 1) te nakon postizanja remisije u mlađih bolesnika autotransplantacija.

Tablica 1. Primjeri protokola temeljenih na asparaginazi za liječenje NK-staničnih limfoma.

VIDAL

etopozid 100 mg/m² iv
ifosfamid 1200 mg/m² iv
deksametazon 40 mg
asparaginaza 4000 j/m² iv ili im

ciklus se ponavlja svakih 5 tjedana

1. do 3. dan

1. do 3. dan

1. do 3. dan

8, 10, 12, 14, 16, 18. i 20. dan

AspaMetDex

Metotreksat 3 g/m²/3 h
Asparaginaza 6000 j g/m² iv ili im
Deksametazon 40 mg

ciklus se ponavlja svaka 3 tjedna

1. dan

2, 4, 6. i 8. dan

1. do 4. dan

Liječenje Hodgkinovog limfoma također ovisi o stupnju rizika. Kod bolesnika stadija I i II povoljne prognoze dovoljno je dati 2 ciklusa ABVD-a i zračiti zahvaćeno polje s 20 Gy. Bolesnike u stadiju I i II s nepovoljnom prognozom treba liječiti sa 4 ciklusa ABVD-a i 30 Gy zračenja, bolesnike mlađe od 60 godina u stadiju III i IV s povoljnom prognozom sa 6-8 ciklusa ABVD-a, dok se u onih s nepovoljnom prognozom najbolji rezultati postižu sa 6 ciklusa eskaliranog BEACOPP-a. Ako se zbog toksičnosti potonjeg oblika liječenja, bolesnik ili ordinarijus

ipak odluče na ABVD, preporučuje se nakon 1-2 ciklusa napraviti PET. Ako je nalaz negativan, može se nastaviti ABVD, a, ako je pozitivan, trebalo bi terapiju promijeniti u eskalirani BEACOPP. Bolesnike starije od 60 godina treba liječiti ABVD-om. U drugoj liniji liječenja transplantabilnim bolesnicima treba dati agresivnu kemoterapiju, prikupiti transplantat i, ako je postignuta najmanje parcijalna remisija, autotransplantirati ih.

Antraciklini, od kojih se u liječenju limfoma najčešće koristi doksorubicin, su kardiotsični. Zbog

toga u bolesnika s anamnezom bolesti srca, izrazitim čimbenicima rizika ili starijih od 60 godina treba, prije početka kemoterapije koja sadrži doksorubicin treba napraviti UZV srca radi procjene sistoličke funkcije. Ako je zadovoljavajuća, terapija se može primijeniti, a UZV srca ponoviti nakon 3 i 6 ciklusa. Bolesnicima s nezadovoljavajućom sistoličkom funkcijom miokarda i indolentnim limfomima treba umjesto CHOP-a dati CVP, dok se onima s agresivnim limfomima umjesto CHOP-a može dati CEOP ili infuzijski EPOCH.

Radioterapija

Zračenje bolesnika s limfomima treba provoditi linearnim akceleratorima uz 3D planiranje. Načelno, treba zračiti što manja zahvaćena polja. Doze zračenja kreću se od 20-30 Gy za indolentne limfome ili Hodgkinov limfom dobre prognoze, 30-36 Gy za prvu liniju liječenja B velikostaničnog limfoma i Hodgkinovog limfoma te u kasnijim linijama liječenja za područja koja su u remisiji, do 40 Gy i više za ektranodalni NK stanični limfom nosnog tipa, odnosno za kemorefraktorne lokalizirane druge tipove limfoma. Indikacije za zračenje u prvoj liniji liječenja su lokalizirana bolest, masivna bolest (*bulky*) i parcijalna remisija s lokaliziranom aktivnošću limfoma. U kasnijim linijama liječenja mogu se ozračiti i područja visokog rizika za relaps (npr. ona koja prije transplantacije nisu bila u remisiji). Kako bi se zračenje obavilo precizno i na vrijeme, preporučuje se formiranje stalnih hematološko-radioterapijskih timova kojima bolesnike s limfomom treba prikazati čim se postavi indikacija za zračenje, a ne tek nakon što se završi s kemoterapijom.

Popis nazočnih:

Voditelji: S. Gašparov, M. Kralik, I. Aurer, F. Šantek

Izjestitelji: I. Ilić, S. Dotlić, N. Jonjić, D. Batinić, B. Grahovac, M.M. Kardum-Paro, S. Davidović, R. Lasan-Trčić, I. Kardum Skelin, D. Huić, A. Balenović, M. Hrabak-Paar, D. Ozretić, M. Vukelić-Marković, M. Šimunić-Maras, A. Duletić-Naćinović, T. Valaković, R. Ajduković, V. Pejša, A. Peraica-Planinc, I. Radman, S. Ostojić-Kolonić, S. Bašić-Kinda, J.J. Grah, L. Beketić-Orešković, M. Petković, L. Bošković, M. Peitl, D. Gugić

Nazočili i raspravljali: G. Aralica, M. Dominis, I. Franić-Šimić, K. Gjadrov-Kuveždić, B. Jelić-Puškar, G. Kaić, I. Karaman, P. Korać, B. Krušlin, N. Kunac, K. Lučin, B. Mohar, J. Rajc, S. Ries, I. Seili-Bekafigo, H. Šiftar, A. Škrtić, T. Štoos-Veić, Č. Tomasović, R. Zadro, P. Anić, N. Babić, D. Blašković, S. Grbac, M. Grbac-Mazur, B. Klasić, G. Lovrenčić-Prpić, Ž. Maltarić, T. Mišević, J. Popić-Ramač, S.A. Rogan, M. Rubić, Đ. Šošić, B. Cocha, D. Čaržavec, E. Čorović-Arneri, V. Čuljak, D. Dujmović, M. Lucijanić, V. Milunović, Z. Mitrović, Z. Perić, Ž. Prka, G. Rinčić, I. Romić-Marčinko, J. Sinčić-Petričević, Ž. Škunca, M. Vodanović, L. Galunić-Bilić, H. Kaučić, Z. Kotromanović

H3K27me3 u malostaničnim limfomima

Petra Korać^{1,2}, Snježana Dotlić³, Marija Gilming Vintar², Tomislav Horvat¹, Eva Lovrić²,
Miroslava Katičić^{4,5}, Slobodanka Ostojić Kolonić^{4,5}, Vlatka Zoldoš¹, Slavko Gašparov^{2,4}, Mara Dominis⁴

¹ Zavod za molekularnu biologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb

² Klinički zavod za patologiju i citologiju, KB Merkur, Zagreb

³ Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb, Zagreb

⁴ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

⁵ Klinika za internu medicinu, KB Merkur, Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

doc. dr. sc. Petra Korać, dipl. ing.

Zavod za molekularnu biologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Zagreb

E-pošta: petra.korac@biol.pmf.hr

H3K27me3 je histonska modifikacija asocirana uz područja utišane transkripcije. Njena je važnost za maligne hematološke bolesti do sada dokazana kod mijeloproliferativnih neoplazmi. U ovom istraživanju analizirali smo distribuciju histonske modifikacije H3K27me3 u malostaničnim limfomima: MALT limfomu (od eng. *mucosa associated lymphoid tissue lymphoma*), folikularnom limfomu (FL, od eng. *follicular lymphoma*), limfomu stanica plaštene zone (MCL, od eng. *mantle cell lymphoma*) i limfomu malih limfocita (SLL, od eng. *small lymphocytic lymphoma*). MALT limfom čine tumorski B limfociti porijekla marginalne zone koji imaju hipermutirane *IGV* lokuse. Tijek bolesti je indolentan, a rijetko može doći do transformacije u agresivniji oblik – difuzni B-velikostanični limfom (DLBCL od eng. *diffuse large B-cell lymphoma*). Stanice folikularnog limfoma su porijeklom centrociti/centroblasti germinativnog centra u kojima se odvija somatska hipermutacija *IGV* gena kao posljedica stimulacije antigenom. Iako je i ovo indolentni limfom, češći su uznapredovali oblici. Limfom stanica plaštene zone, koji čine CD5 pozitivni limfociti porijekla stanica plaštene zone folikula, opisan je kao morfološki indolentna slika s agresivnom kliničkom prezentacijom. I u ovom slučaju uznapredovali su stadiji češći, dok je odgovor na terapiju često nezadovoljavajući. Limfom malih limfocita čine stanice porijeklom CD5 pozitivnih naivnih B-stanica, ponekad sa subpopulacijom koja je porijekla B-stanica postgerminativnog stupnja razvoja s hipermutiranim *IGV* genom. Tijek i ove bolesti je indolentan (1).

Prema morfološkim dijagnozama, izdvojili smo i analizirali 138 uzoraka tkiva 11 bolesnika s MALT limfomom tijekom praćenja i progresije bolesti, 64 uzorka bolesnika s *de novo* nodalnim folikularnim limfomom gradusa 1, 2 i 3a, 34 uzorka bolesnika s *de*

novo limfomom stanica plaštene zone i 46 uzoraka bolesnika s *de novo* limfomom malih limfocita.

Distribuciju H3K27me3 u tumorskom tkivu određivali smo nakon imunohistokemijskog bojenja specifičnim antitijelom. Količinu netumorskih stanica koje infiltriraju tumorsko tkivo i istih stanica koje se nalaze u netumorskom dijelu uzorka izrazili smo u postocima nakon imunohistokemijskog bojenja specifičnim markerima (FOXP3, CD4, CD8, CD14, CD57, CD68, CD69, CXCL13, STAT4). Imunohistokemijski smo analizirali i biljege tumorskih stanica (BCL6, LMO2, HGAL, BCL2, Ki67 i SOX11) dok smo genske aberacije kod MALT limfoma detektirali metodom FISH (translokacija gena *MALT1*, translokacija *IGH/MALT1*, translokacija *API2/MALT1*, translokacija gena *BCL10*, trisomija kromosoma 3) (1-7). Sve smo rezultate statistički obradili (hi kvadrat, Pearsonov koeficijent korelacije i Spearmanov rho test, logrank test, Kaplan-Meier krivulje preživljenja (EFS i OS)) i interpretirali prema pragu značajnosti $p=0,05$.

Na uzorcima MALT limfoma našli smo negativnu korelaciju broja FOXP3 pozitivnih regulatornih T stanica koje infiltriraju tumorsko tkivo i postotka tumorskih stanica koje ekspresiraju H3K27me3. H3K27me3 bio je prisutan u manjem postotku tumorskih stanica nego u postotku limfocita sluznice ili upalnog infiltrata. Tumorsko tkivo s manje H3K27me3 pozitivnih stanica češće je imalo *API2/MALT1* translokaciju.

Na uzorcima folikularnog limfoma očitavali smo, prema do sada objavljenim studijama, količinu FOXP3 pozitivnih limfocita unutar i izvan tumorskog tkiva te podatke o količini izraženoj kao raspor stanica (folikularan, perifolikularan ili difuzan) i/ili broj stanica po 1mm² uzorka korelirali s preživljenjem. Suprotno objavljenim studijama, nismo do-

bili značajne razlike u ukupnom preživljenju, a ni u preživljenju bez događaja, među grupama bolesnika određenim prema rasporedu regulatornih T-limfocita ili broju regulatornih T-limfocita po mm². Grupe bolesnika koje smo odredili prema postotku tumorskih stanica s H3K27me3 također nisu imale različito preživljenje. Kada je broj FOXP3 stanica bio u porastu u interfolikularnom (netumorskom) dijelu tkiva zamijetili smo i porast broja FOXP3 stanica u folikularnom dijelu (tumorskom tkivu), što je odgovaralo i difuznom rasporedu tih stanica. Povećan broj FOXP3 pozitivnih stanica utvrdili smo u onim uzorcima koji su imali smanjen postotak CD14 i povišen postotak STAT4 pozitivnih stanica u interfolikularnom dijelu. Također, postotak CD68 stanica u tumorskoj masi bio je povišen, dok je postotak CD69 i CD57 stanica u tumorskoj masi bio smanjen. Tumorske stanice u tim su slučajevima smanjeno ekspimirale Ki67, dok je ekspresija BCL6 proteina u njima bila veća. Bolesnici čiji su uzorci pokazivali navedene korelacije imali su i niži status prema ECOG-u. Iako direktnu vezu promjena u postotku tumorskih stanica koje ekspimiraju H3K27me3 i povišenog broja FOXP3 stanica u tumorskom tkivu nismo našli, utvrdili smo korelativne odnose s ostalim netumorskim stanicama prisutnim u tkivu. U skladu s time, veći broj tumorskih stanica s H3K27me3 odgovara povećanom broju stanica koje ekspimiraju STAT4 u netumorskom dijelu čvora, povećanom broju CD68 stanica i smanjenom broju CXCL13 stanica u tumorskom tkivu. U tim uzorcima utvrdili smo i prevalenciju CD4 nad CD8 stanicama u tumorskom tkivu.

CD4, CD8, CD68 i CD57 stanice, kod limfoma stanica plaštene zone, našli smo u zamjetno višem postotku unutar tumorskog tkiva nego u plaštenoj zoni folikula reaktivne tonzile. Utvrdili smo pozitivnu korelaciju CD68 stanica s FOXP3, CD4, STAT4, CD57 i CXCL13 stanicama. Tumorske su stanice ekspimirale Ki67 za razliku od netumorskih stanica istoga tipa.

Rezultate vezane uz limfom malih stanica nismo u potpunosti obradili budući da nije bilo jasno koliko od 46 bolesnika uzetih prema morfološkim nalazima uistinu predstavlja ovaj entitet. U tijeku su bila prikupljanja kliničkih podataka (broj limfocita u perifernoj krvi pri dijagnozi) kako bi se revidirali ovi nalazi.

U slučaju limfoma stanica plaštene zone i limfoma malih limfocita, uzimali smo uzorke tkiva uklopljenih u parafin iz manjih bolnica i u većem vremenskom rasponu što je dovelo u pitanje kvalitetu fiksacije i očuvanja materijala te utjecalo na kvalitetu rezultata.

Problem je predstavljalo i imunohistokemijsko bojenje antitijelom za SOX11. Iako smo koristili antitijela različitih tvrtki, s kojima su već rađene i objavljivane studije, do trenutka ovog izlaganja u dva hematopatološka centra nismo uspjeli dobiti reproducibilne rezultate te smo taj dio istraživanja odgodili do idućeg sastanka.

Ukupno gledano, početno istraživanje u nekim je segmentima promijenjeno i/ili odgođeno, no možemo zaključiti da: H3K27me3, sudjelujući u kontroli ekspresije raznih gena, u tumorskim stanicama malostaničnih limfoma utječe na razvoj i progresiju tumora, te da kompleksna slika mikrokoliša malostaničnih limfoma sugerira složen imunološki odgovor domaćina na neoplazmu, ovisno o razvojnem stadiju stanica iz kojeg su nastale tumorske stanice.

Istraživanje nastavljamo i proširujemo, s ciljem boljeg razumijevanja složenih interakcija i mehanizama nastanka malostaničnih limfoma kako bismo pridonijeli razvoju budućih terapija temeljenih na uklanjanju epigenetičkih promjena, na tragu Vornostata – inhibitora deacetilaza histona koji je prema stranicama National Cancer Institute uključen u kliničke studije liječenja mnogih B-staničnih ne-Hodgkinovskih limfoma.

Literatura:

1. Swerdlow HS, Campo E, Lee Harris N, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al., eds., World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2008.
2. Farinha P, Al-Tourah A, Gill K, Klasa R, Connors JM, Gascoyne RD. The architectural pattern of FOXP3-positive T cells in follicular lymphoma is an independent predictor of survival and histologic transformation. *Blood*. 2010;115:289-95.
3. Tzankov A, Meier C, Hirschmann P, Went P, Pileri SA, Dürnhöfer S. Correlation of high numbers of intratumoral FOXP3+ regulatory T cells with improved survival in germinal center-like diffuse large B-cell lymphoma, follicular lymphoma and classical Hodgkin's lymphoma. *Haematologica*. 2008;93:193-200.
4. Wahlin BE, Sander B, Christensson B, Ostenstad B, Holte H, Brown PD, Sundström C, Kimby E. Entourage: the immune microenvironment following follicular lymphoma. *Blood Cancer J*. 2012;2(1):e52.
5. Koch K, Hoster E, Unterhalt M, Ott G, Rosenwald A, Hansmann ML, Engelhard M, Hiddemann W, Klapper W. The composition of the microenvironment in follicular lymphoma is associated with the stage of the disease. *Hum Pathol*. 2012 Jul 13. [Epub ahead of print]
6. Petrasch S, Brittinger G, Wacker HH, Schmitz J, Kosco-Vilbois M. Follicular dendritic cells in non-Hodgkin's lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 1994;15(1-2):33-43.
7. de Jong D, Koster A, Hagenbeek A, Raemaekers J, Veldhuizen D, Heisterkamp S, de Boer JP, van Glabbeke M. Impact of the tumor microenvironment on prognosis in follicular lymphoma is dependent on specific treatment protocols. *Haematologica*. 2009;94(1):70-7.

Nove dijagnostičko-terapijske preporuke za Philadelphia pozitivnu kroničnu mijeloičnu leukemiju – prijedlog radne skupine KROHEM-a za KML

Dubravka Sertić¹, Boris Labar^{1,2}, Renata Zadro^{1,2}, Rajko Kušec^{3,2}, Blaženka Grahovac⁴, Sanja Davidović¹, Ružica Lasan-Trčić¹, Antica Duletić-Načinović^{4,5}, Slobodanka Ostojić Kolonić^{6,2}, Jasminka Sinčić-Petričević⁷, Ljubica Škare-Librenjak⁸, Božena Cocha⁹, Dubravka Čaržavec¹⁰, Dubravka Županić-Krmek¹¹, Radmila Ajduković-Stojisavljević³, Renata Babok-Flegarić¹², Višnjica Suvic-Križanić¹³, Elizabeta Čorović-Arneri¹⁴, Verica Lazić-Prodan¹⁵, Irena Drmić-Hofman¹⁶

¹ KBC Zagreb, Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

³ KB Dubrava, Zagreb

⁴ Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

⁵ KBC Rijeka, Rijeka

⁶ KB Merkur, Zagreb

⁷ KBC Osijek, Osijek

⁸ KBC Split, Split

⁹ OB „Dr Josip Benčević“, Slavonski Brod

¹⁰ KBC „Sestre milosrdnice“, Zagreb

¹¹ KB „Sveti Duh“, Zagreb

¹² OB Varaždin, Varaždin

¹³ OB „Dr Ivo Pedišić“, Sisak

¹⁴ OB Dubrovnik, Dubrovnik

¹⁵ OB Pula, Pula

¹⁶ Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Split

Adresa autora za kontaktiranje:

Prim. Dubravka Sertić, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

KBC Zagreb

E-pošta: dsertic@net.hr

Iako su smjernice za liječenje kronične mijeloične leukemije u Republici Hrvatskoj donesene nedavno, usvojene na proljetnom sastanku u Tuheljskim Toplicama 2011., te objavljene u *Medicina fluminensis* u prosincu 2011., zbog novih spoznaja i objave rezultata studija u kojima je liječenje novodijagnosticiranih bolesnika inhibitorima tirozin kinaze druge generacije, zbog njihovog jačeg i bržeg djelovanja, pokazalo superiornim u odnosu na standardno liječenje imatinibom, radna skupina Hrvatske kooperativne grupe za KML donijela je nove i poboljšane smjernice koje su predložene članovima KROHEM-a na sastanku u Trakošćanu u svibnju 2012. Nakon rasprave o primjedbama na sastanku uže radne skupine u Zagrebu 30. kolovoza 2012. donesen je konačan prijedlog koji će se predložiti mjerodavnim tijelima radi omogućavanja rada po novim smjernicama tako da se Lista lijekova HZZO-a prilagodi prijedlozima struke.

1.0 Uvod

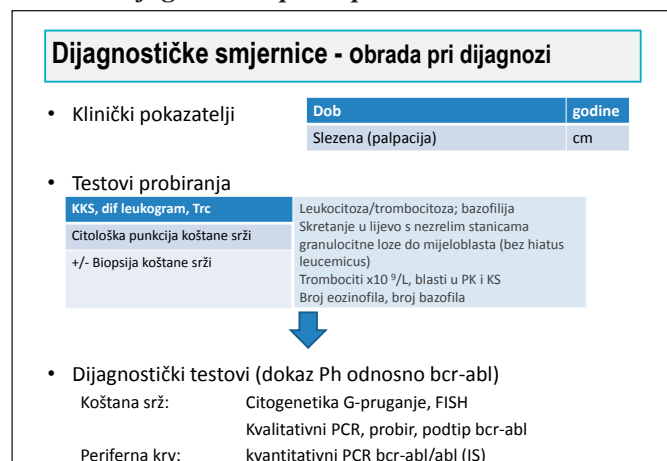
Philadelphia pozitivna kronična mijeloična leukemija (Ph+KML) je klonalna bolest matičnih krvotvornih i/ili prethodnih nezrelih stanica mijeloidne loze. Prema podjeli Svjetske zdravstvene organizacije (SZO) ubraja se u mijeloproliferativne zloćudne tumore. Najčešće se javlja u srednjoj i starijoj dobi iako se javlja i u mlađih ljudi, a ponekad i u djece. Čini oko 20% slučajeva svih leukemija s incidencijom od oko 1:100.000, a češće obolijevaju muškarci. Temeljna značajka bolesti je postojanje kimeričnog bcr/abl gena koji je nastao balansiranim translokacijom genetskog materijala između 9 i 22 kromosoma. C-abl gen koji se obično nalazi na kromosomu 9 biva prebačen u tzv. bcr (engl. *break cluster region*) područje na kromosomu 22. Novi gen se prepisuje u mRNA koji stvara protein od 210-kD nazvan p210^{bcr-abl} onkoprotein (rjeđe od 190kD ili 230 kD) koji ima tirozin kinaznu aktivnost. Novonastali hibridni gen može se dokazati molekularnim tehnikama određivanjem bcr-abl prijepisa. Također se

može kvantificirati tako da je to najosjetljiviji dijagnostički postupak za određivanje i praćenje Ph⁺ KML. Citogenetskim metodama (G-pruganje) i FISH može se dokazati translokacija kromosoma 9 i 22 koja se označuje kao t(9;22)(p34.1;q11.21) a metodom G-pruganja se prepoznaje kao Philadelphia (Ph) kromosom nazvan prema gradu gdje je otkriven. Protein nastao iz bcr-abl gena ima svojstvo tirozin kinaze i omogućuje nekontrolirano umnažanje krvotvornih stanica prvenstveno mijeloidnog reda. Spoznaja o tome dovela je do razvoja ciljanih lijekova tzv. inhibitora tirozin kinaze (TKI). Prvi je bio imatinib mesilat registriran za liječenje Ph⁺KML 2001. godine. Drugu generaciju čine nilotinib, dasatinib koji se rutinski primjenjuju kao druga linija liječenja, a nakon dokaza studijama da su superiorni imatinibu zbog bržeg i snažnijeg djelovanja registrirani su za prvu liniju liječenja, te bosutinib koji je nedavno u rujnu 2012. registriran od FDA za drugu liniju liječenja. Već je na putu treća generacija TKI koji djeluju i kod mutacija na abl genu prvenstveno T315I na koju drugi TKI pokazuju rezistenciju od kojih prvi, ponatinib u studijama pokazuje obećavajuće rezultate. Alogenična transplantacija koštane srži od srodnog i nesrodnog davatelja tako je zbog značajnog mortaliteta u ranoj fazi i morbiditeta (GVHD, infekcije) ostavljena za liječenje bolesnika u kroničnoj fazi nakon neuspjeha liječenja TKI ili razvoja mutacije T315I, a kod bolesnika u ubrzanoj fazi ili blastičnoj transformaciji u prvoj liniji nakon stabilizacije bolesti i postizanja nove kronične faze inhibitorima tirozin kinaze.

2.0 Dijagnoza Ph⁺ kronične mijeloične leukemije

Dijagnoza se postavlja dokazom Ph kromosoma odnosno bcr-abl gena. U dijagnostičkom pristupu razlikujemo testove probiranja koji ukazuju na bolest i dijagnostičke testove koji dokazuju Ph kromosom (citogenetika – G-pruganje, FISH) i bcr-abl (molekularne tehnike, PCR) (Slika 1).

Slika 1. Dijagnostički pristup bolesniku s KML.



Krvnu sliku je potrebno dopuniti citološkom diferencijacijom leukocita kojom razlikujemo sve vrste razvojnih oblika leukocita te bazofila i eozinofila. Nalaz krvne slike upućuje na KML ako je prisutna leukocitoza sa skretanjem u lijevo uz pojavu nezrelih stanica granulocitne loze bez *hiatus leukemicus* (prisutne vrlo nezrele, prijelazne i zrele stanice) te povećani broj bazofilnih i eozinofilnih granulocita i povećan broj trombocita. U polovice bolesnika je palpabilna slezena koja je ponekad i izrazito velika. Veličina slezene se određuje manualnom palpacijom a izražava se centimetrima (od ruba lijevog rebrenog luka do donjeg ruba slezene). Veličina izmjerena ultrazvukom se ne može unijeti u formule za izračunavanje rizika.

Ako se testovima probiranja postavi sumnja na Ph⁺KML nužno je citogenetskim i molekularnim tehnikama dokazati Philadelphia kromosom. Od citogenetskih tehnika prvenstveno se koristi konvencionalni kariogram (G-pruganje) kojim se u 95% bolesnika dokaže tipična translokacija t(9;22) odnosno Ph kromosom. Kariogram je vrijedan i u procjeni prisustva drugih kromosomskih promjena koje često ukazuju ili na povećani rizik od progresije bolesti ili su znak ubrzane faze ili blastične transformacije. Ponekad se nađu složene varijante translokacije koje uključuju i druge kromosome tako da je ponekad Ph kromosom skriven. Metodom fluorescentne *in-situ* hibridizacije (FISH) potvrđujemo dijagnozu, a metoda je osobito vrijedna u slučaju postojanja skrivene kombinirane translokacije. Za interfazni FISH koristi se dvostruko obojena dvostruka fuzijska proba kojom se ispituje najmanje 200 staničnih jezgara. Za citogenetsku analizu potrebno je najmanje 3 ml koštane srži u zelenoj epruveti (heparin).

Kvalitativni PCR se određuje iz koštane srži (ljubičasta epruveta) i njime se dokazuje bcr-abl prijepis te određuje podtip (b2a2, b3a2, b2a2/b3a2, e1a2, rijetke varijante). U slučaju nalaza neke od rijetkih varijanti sadašnjom metodom kvantitativnog PCR ne može se odrediti veličina tumorske mase i za te bolesnike jedina metoda praćenja su citogenetske metode. Stoga je podtip prijepisa neophodno odrediti prije započinjanja liječenja inhibitorom TKI. Kvantitativni PCR je danas osnovna metoda praćenja veličine tumorske mase. Kvantitativni PCR se određuje u standardiziranom laboratoriju koji ima određen faktor konverzije. Određuje se iz iz periferne krvi (4 velike ljubičaste epruvete s EDTA odnosno najmanje 20 ml krvi). Vrijednost se izračunava množenjem rezultata s faktorom konverzije i izražava u postocima prema internacionalnom skoru (IS).

Kod bolesnika u kroničnoj fazi bolesti uz dijagnozu je važno procijeniti i prognozu (rizik bolesti) iako rizik ne mijenja inicijalni terapijski pristup (Slika 2). Uz dva

stara skora rizika Sokal i Hasford (EURO), nedavno je razvijen i novi EUTOS koji je jednostavan za izračunavanje a uključuje samo dva parametra – veličinu slezene i bazofile. Predviđa postizanje kompletnog citogenetskog odgovora (CCR) nakon 18 mjeseci liječenja. Bolesnici koji tada ne postignu CCR vjerojatno ga niti neće postići u daljnjem tijeku liječenja i vrlo visokog su rizika za progresiju bolesti u AF, BT.

Slika 2. Izračunavanje skora rizika.

- **Sokal score*** (dob, slezena, trc, blasti)

$$0,0116 \times (\text{dob}/\text{god}/ + 0,0345 \times \text{slezena}/\text{cm}^3 - 7,51) + 0,188 \times (\text{tr} + 700)/2 - 0,563/\text{tr} + 0,0887 \times \text{blasti} - 2,10$$
- Mali rizik < 0,8, Srednji rizik 0,8 – 1,2, Veliki rizik > 1,2
- **EU (EURO, Hasford)**** (dob, slezena, trc, blasti, bazofili eozinofili)

$$0,666 \text{ za dob } \geq 50 \text{ god.} + (0,042 \times \text{slezena}) + 1,0956 \text{ ako su tr. } > 1.500 \times 10^9/\text{L} + (0,0584 \times \text{blasti}) + 0,20399 \text{ ako su bazo } > 3\% + (0,0413 \times \text{eozinofili}) \times 100$$
- Mali rizik ≤ 780, Srednji rizik 781 – 1.480, Veliki rizik > 1.480
- **EUTOS score** (bazofili, slezena)

$$7 \times \text{bazofili } (\%) + 4 \times \text{vel. slezene } (\text{cm})$$
- Veliki rizik > 87

http://www.leukemia-net.org/content/leukemias/cml/cml_score/

*Sokal JE i sur, Blood 1984;63:789-99.
**Hasford J i sur, J Natl Cancer Inst 1998;90:850-8.

Klinički se Ph+KML najčešće dijagnosticira slučajno u kroničnoj fazi ali se ponekad otkrije u ubrzanoj fazi ili tzv. blastičnoj transformaciji s kliničkim značajkama akutne leukemije (mijeloične ili limfoblastične). Kronična faza može trajati više godina te ako se ne liječi prelazi preko akcelerirane faze (traje 6-12 mjeseci) u blastičnu transformaciju koja ako se ne liječi završava letalnim ishodom za svega 1-3 mjeseca. Ponekad blastična transformacija nastaje naglo bez prethodne ubrzane faze. Zbog rezultata liječenja Ph+KML uvođenjem inhibitora tirozin kinaze grupa eksperata European LeukemiaNet (ELN) donijela je nove kriterije za blastičnu transformaciju (blasta >30%) (Slika 3).

Slika 3. Podjela prema fazi bolesti.

Dijagnostičke smjernice – Podjela prema fazi bolesti	
European LeukemiaNet*	SZO**
Kronična faza Nepostojanje niti jednog kriterija za AF i BK	Kronična faza Nepostojanje kriterija ubrzane faze i blastične transformacije
Ubrzana faza 15-29% blasta u PK ili KS >30% blasta+promijelocita s <30% blasta u PK ili KS >20% bazofila u PK Trombocitopenija (Trc<100) koja nije uzrokovana terapijom	Ubrzana faza Blasti u krvi ili KS 10-19% Bazofili u krvi ≥ 20% Trajna trombocitopenija (trc< 100 nevisno o liječenju) Trombocitoza >1000 rezistentna na liječenje Povećanje slezene i broja leukocita rezistentni na liječenje Citogenetski dokaz klonalne evolucije (pojava nove/dodatne genske promjene koja nije postojala kod dijagnoze)
Blastična transformacija Blasti ≥30% u PK ili KS Ekstramedularna infiltracija blastima	Blastična transformacija Blasti u krvi ili koštanoj srži ≥ 20% Ekstramedularna proliferacija blasta Velika žarišta/nakupine blasta u koštanoj srži

* Baccarani i sur, Blood 2006
**Vardiman i sur, Blood 2002

3.0 Praćenje bolesti

Za praćenje terapijskog odgovora koristi se krvna slika, citogenetika +/-FISH te kvantitativni PCR na bcr-abl/abl. Najbolji pokazatelj za praćenju bolesti je praćenje molekularnog odgovora metodom kvantitativnog PCR (Slika 4).

Hematološki odgovor se prati određivanjem laboratorijskih parametara krvne slike. Krvnu sliku treba kontrolirati svaka 2 tjedna do postizanja kompletnog hematološkog odgovora a kasnije najmanje svaka 3 mjeseca. U prvoj fazi liječenja moguća je citopenija uslijed liječenja te je prema potrebi potrebno i češće pratiti krvnu sliku ako se nađe teška neutropenija ili trombocitopenija

Citogenetski odgovor prati se konvencionalno G-pruganjem i FISH i to svakih 6 mjeseci do postizanja kompletnog citogenetskog odgovora potom jednom godišnje a u slučaju postizanja kompletnog molekularnog odgovora citogenetiku bi trebalo učiniti svakih 18-24 mjeseci. Također treba učiniti citogenetiku u slučaju progresije bolesti i prije promjene TKI, te u slučaju sumnje na mijelodisplastični sindrom.

Kvantitativni PCR treba učiniti svakih 3 mjeseca do postizanja najmanje MR⁴, a potom svaka 4 mjeseca. Bolesnici koji imaju rijetku varijantu bcr-abl prijevise tj. nemaju b2a2 ili b3a2 prijevise prate se samo citogenetskim metodama. Mutacije treba učiniti u slučaju progresije ili rezistencije. Moguće je raditi ciljane mutacije koje određuju daljnje liječenje (T315I, E255K/V, Y253H, F359V/C) ili sve mutacije u regiji od 4 do 10 eksona ABL gena metodom sekvenciranja.

Slika 4. Definicija terapijskog odgovora - KML kronična faza bolesti.

Hematološki odgovor	Citogenetski odgovor	Molekularni odgovor
Kompletni: Trc < 450 x 10 ⁹ /L L < 10,0 x 10 ⁹ /L DKS bez nezrelih granulocita <5% bazofila Slezena normalne veličine	Kompletni (CCR): Ph+ = 0% Djelomični (PCR) Ph+ = 1-35% Mali: Ph+ = 36-65% Minimalni: Ph+ = 66-95% Bez odgovora: Ph+ = >95%	Veliki (MMR) ≤ 0,1%(IS) MR ⁴ ≤ 0,01% (IS) ili negativni s 10 000 abl kopija MR ^{4,5} ≤ 0,0032% (IS) ili negativni s 32 000 abl kopija MR ⁵ ≤ 0,001% (IS) ili negativni s 100 000 abl kopija

Optimalno liječenje osim dosega terapijskog odgovora znači i brzinu postizanja istog što je dokazano kod primjene druge generacije TKI u novodijagnosticiranih bolesnika. Time se smanjuje broj bolesnika koji ulaze u progresiju bolesti u ranoj fazi liječenja. Praćenjem kvantitativnog PCR na bcr-abl u prvoj godini liječenja nađeno je da je bolji terapijski odgovor u bolesnika (manje AP/BT i dublji ukupni terapijski odgovor) koji su postigli rezultat bcr-

abl/abl manje od 10% (IS) nakon 3 mjeseca liječenja, manje od 1% (IS) nakon 6 mjeseci te manje od 0,1% (IS) nakon 12 mjeseci liječenja (Slika 5).

Slika 5. Optimalni terapijski odgovor na prvi inhibitor tirozin kinaze.

Definicija terapijskog odgovora na 1.TKI	
Bazira se na molekularnom praćenju – kvantitativnom PCR vrijednost kojeg je izražena prema internacionalnom skoru (vrijednost % x faktor konverzije)	
Optimalni odgovor	
3 mjeseca	≤10,0 %
6 mjeseci	≤1,0 %
12 mjeseci	≤0,1 %

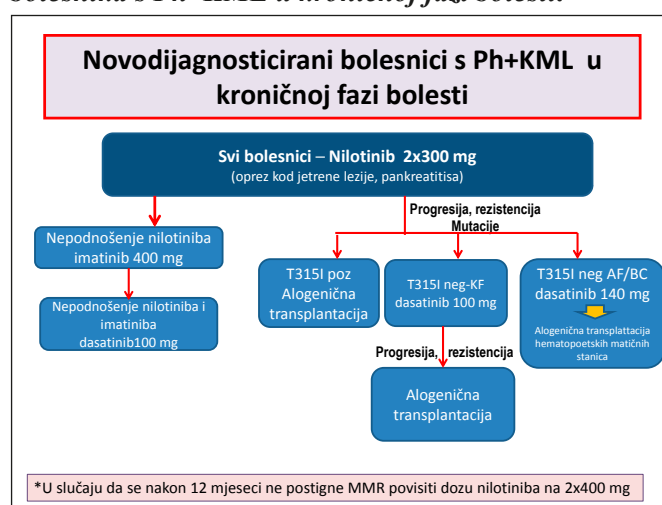
4.0 Liječenje KML

4.1 Liječenje novodijagnosticiranih bolesnika u prvoj kroničnoj fazi

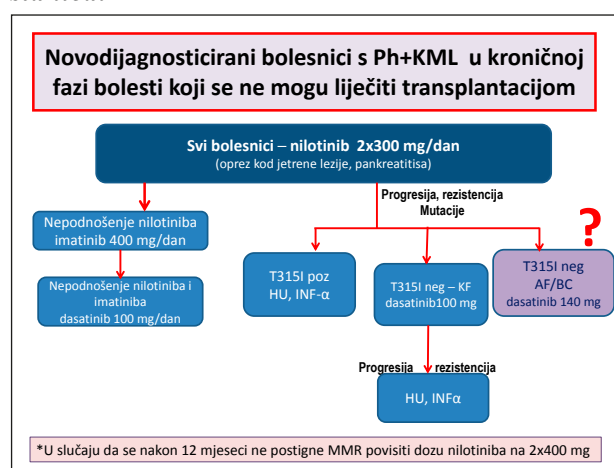
U prvoj liniji terapije Ph+KML koriste se tri registrirana inhibitora tirozin kinaze: imatinib mesilat (Glivec), nilotinib (Tasigna) i dasatinib (Sprycel). Studija ENESTnd, koja je direktno uspoređivala nilotinib u dvije dnevne doze i imatinib, pokazala je da je nilotinib u prvoj liniji superiorniji u odnosu na imatinib u svim parametrima praćenja, postizanje CCR nakon 1 godine, postizanje CCR nakon 2. godine, u brzini postizanja i u dubini molekularnog odgovora te u manjem broju bolesnika koji su progredirali u ubranu fazu i blastičnu transformaciju. Druge velike studije ENEST1st, GIMMEMA, ICORG, MDACC i dr. potvrđuju dobre rezultate nilotiniba u prvoj liniji liječenja. Obzirom da je nilotinib najselektivniji od TKI druge generacije s brzim i jakim djelovanjem a u dozi od 600 mg/dan i cijenom najprihvatljiviji radna grupa KROHEM-a za KML predlaže za sve novodijagnosticirane bolesnike u prvoj liniji nilotinib 2x300 mg na dan (Slika 6 i Slika 7). U slučaju postojanja jetrene lezije ili pankreatitisa u anamnezi potreban je oprez. U slučaju nepodnošenja nilotiniba treba dati imatinib 400 mg/dan, a u slučaju nepodnošenja imatiniba dasatinib u dozi od 100 mg/dan. U slučaju da se nakon 12 mjeseci ne postigne MMR dozu nilotiniba treba povišati na 2x400 mg/dan. U slučaju progresije ili rezistencije na nilotinib potrebno je učiniti mutacije. Ako je bolest još u kroničnoj fazi i nađe se mutacija T315I treba u podobnih bolesnika izvršiti alogeničnu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica od srodnog ili nesrodnog davatelja, a ukoliko nema

T315 mutacije dati dasatinib u dnevnoj dozi od 100 mg/dan. U slučaju progresije na dasatinib slijedi alogena transplantacija ili interferon i/ili hidroksiureja kod bolesnika koji nisu kandidati za transplantaciju. Ako uz terapiju nilotinibom dođe do faze ubrzanja ili blastične transformacije bez mutacije T315I dnevna doza dasatiniba treba biti 140 mg i odmah po stabilizaciji bolesti treba provesti alogeničnu transplantaciju. U slučaju mutacije T315I potrebno je dati kemoterapiju prema vrsti transformacije (limfoblastična ili mijeloblastična); transplantaciju krvotvornih matičnih stanica treba provesti samo ako se postigne druga kronična faza bolesti.

Slika 6. Algoritam liječenja novodijagnosticiranih bolesnika s Ph+KML u kroničnoj fazi bolesti.



Slika 7. Algoritam liječenja novodijagnosticiranih bolesnika koji se nakon progresije ne mogu liječiti alogeničnom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica.

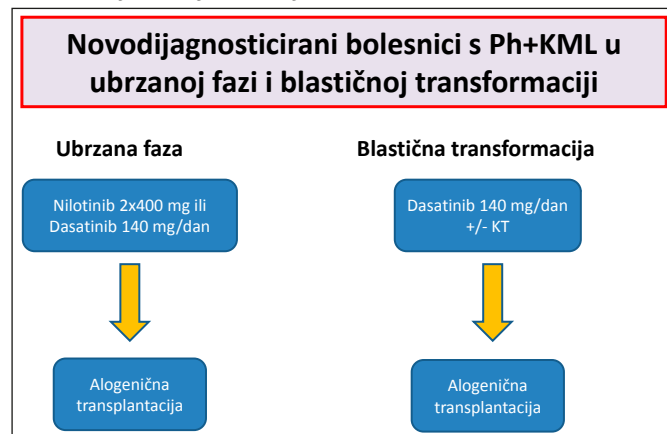


4.2 Liječenje bolesnika s Ph+KML kod kojih je bolest dijagnosticirana u ubrzanjnoj fazi ili blastičnoj transformaciji bolesti

Bolesnicima koji su u ubrzanjnoj fazi bolesti treba dati nilotinib dozi 2x400 mg/dan, a u blastičnoj

transformaciji dasatinib u dnevnoj dozi od 140 mg/dan. Nakon stabilizacije bolesti potrebno je izvršiti alogeničnu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica (Slika 8).

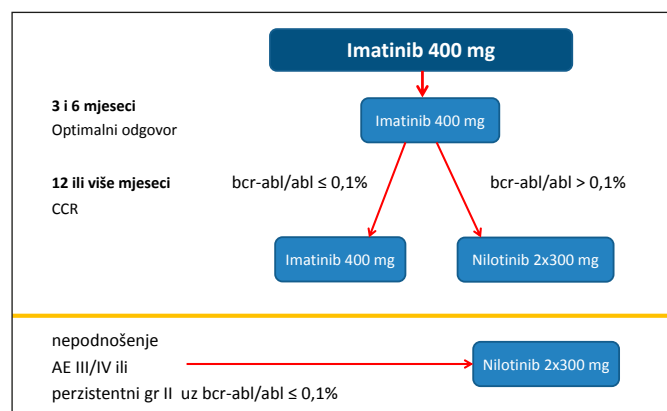
Slika 8. Algoritam liječenja bolesnika s Ph+KML kod kojih je bolest dijagnosticirana u ubrzanoj fazi ili blastičnoj transformaciji bolesti.



4.3 Liječenje bolesnika s Ph+ KML koji su već na imatinibu

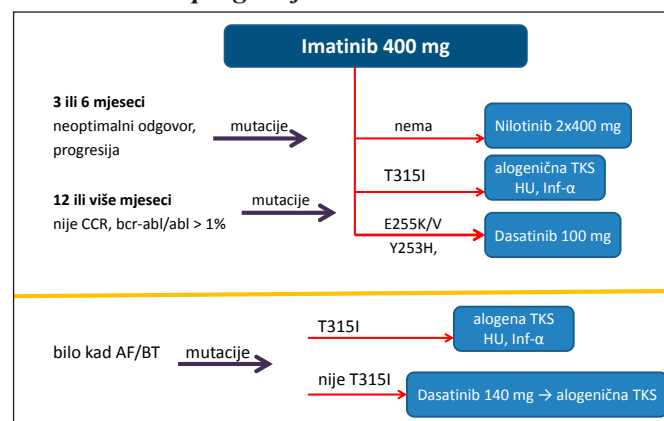
Nastavak liječenja bolesnika koji su već na imatinibu ovisi o dosadašnjem terapijskom učinku i prisustvu nuspojava. S obzirom na to da je terapija dugogodišnja, kvaliteta života bolesnika koji imaju trajne nuspojave gradus II usprkos adekvatnoj simptomatskoj terapiji može biti bitno narušena. Budući da svaki TKI ima drugačiji spektar nuspojava treba promijeniti TKI. Ako istovremeno imaju dobar terapijski odgovor na imatinib ($bcr-abl/abl < 0,1\%$), doza nilotiniba treba biti 2x300 mg/dan, a u slučaju nepodnošenja nilotiniba treba dati dasatinib u dozi od 100 mg/dan. Bolesnici koji su uz imatinib postigli optimalan terapijski odgovor nakon 3, 6 i 12 mjeseci a dobro podnose lijek trebaju nastaviti uzimati imatinib (Slika 9). Ukoliko su nakon 12 mjeseci liječenja postigli CCR a nisu postigli MMR te prijepis $bcr-abl/abl$ iznosi $>0,1$ trebaju dobiti nilotinib u dozi 2x300 mg/dan.

Slika 9. Algoritam liječenja bolesnika koji uzimaju imatinib s optimalnim terapijskim odgovorom.



Kod bolesnika koji nemaju optimalni terapijski uspjeh na imatinib treba učiniti mutacije (Slika 10). U slučaju da se iste ne nađu treba promijeniti TKI i kao prvo dati nilotinib u dnevnoj dozi od 2x400 mg/dan. U slučaju prisustva mutacije T315I kod podobnih bolesnika treba izvršiti alogenu transplantaciju krvotvornih matičnih stanica, a ako se ista ne može provesti treba dati interferon- α ili hidroksiureju. Ako se nađu mutacije E255K/V, Y253H, F359V/C treba dati kao 2. liniju terapije dasatinib u dozi od 100 mg/dan. U slučaju da se progresija bolesti manifestira ubrzanom fazom ili blastičnom transformacijom i ako nema mutacije T315I treba dati dasatinib u dozi od 140 mg/dan te proslijediti na alogeničnu transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica u drugoj kroničnoj fazi.

Slika 10. Algoritam liječenja bolesnika s rezistencijom na imatinib ili progresijom bolesti.



4.4 Traženje podudarnog darivatelja krvotvornih matičnih stanica i alogena transplantacija

S obzirom na to da alogena transplantacija više nije terapijska opcija u prvoj liniji liječenja Ph+KML u prvoj kroničnoj fazi liječenja nije potrebno učiniti HLA tipizaciju svim bolesnicima već samo onima koji su pri dijagnozi u akceleriranoj fazi ili blastičnoj transformaciji, djeci i adolescentima do 20 godine života te nakon neuspjeha liječenja prvim TKI kod svih bolesnika podobnih za transplantaciju. Nesrodnog darivatelja treba tražiti onim bolesnicima koji nemaju srodnog darivatelja a pri dijagnozi su u akceleriranoj fazi ili blastičnoj transformaciji, nakon neuspjeha liječenja prvim TKI ako su u AF ili BT, ako je nađena mutacija T315I, ili je na prvi TKI prisutna hematološka rezistencija, nakon neuspjeha liječenja drugim TKI ili ako na drugi TKI nije postignut optimalni odgovor a imaju EBMT rizik 0-2 (Slika 11 i Slika 12).

Slika 11. Preporuke za HLA pretraživanje srodnih darivatelja hematopoetskih matičnih stanica.

Preporuke za HLA pretraživanje srodnih darivatelja hematopoetskih matičnih stanica	
prema ELN 2009	Traženje HLA identičnog srodnog darivatelja
Pri dijagnozi	• Kod bolesnika koji su pri dg u AP/BP, • djeci i adolescentima do 20 god, • bolesnicima čija KML pri dijagnozi zahtjeva oprez
Neuspjeh liječenja prvim TKI	Kod svih podobnih bolesnika

Baccarani i sur. J.Clin.Oncol. 2009

Slika 12. Preporuke za HLA pretraživanje nesrodnih darivatelja hematopoetskih matičnih stanica.

Preporuke za HLA pretraživanje nesrodnih darivatelja hematopoetskih matičnih stanica	
Prilagođeno prema ELN 2009	Traženje HLA identičnog nesrodnog darivatelja ako nije nađen srodni
Pri dijagnozi	• Kod bolesnika koji su pri dg u AP/BP,
Nakon neuspjeha liječenja 1.TKI	• Kod progresije u AP/BP, • Mutacije T315I • Hematološke rezistencije na 1.TKI
Tijekom ili nakon liječenja 2.TKI	• Kod svih bolesnika nakon neuspjeha s drugim TKI • Kod bolesnika s suboptimalnim odgovorom na TKI i EBMT rizikom 0-2

Alogeničnu transplantaciju treba učiniti kod bolesnika koji su pri dijagnozi u AP ili BT uz prethodni predtretman inhibitorom tirozin kinaze, nakon neuspjeha liječenja 1. TKI ako su razvili AP/BT ili mutaciju T315I, te nakon neuspjeha liječenja s 2. TKI (Slika 13). Bolesnici koji imaju nekontroliranu bolest u blastičnoj transformaciji nisu kandidati za transplantaciju.

Slika 13. Preporuke za alogeničnu transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica.

Preporuke za alogeničnu HSCT	
Prilagođeno prema ELN 2009	
PRI DIJAGNOZI	Kod bolesnika koji su pri dijagnozi u AP/BP, preporuča se predtretman s TKI
NEUSPJEH 1.TKI	Kod bolesnika koji su razvili AP/BP, preporuča se predtretman s dasatinibom -mutacija T315I
NEUSPJEH 2. TKI	Kod svih podobnih bolesnika

Literatura:

1. Baccarani M, Cortes J, Pane F, Niederwieser D, Saglio G, Apperley J et al.: Chronic myeloid leukemia: An update of concepts and management recommendations of European LeukemiaNet. J Clin Oncol. 2009;27:6041-51.
2. Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, le Coutre P Etienne G, Lobo C et al. ENESTnd Investigators. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. N.Engl J Med. 2010;362:2251-9.
3. Rosti G, Palandri F, Castagnetti F, Breccia M, Levato L, Gugliotta G et al. Gimmema CML Working Party. Nilotinib for the frontlinr treatment of Ph(+) chronic myeloid leukemia. Blood. 2009;114:4933-8.
4. Giles FJ, Rosti G, Beris P, Clark RE, le Coutre P, Mahon FX et al. Nilotinib is superior to imatinib as first-line therapy of chronic Myeloid Leukemia: the ENESTnd study. Expert Rev Hematol. 2010;3:665-73.
5. Ferdinand R, Mitchell AS, batson S, Tumor I. Treatments for chronic myeloid leukemia: a qualitative systematic review. J Blood Med. 2012;3 51–76.
6. Fava C, Rege-Cambrin G, Saglio G. Chronic myeloid leukemia: state of the art in 2012. Curr Oncol Rep. 2012 Oct;14(5):379-86.
7. Kantarjian HM, Hochhaus A, Saglio G, De Souza C, Flinn IW, Stenke et al, Nilotinib versus imatinib for the treatment of patients with newly diagnosed chronic phase, Philadelphia chromosome-positive, chronic myeloid leukaemia: 24-month minimum follow-up of the phase 3 randomised ENESTnd trial. Lancet Oncol. 2011;12(9):841-51.
8. Saussele S, Pfirrmann M. Clinical trials in chronic myeloid leukemia. Curr Hematol Malig Rep. 2012 Jun;7(2):109-15.
9. Efficace F, Cocks K, Breccia M, Sprangers M, Meyers CA, Vignetti M, Baccarani M, Mandelli F; GIMEMA and EORTC Quality of Life Group. Time for a new era in the evaluation of targeted therapies for patients with chronic myeloid leukemia: inclusion of quality of life and other patient-reported outcomes. Crit Rev Oncol Hematol. 2012;81(2):123-35.
10. Tohami T, Nagler A, Amariglio N. Laboratory tools for diagnosis and monitoring response in patients with chronic myeloid leukemia. Isr Med Assoc J. 2012 Aug;14(8):501-7.
11. Fava C, Kantarjian H, Cortes J. Molecular resistance: an early indicator for treatment change? Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2012;12(2):79-87.
12. Saussele, Lausker M, Grathwohl A, Beelen DW, Bunjes D, Schwerdtfeger R et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo SCT) for chronic myeloid leukemia in the imatinib era: evaluation of its impact within a subgroup of the randomized German CML Study IV. Blood. 2010;115:1880-5.
13. Labar B, Sertić D, Davidović S, Zadro R, Lasan-Trčić R, Kušec R i sur. Dijagnostičko terapijski pristup u bolesnika s Philadelphia pozitivnom kroničnom mijeloičnom leukemijom- Smjernice hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti (Krohem). Medicina Fluminensis. 2011;47(4):404-19.

JAK2 ekson 12 mutacije u policitemiji veri

**Doc. dr. sc. Maruška Marušić¹,
prof. dr. sc. Rajko Kušec^{1,2}**

¹ Odjel za molekularnu dijagnostiku i genetiku,
KB Dubrava, Zagreb,

E-pošta: maruskamarusic@hotmail.com

² Zavod za hematologiju, KB Dubrava, Zagreb,
E-pošta: rkusec@mef.hr

Uvod

U bolesnika s policitemijom verom koji nemaju JAK2V617F mutaciju prisutne su različite mutacije JAK2 eksona 12 (Scott i sur, 2007). Do sada su u više od 25 članaka opisana 172 bolesnika s JAK2 ekson 12 mutacijom. Za razliku od zamjene nukleotida G→T u mutaciji V617F u eksonu 14, do danas je identificirano 37 mutacija eksona 12 koje utječu na aminokiseline 536 do 547. One uključuju 11 supstitucija, 20 delecija i 6 duplikacija. Najčešće se pojavljuju N542-E543del (23%), E543-D544del (11%), F537-K539delinsL i K539L (10%) i R541-E543delinsK (8%).

Kliničke i hematološke osobine bolesnika s JAK2 ekson 12 mutacijom

Analiza podataka prikupljenih iz literature za 134 bolesnika mutacijom eksona 12 ukazuje da se bolest javlja u značajno mlađoj populaciji u odnosu na bolesnike s JAK2V617F mutacijom. Nema razlike u pojavnosti s obzirom na spol. Mutacija eksona 12 dovodi do pojave izolirane eritrocitoze, za razliku od JAK2V617F PV gdje je prisutna trolinijska proliferacija. Srednje vrijednosti hemoglobina i hematokrita više su u bolesnika s JAK2 ekson 12 mutacijom nego u bolesnika s JAK2V617F.

Analiza morfologije koštane srži pokazuje umjereno hipercelularnu srž s predominantnom eritroidnom hiperplazijom (Pardnani i sur, 2007; Lakey i sur, 2010). Pan-mijeloza koja je uobičajena u većine PV bolesnika je odsutna u bolesnika s JAK2 ekson 12 mutacijom, iako se može pojaviti blaga granulocitna hiperplazija. Isto tako, nema ni megakariocitnih „klastera“. Retikulin je odsutan ili tek slabo prisutan.

JAK2 ekson 12 bolesnici formiraju EEC. Uočeno je da je mutacijski profil individualnih kolonija bolesnika s JAK2V617F mutacijom i ekson 12 mutacijom različit (Li i sur, 2008). Dok većina JAK2V617F bolesnika ima barem dio kolonija s homozigotnom mutacijom, homozigotnost je rijetka u bolesnika s JAK2 ekson 12 mutacijom. Ovo ukazuje da mutacija u eksonu 12 uzrokuje jaču aktivaciju JAK2-posredovanog unutarstaničnog prijenosa signala: heterozigotnost za JAK2V617F alel stvara predominantno trombocitemični fenotip, dok je naglašena eritrocitoza povezana s homozigotnosti za JAK2V617F ili heterozigotnom JAK2 ekson 12 mutacijom.

Kolaborativna studija 13 europskih centara na 106 bo-

lesnika s JAK2 ekson 12 mutacijom ukazuje da je klinički tijek bolesti sličan onome u JAK2V617F PV (Passamonti i sur, 2011). Incidencije krvarenja (0.5x100 pacijenta/godini), tromboze (1.9x100 pacijenata/godini) mijelofibrotične i leukemijske transformacije (0.5 x100 pacijenata/godini i 0.7x100 pacijenata/godini) su usporedive s utvrđenima u grupi od 320 JAK2V617F pozitivnih PV bolesnika (Passamonti i sur, 2010).

Metode za detekciju JAK2 ekson 12 mutacija

Za identifikaciju i praćenje JAK2 ekson 12 mutacija, po pitanju osjetljivosti i korištenju kliničkih uzoraka, najboljima su se pokazale „high resolution melting“ (HRM) analiza i kvantitativni PCR u realnom vremenu (Q-RT-PCR) (Carillo i sur, 2011; Kjaer i sur, 2012).

Multicentrična studija mutacija JAK2 eksona 12 i opterećenja količinom mutiranog alela

U okviru rada u europskoj suradnoj grupi MPN&MPN-EuroNet (COST) u prvog hrvatskog pacijenta s policitemijom dokazana je mutacija V536-E546dup11 u eksonu 12 (ordinarijus dr. Lj. Škare Librenjak, KBC Split). Istraživački cilj ove međunarodne skupine je istražiti utjecaj opterećenja količinom mutiranog JAK2 ekson 12 alela na fenotip/faktore rizika i utvrditi njegovu vrijednost kao prognostičkog markera u vrijeme dijagnoze. Utvrđivanje opterećenja količinom mutiranog alela kao faktora rizika za trombozu, post-PV mijelofibrozu ili AML, moglo bi uvjetovati radnu primjenu lijekova koji djeluju na maligni klon.

Literatura:

1. Scott LM et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocythosis. *N Eng J Med.* 2007; 356:459-468.
2. Pardnani A et al. Prevalence and clinicopathologic correlates of JAK2 exon 12 mutations in JAK2V617F-negative polycythemia vera. *Leukemia.* 2007;21:1960-1963.
3. Lakey MA et al. Bone marrow morphologic features in polycythemia vera with JAK2 exon 12 mutations. *Am J Clin Pathol.* 2010; 133: 942-948.
4. Li S et al. Clonal heterogeneity in polycythemia vera patients with JAK2 exon 12 and JAK2-V617F mutations. *Blood.* 2008;111: 1686-1689.
5. Passamonti F et al. Molecular and clinical features of the myeloproliferative neoplasm associated with JAK2 exon 12 mutations. *Blood.* 2011; 117: 2813-2816.
6. Passamonti F et al. A prospective study of 338 patients with polycythemia vera: the impact of JAK2 (V617F) allele burden and leukocytosis on fibrotic or leukemic disease transformation and vascular complications. *Leukemia.* 2010; 24: 1574-1579.
7. Carillo S et al. Nested high-resolution melting curve analysis: a highly sensitive, reliable, and simple method for detection of JAK2 exon 12 mutations- clinical relevance in the monitoring of polycythemia. *J Mol Diagn.* 2011; 13: 263-270.
8. Kjaer L et al. A highly sensitive quantitative real-time PCR assay for determination of mutant JAK2 exon 12 allele burden. *PLoS ONE.* 2012; 7: e33100.

Učestalost zloćudnih tumora krvotvornog sustava u Hrvatskoj u 2011. godini

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*

Sažetak

Tijekom 2001. retrogradno su prikupljeni pokazatelji učestalosti te dobna i spolna struktura bolesnika sa zloćudnim krvotvornim tumorima u Hrvatskoj. Ukupno je registrirano 1190 novih bolesnika sa zloćudnim krvotvornim tumorima ili 27,73 na 100.000 stanovnika; medijan dobi je 64 godine uz 56% muškaraca i 44% žena. Češći su limfoproliferativni zloćudni tumori (19,97 novih bolesnika na 100.000 stanovnika) od mijeloproliferativnih zloćudnih tumora (7,92 novih bolesnika na 100.000 stanovnika). Značajka svih podskupina zloćudnih tumora je njihova pojavnost u osoba starije životne dobi, i češće u muškaraca. Trend učestalosti sličan je zemljama u okruženju. Ova studija pokazala je potrebu i važnost trajnog praćenja učestalosti krvotvornih zloćudnih tumora u Hrvatskoj uz poboljšanje metodološkog pristupa, ponajprije kroz prospektivno praćenje, ali i jasne ulazne parametre koji definiraju ne samo dijagnozu već i prognozu zloćudnih tumora.

Uvod

Praćenje učestalosti zloćudnih tumora krvotvornog sustava ima višestruku vrijednost. Naša saznanja o pojavnosti pojedinih zloćudnih krvotvornih tumora temelje se na istraživanjima razvijenih zemalja zapadne Europe i SAD-a^{1,2}. Međutim, pokazatelji pojavnosti krvotvornih zloćudnih tumora u Hrvatskoj su neophodni. Zašto? Rezultati takvog istraživanja će ukazati ponajprije na veličinu problema, a time i na potrebe diferentne dijagnostike i liječenja u Hrvatskoj. Istodobno usporedbom s drugim zemljama mogu se uočiti neke specifičnosti u pojavnosti pojedinih zloćudnih tumora u našoj sredini.

Jedan od značajnih problema istraživanja učestalosti krvotvornih zloćudnih tumora jest metoda koja se koristi u dijagnostici krvotvornih zloćudnih tumora. Je li istovjetna metoda korištena u dijagnostici pojedinih skupina krvotvornih zloćudnih tumora? To otvara problem točnosti i ispravnosti dijagnoze

zloćudnih krvotvornih tumora, što može značajno utjecati kako na učestalost tako i na raspodjelu pojedinih krvotvornih tumora.

U ovom su radu prikazani rezultati učestalosti krvotvornih zloćudnih tumora u Hrvatskoj tijekom 2011. godine.

Metode

Registar KROHEM-a: Tijekom 2010. i 2011. godine KROHEM je izradio bazu podataka za bolesnike sa zloćudnim krvotvornim tumorima. Baza podataka sastoji se od dva dijela, općeg Obrasca A i obrasca B koji sadrži specifične pokazatelje dijagnostike i terapije za pojedine skupine zloćudnih tumora. Obrazac A sadržava temeljne pokazatelje bolesnika koji su uključeni u Registar: inicijali, dob, spol, dijagnoza, živ umro, razlog smrti. Za ovu analizu učestalosti koristili su se pokazatelji: dijagnoza, dob, spol.

Prikupljanje podataka: Za ovaj rad pokazatelji su prikupljeni retrospektivno. Izvor podataka bile su bolničke baze podataka i arhive hospitaliziranih bolesnika tijekom 2011. godine. U ispitivanje su uključene sve veće bolnice njih 19, u kojima se liječe hematološki bolesnici.

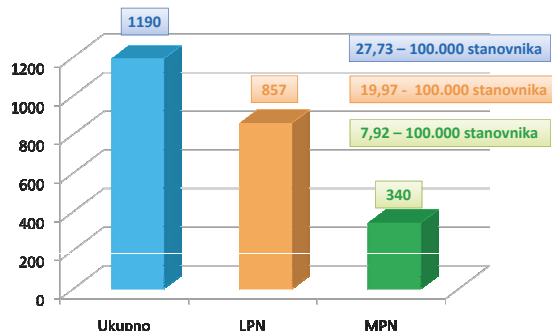
Podjela zloćudnih krvotvornih tumora: Zloćudni krvotvorni tumori su podijeljeni u dvije velike skupine, limfoproliferativni i mijeloproliferativni zloćudni tumori. Unutar skupine limfoproliferativnih zloćudnih tumora bolesnici su podijeljeni po dijagnozama u sljedeće podskupine: limfomi, kronična limfocitna leukemija, multipli mijelom, akutna limfocitna leukemija, i Waldenströмова makroglobulinemija. U skupini mijeloproliferativnih zloćudnih tumora bolesnici su po dijagnozama podijeljeni u sljedeće podskupine: akutna mijeloična leukemija, mijeloproliferativni zloćudni tumori, kronična mijeloična leukemija, mijelodisplazije.

Statistička obrada: Učestalost zloćudnih krvotvornih tumora prikazana je kao učestalost novih bolesnika na 100.000 stanovnika. Učestalost je također prikazana kao učestalost prema spolu; Bolesnici su prema dobi podijeljeni u 10 skupina: 1-10, 11-20, 21-30, 31-40, 41-50, 51-60, 61-70, 71-80, 81-90, i 91-100 godina. Za svaku bolest naveden je medijan dobi i raspon. Za statističku obradu korišten je SEER STAT program.

Rezultati

Slika 1.

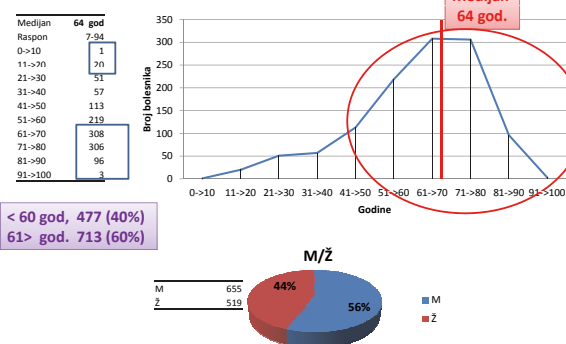
Učestalost zloćudnih krvotvornih tumora u Hrvatskoj 2011. godine



Slika 1 prikazuje zbirne rezultate, ukupnu učestalost zloćudnih tumora u Hrvatskoj kao i učestalost limfoproliferativnih i mijeloproliferativnih zloćudnih tumora. U Hrvatskoj je tijekom 2011. godine u bolnicama zabilježeno 1190 bolesnika sa zloćudnim tumorima krvotvornog sustava ili 27,73 bolesnika na 100.000 stanovnika; od toga je bilo 857 bolesnika s limfoproliferativnim zloćudnim tumorima (19,97 na 100.000 stanovnika) i 340 bolesnika s mijeloproliferativnim zloćudnim tumorima (7,92 na 100.000 stanovnika). Od ukupnog broja 56% je bilo muškaraca a 44% žena (Slika 2). Medijan dobi za sve bolesnike sa zloćudnim tumorima krvotvornog sustava je 64 godine (raspon 7-94 godine), a 60% bolesnika je bilo starije od 60 godina (Slika 2).

Slika 2.

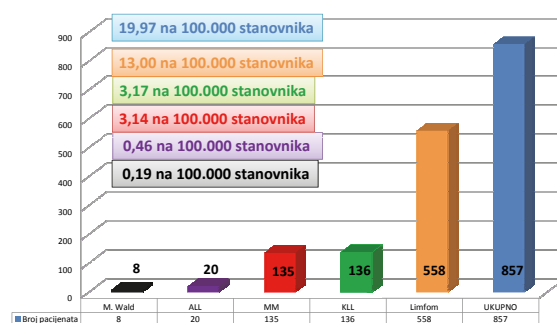
Učestalost zloćudnih krvotvornih tumora u Hrvatskoj 2011. godine



Od limfoproliferativnih bolesti najčešća dijagnoza su limfomi a potom kronična limfocitna leukemija, pa multipli mijelom, akutna limfocitna leukemija (ALL) i Waldenströmova makroglobulinemija (Slika 3).

Slika 3.

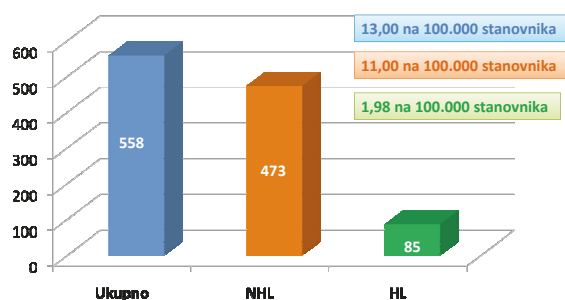
Limfoproliferativni zloćudni tumori – učestalost na 100.000 stanovnika



U skupini limfoma značajno više je bilo ne-Hodgkinovih limfoma (NHL) u usporedbi s Hodgkinovim limfomom (HL) (Slika 4). Učestalost NHL-a je 11,00 novih bolesnika na 100.000 stanovnika, a HL-a 1,98 novih bolesnika na 100.000 stanovnika.

Slika 4.

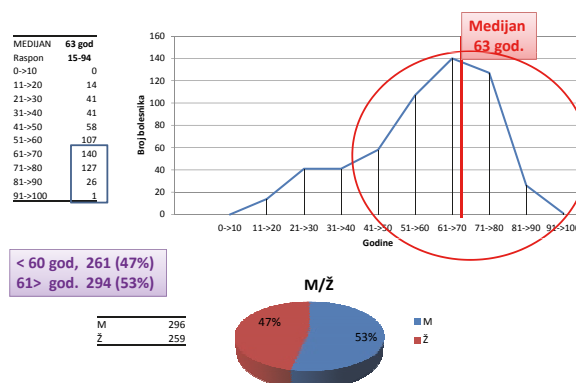
Limfomi – učestalost na 100.000 stanovnika



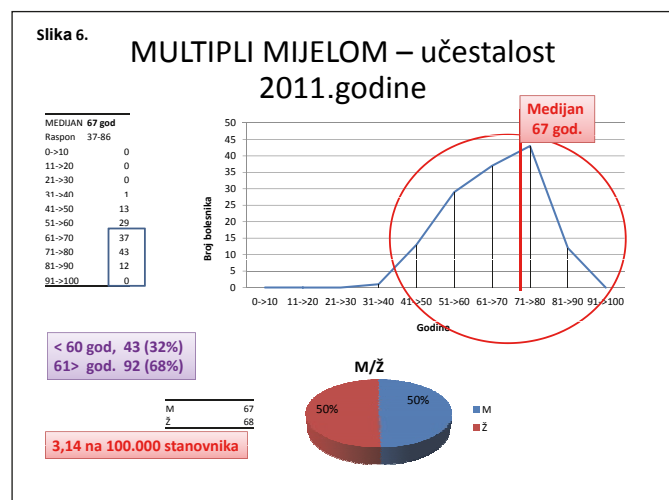
Medijan dobi bolesnika s limfomom je 63 godine (raspon 15-94 godine). Nešto je više bilo muškaraca i bolesnika starijih od 60 godina (Slika 5).

Slika 5.

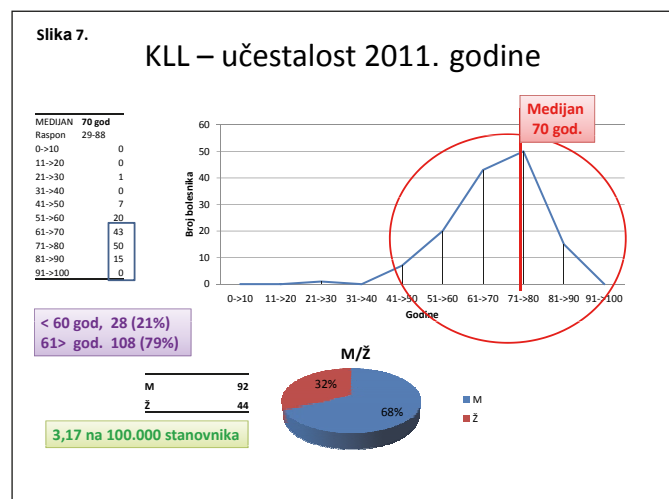
NHL/HL učestalost 2011. godine



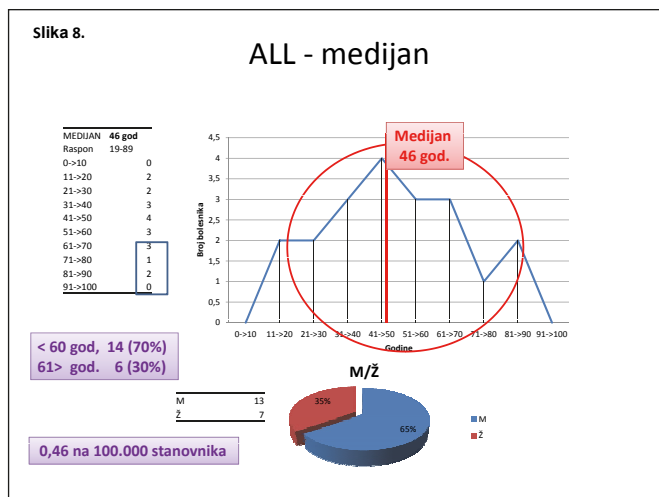
Ukupno 135 bolesnika s multiplim mijelomom registrirano je tijekom 2011. godine (Slika 6). Bilo je podjednako muškaraca i žena, a bolesnici su nešto stariji u usporedbi sa skupinom bolesnika s limfomom (medijan dobi je 67 godina, a raspon 37-86 godina); izračun pokazuje da je u Hrvatskoj 3,14 novih bolesnika s multiplim mijelomom na 100.000 stanovnika.



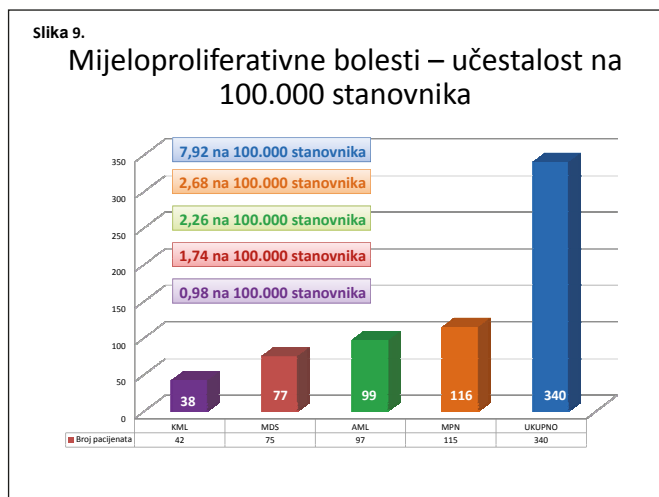
Bolesnici s kroničnom limfocitnom leukemijom (KLL), njih 136, najstarija su skupina (medijan dobi je 70 godina a raspon 29-88 godina) (Slika 7). Značajno više bilo je muškaraca (68%), a u Hrvatskoj je u 2011. godini bilo 3,17 novih bolesnika s KLL-om na 100.000 stanovnika (Slika 7).



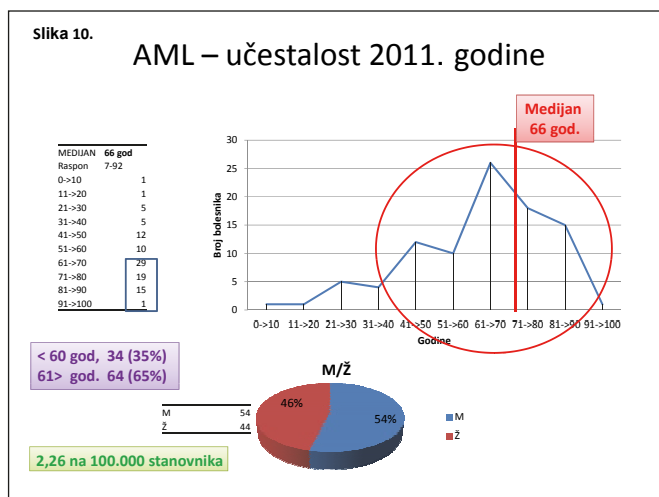
Tijekom 2011. godine 40 bolesnika s akutnom limfocitnom leukemijom (ALL) liječeno je na internističkim odjelima u Hrvatskoj (Slika 8). Medijan dobi je 46 godine a raspon 19-89 godina. Svega 30% bolesnika je bilo starije od 60 godina. Većina bolesnika njih 65% bili su muškarci a učestalost odraslih novih bolesnika s ALL-om je 0,46 na 100.000 stanovnika (Slika 8).



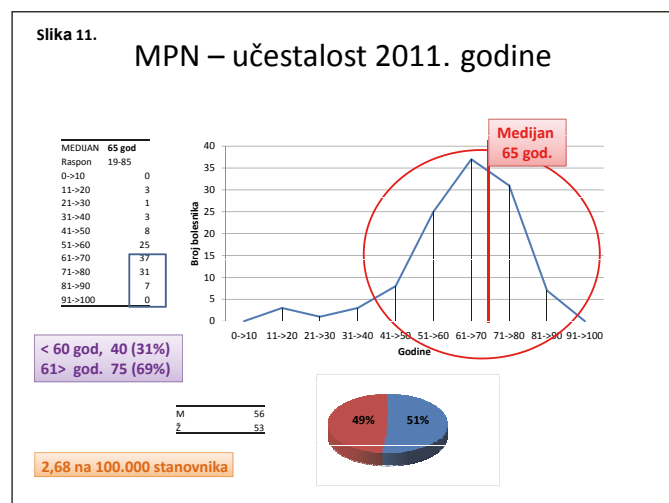
U skupini mijeloproliferacija najčešće su registrirani kronični mijeloproliferativni zloćudni tumori (MPN), potom akutne mijeloične leukemije (AML), pa mijelodisplazije (MDS) i kronična mijeloična leukemija (KML) (Slika 9).



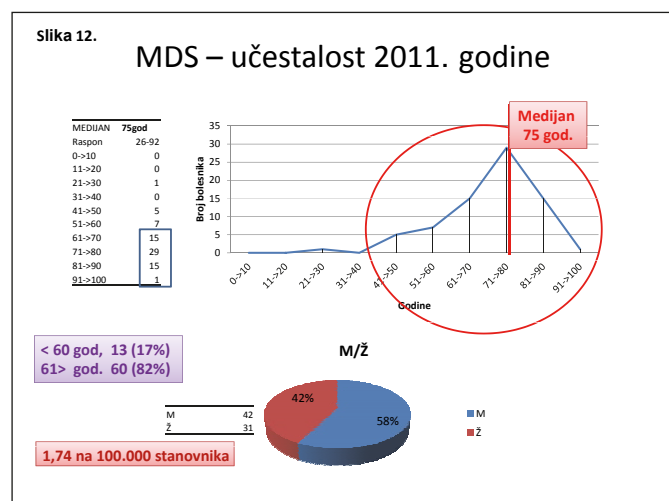
Medijan dobi 98 bolesnika s AML-om je 66 godina (raspon 7-92 godine) (Slika 10). Nešto više je muškaraca s AML-om (54%); oko 65% bolesnika bilo je starije od 60 godina, a učestalost novih AML-a tijekom 2011. je 2,26 na 100.000 stanovnika (Slika 10).



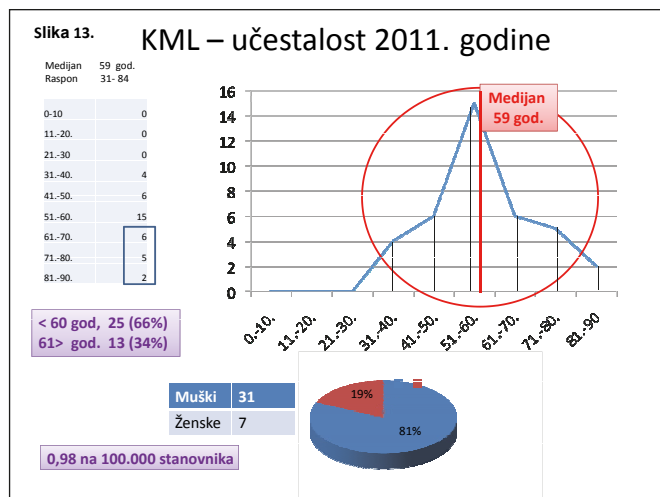
Sličan medijan dobi je izračunat za bolesnike s MPN-om (65 godina) uz raspon od 19-85 godina (Slika 11). Oko 70% bolesnika je starije od 60 godina uz sličnu učestalost žena i muškaraca. Učestalost novih MPN tijekom 2011. je 2,68 na 100.000 stanovnika (Slika 11).



Bolesnici s MDS-om su starije životne dobi, njih 82% starije je od 60 godina, medijan dobi je 75 godina a raspon se kreće od 26-92 godine (Slika 12). U 73 bolesnika postavljena je dijagnoza MDS-a, tj. tijekom 2011. bilo je 1,74 novih bolesnika na 100.000 stanovnika (Slika 12).



U 38 novih bolesnika s KML-om medijan je 59 godina, a raspon od 31 do 84 godine (Slika 13). Većina je bolesnika mlađih od 60 godina, njih 66%, a značajno više bilo je muškaraca (81%). Tijekom 2011. bilo je 0,98 novih bolesnika s KML-om na 100.000 stanovnika.

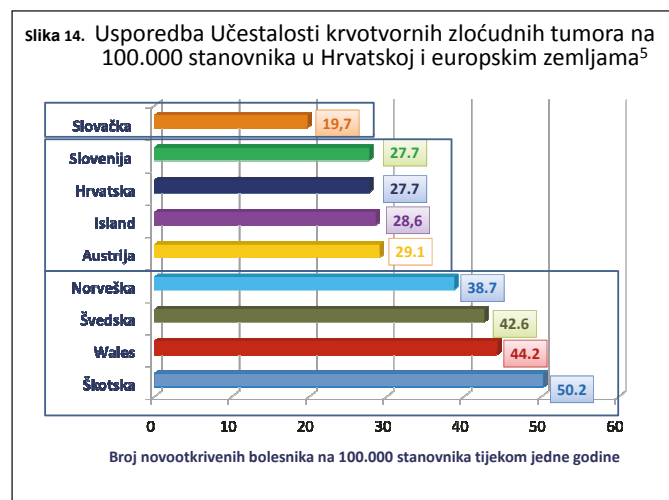


Rasprava

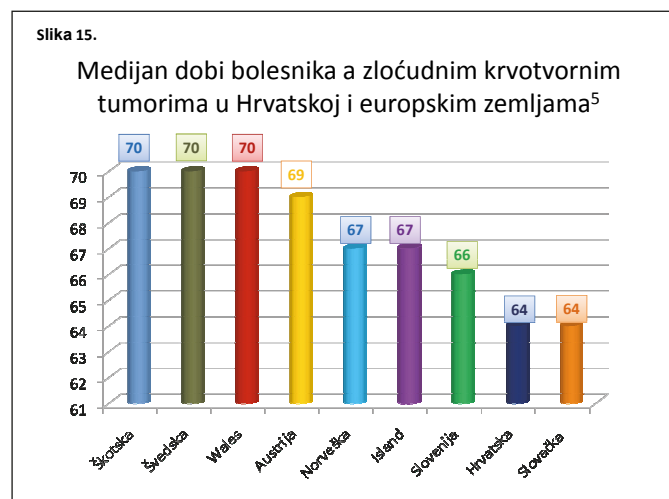
Praćenje učestalosti jedan je od glavnih pokazatelja i mjera „opterećenja“ određene populacije bolestima (zajedno s prevalencijom, mortalitetom i preživljenjem)^{3,4}. Svi navedeni pokazatelji najbolje određuju potrebe za javnozdravstvenim resursima. No za dobru procjenu učestalosti bolesti i javnozdravstvenu vrijednost tih pokazatelja odabir ulaznih informacija o zloćudnim tumorima od presudne je važnosti, ponajprije s obzirom na prognozu zloćudnih tumora koji su uvršteni odgovarajuće skupine temeljem dijagnostičkih pokazatelja. S epidemiološkog stajališta čini se vrijednijim razdijeliti zloćudne tumore u skupine koje mogu objektivno istraživati prognozu. Stoga i klinička podjela zloćudnih tumora s obzirom na njihov tijek (npr. indolentni i agresivni limfomi) čini se da još uvijek ima epidemiološku vrijednost.

Nekoliko je razloga zašto je ova studija manjkava. Jednogodišnje praćenje novo-dijagnosticiranih zloćudnih krvotvornih tumora nije dostatno da nam pruži objektivne pokazatelje o njihovoj pojavnosti u populaciji. Potrebno je pratiti znatno duže vrijeme, najmanje kroz 3-5 godina, da bi se mogla stvoriti realna slika o učestalosti kako svih tako i pojedinih krvotvornih zloćudnih tumora u Hrvatskoj. Usto metodološki pristup prikupljanja bolesnika temeljem dijagnoza postavljenih u bolnici čini se nedostatnom. Vjerojatno se dio bolesnika ne prepoznaje jer nije prošao kroz bolničku administraciju. Usto retrospektivna analiza koja je korištena u ovoj studiji uvijek nosi mogućnost da nisu prikupljeni svi bolesnici koji su boravili i liječili se u bolnici. No treba naglasiti da ova preliminarna analiza pokazuje trend pojavnosti i da je stoga više nego vrijedna u procjeni učestalosti i razdiobe zloćudnih krvotvornih tumora u Hrvatskoj.

Kada je usporedimo sa sličnim studijama u Europi⁵, prikupljeni pokazatelji se značajnije ne razlikuju od pokazatelja u pojedinim europskim zemljama (Slika 14).



Europske zemlje se mogu podijeliti u tri skupine s obzirom na učestalost. U prvoj skupini su zemlje u kojih je pojavnost novih bolesnika od 40,00 do 50,00 na 100.000 stanovnika. U drugoj skupini u kojoj bi bila i Hrvatska nalaze se zemlje gdje se učestalost novih bolesnika kreće od 27,00 do 30,00 na 100.000 stanovnika, a treća skupina su zemlje s učestalosti koja je ispod 20,00 na 100.000 stanovnika. Moguće je samo pretpostaviti koji su razlozi tih razlika u učestalosti, ponajprije vjerodostojnost prikupljenih podataka. No, jedan od razloga može biti i životna dob (Slika 15). Bolesnici u zemljama s najvećom učestalosti starije su životne dobi (medijan oko 70). Te zemlje pokazuju i u općoj populaciji stariju životnu dob. S druge strane u zemljama sa srednjom ili najmanjom učestalosti medijan životne dobi kreće se između 64 i 67 godina (Slika 15). Kako su zloćudni krvotvorni tumori bolesti starije životne dobi, za očekivati je u starije populacije veću učestalost ovih zloćudnih tumora.



Studija KROHEM-a je pokazala da je učestalost različita za pojedine zloćudne krvotvorne tumore. Limfoproliferativni zloćudni tumori su češći od mijeloproliferativnih. Isto tako zloćudni tumori se rjeđe javljaju u žena nego u muškaraca. Postoje brojne pretpostavke zbog čega muškarci češće obolijevaju od žena. To se pokušava objasniti razlikama u izloženosti toksičnim tvarima (zanimanje), pušenje i alkohol, te tzv. „univerzalnim mehanizmima“ (npr. hormonalne i genetske razlike)⁶⁻⁹.

Prikazane krivulje učestalosti pojedinih zloćudnih tumora s obzirom na dob i dobne skupine ne održavaju vjerodostojno učestalost pojedinog tumora u skupini određene životne dobi¹⁰. Tako npr. učestalost AML-a u bolesnika životne dobi od 81 - 90 godina izgleda manja nego u bolesnika životne dobi od 61-70 godina. Kada bi u izračunu bilo moguće usporediti broj novooboljelih sa AML-om s brojem stanovnika te životne dobi učestalost bi bila sasvim drugačija. Stoga je za pretpostaviti da bi u općoj populaciji životne dobi iznad 80 godina učestalost AML-a bila znatno veća. To vrijedi i za sve ostale zloćudne tumore.

U zaključku treba reći da preliminarna studija praćenja zloćudnih krvotvornih tumora u Hrvatskoj pokazuje incidenciju 27,73 novih bolesnika na 100.000 stanovnika. Češći su limfoproliferativni zloćudni tumori (19,97 novih bolesnika na 100.000 stanovnika) od mijeloproliferativnih zloćudnih tumora (7,92 novih bolesnika na 100.000 stanovnika). Zloćudni krvotvorni tumori se javljaju u osoba starije životne dobi, i češće u muškaraca. Trend pojavnosti sličan je zemljama u okruženju. Ova studija pokazala je potrebu i važnost trajnog praćenja učestalosti krvotvornih zloćudnih tumora u Hrvatskoj uz poboljšanje metodološkog pristupa, ponajprije kroz prospektivno praćenje, ali i jasne ulazne parametre koji definiraju ne samo dijagnozu već i prognozu zloćudnih tumora.

Zahvala:

Ovaj rad ne bi bio moguć da liječnici sljedećih kliničkih, županijskih i općih bolnica u Hrvatskoj nisu sudjelovali u prikupljanju podataka:

- Čakovec
- Dubrovnik
- Karlovac
- Koprivnica
- Osijek – KBC Osijek
- Pula
- Rijeka – KBC Rijeka
- Sisak
- Slavonski Brod
- Šibenik
- Split – KBC Split
- Varaždin
- Virovitica
- Zadar
- Zagreb – KB Dubrava, KB Merkur, KBC Sestre Milosrdnice, KB Sv. Duh, KBC Zagreb

Posebna zahvala dr. Alenu Ostojiću, te Miroslavu Dadiću i Robertu Kufneru na prikupljanju podataka i statističkoj obradi.

Literatura

1. De Angelis R, Francisci S, Baili P, et al. The EURO-CARE-4 database on cancer survival in Europe: data standardization, quality control and methods of statistical analysis. *Eur J Cancer*. 2009; 45:909-930.
2. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, Hartge P, Weisenburger DD, Linet MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*. 2006; 107:265-276.
3. Marcos-Garera R, Allemani C, Tereanu C, et al. The HEAMACARE Working Group, and Milena Sant. Survival of European patients diagnosed with lymphoid neoplasms in 2000-2002; results of the HAEMACARE project. *Haematologica*. 2011; 96:720-728.
4. Maynadie M, De Angelis R, Marcos-Garera R, et al. The HEAMACARE Working Group and Milena Sant. Survival of European patients diagnosed with myeloid malignancies: a HAEMACARE study. *Haematologica*. 2012 (Epub ahead of print).
5. Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. The HAEMACARE Working Group. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*. 2010;116:3724-3734.
6. Cook MB, Dawsey SM, Freedman ND et al. Sex disparities in cancer incidence by period and age. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009; 18:1174-1182.
7. Gorini G, Stagnaro E, Fontana V, et al. Alcohol consumption and risk of leukemia: a multi-center case-control study. *Leuk Res*. 2007; 31:379-386.
8. Alexander D.D., Mink PJ, Adami HO, et al. The non-Hodgkin lymphomas: a review of the epidemiologic literature. *Int J Cancer*. 2007; 120:1-39.
9. Merhi M, Rayanai H, Cahuzac E, et al. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case control studies. *Cancer Causes Control*. 2007; 18:1209-1226.
10. Quaglia A, Tavilla A, Shack L, et al. The cancer survival gap between elderly and middle-aged patients in Europe is widening. *Eur J Cancer*. 2009; 45:1006-1016.

Intenzivirana kemoterapija prema pedijatrijskom protokolu u ALL kod odraslih - EORTC HOVON 100 studija

Zinaida Perić^{1,2}, Alen Ostojić¹, Boris Labar^{1,2}

¹ Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb, Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

Zinaida Perić, dr. med.

Zavod za hematologiju

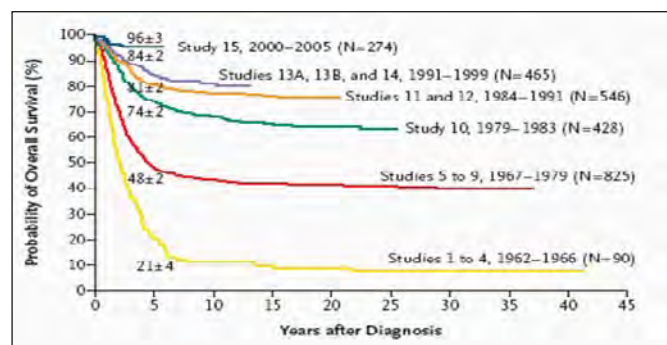
Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

E-pošta: zina_peric@yahoo.com

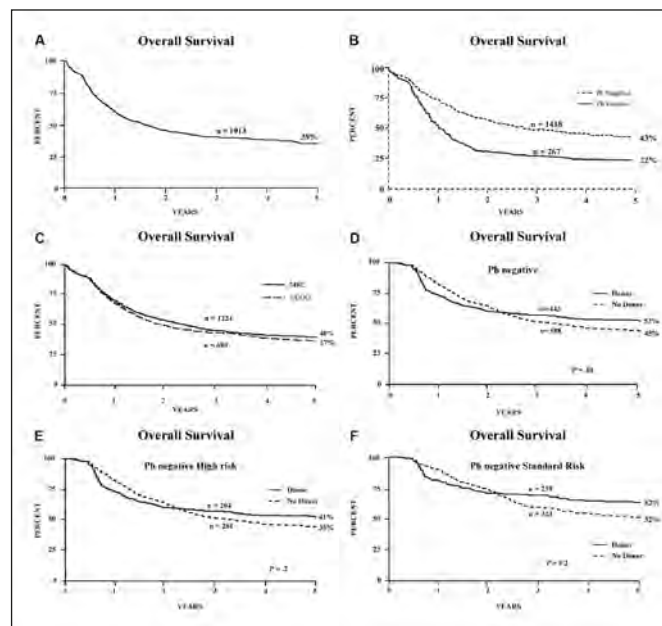
Intenzivirana citostatska terapija je povezana s izvrsnim rezultatima liječenja akutne limfoblastične leukemije (ALL) u djece. Izmjenjivanjem te intenzificiranjem konvencionalnih kemoterapeutika, ukupno se preživljenje od ove bolesti u djece povećalo na više od 90% u današnje vrijeme, s 70-80%, koliko je iznosilo devedesetih godina prošlog stoljeća¹ (Slika 1).

Slika 1. Ukupno preživljenje djece koja boluju od ALL u posljednjih 50 godina (New Eng J Med., 2006.).



S druge strane, uspješnost se liječenja iste bolesti u odraslih gotovo nije promijenila posljednjih desetljeća. Do sada objavljene velike multicentrične studije u odraslih bolesnika pokazale su petogodišnje preživljenje u tek 30-50% bolesnika, iako se prva kompletna remisija citostatskim liječenjem postiže u 70-90% bolesnika² (Slika 2).

Slika 2. Ukupno preživljenje odraslih bolesnika koji boluju od ALL (Blood., 2008.).



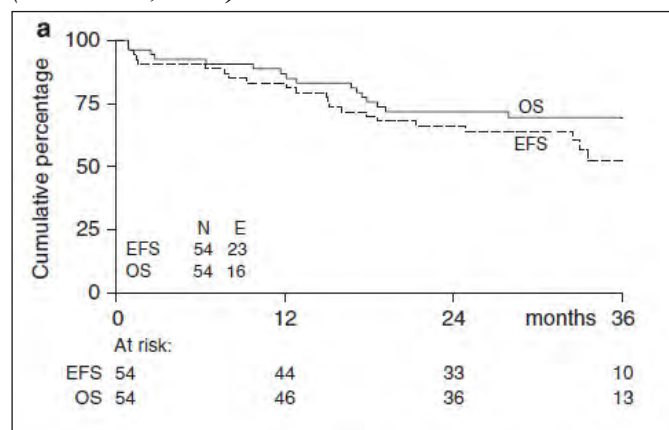
Stoga se postavlja pitanje radi li se doista o biološki istoj bolesti, i ako da, je li razlika u uspješnosti liječenja uzrokovana razlikom između pedijatrijskih protokola i protokola liječenja za odrasle. Glavne razlike između navedenih protokola čine doze nemijelotoksičnih citostatika (asparaginaze, metotreksata, kortikosteroida te vinka alkaloida), kao i strogi vremenski raspored kemoterapijskih ciklusa u djece.

Upravo je zato u posljednje vrijeme nekoliko grupa istraživača pokušalo prilagoditi liječenje odraslih bolesnika inkorporiranjem pedijatrijskih protokola u kemoterapijsko liječenje. Tako je nedavno Grupa za istraživanje akutne limfoblastične leukemije kod odraslih (GRALL, prema eng. Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia) objavila rezultate studije u kojoj je ishod liječenja odraslih bolesnika znatno poboljšan upravo ovakvim pristupom.³

Ipak, provedivost liječenja pedijatrijskog protokola nije ispitana sve do HOVON 70 studije. Ovo prospektivno, nerandomizirano, kliničko ispitivanje faze II je između 2005. i 2007. u 15 kliničkih centara provela nizozemsko-belgijska HOVON grupa na 54 bolesnika između 17 i 40 godina, i to kemoterapijskim protokolom temeljenim na pedijatrijskom FRALLE 93⁴ protokolu. Rezultati ove studije su objavljeni u časopisu Leukemia 2011. godine⁵ te su pokazali da je ovaj kemoterapijski protokol provediv u najmanje 60% bolesnika (primarni cilj ove

studije, provedivost, je bila definirana kao postizanje kompletne remisije i završetak liječenja unutar strogog vremenskog okvira). Bolesnici su potom, po postizanju prve kompletne remisije, a ukoliko su imali davatelja u obitelji, liječeni alogeničnom transplantacijom koštane srži, dok su nesrodnom transplantacijom liječeni samo bolesnici visokog rizika. Sekundarni cilj ove studije je bilo procijeniti dvogodišnje preživljenje i održavanje remisije (OS, prema eng. overall survival, te EFS prema eng. event-free survival), te se pokazalo da je i ishod ovih bolesnika bio znatno bolji. Naime, dvogodišnji OS je bio 72% (95% CI, prema eng. confidence interval 58-72%), a EFS je iznosio 66% (95% CI 52-77%) (Slika 3).

Slika 3. OS i EFS kod odraslih ALL bolesnika (17-40 godina) liječenih prema HOVON 70 protokolu (Leukemia., 2011.).



Pritom je tri bolesnika umrlo zbog toksičnosti terapije a jedan je bolesnik umro od plućne embolije (smrt povezana s primjenom asparaginaze). Dva su bolesnika umrla u septičkom šoku, a gotovo 40% bolesnika je imalo teške infektivne komplikacije, i to uglavnom tijekom indukcije i konsolidacije. Stoga se u budućim fazama ispitivanja ovog protokola veća pažnja mora posvetiti antimikrobnoj profilaksi, kao i mogućoj primjeni faktora rasta. S druge strane, asparaginaza i visoke doze metotreksata (glavni lijekovi u post-indukcijskoj fazi) su pokazali relativno prihvatljivu toksičnost. Zaključno, rezultati HOVON 70 studije su potvrdili provedivost, kao i vrlo dobre ishode liječenja odraslih bolesnika mlađih od 40 godina kemoterapijskim protokolima temeljenima na protokolima za djecu.

Stoga je ista grupa istraživača pokušala primijeniti sličan prilagođen protokol i u bolesnika starijih od 40 godina. Protokol po imenu HOVON 71 ispitan je u kliničkom multicentričnom prospektivnom ispitivanju faze II, u 60 bolesnika s novodijagnosticiranim ALL između 2005. i 2008. godine. Rezultati

ove studije su objavljeni u časopisu *Leukemia* ove godine⁶ te su pokazali da je HOVON 71 provediv u 67% bolesnika starijih od 40 godina (medijan dobi bolesnika je iznosio 57 godina, s rasponom od 40-69 godina) odnosno kemoterapija je privremeno odgođena u 20 bolesnika, a trajno u 6 bolesnika (10%). Kompletna remisija je postignuta u 51 bolesnika (85%), iako je njih 20 ušlo u relaps (39%) na medijan od 18 mjeseci, pa su rezultati liječenja ohrabrujući s OS od 51% (95%CI 37-63%) i EFS od 42% (95%CI 30-55) nakon 3 godine. Ipak, navedeni je protokol pokazao i značajnu toksičnost, s relativno visokom smrtnosti od 17% u fazi indukcije, povezanu uglavnom s ozbiljnim infekcijama, uz učestale nuspojave poput teških mukozitisa i produljenih citopenija, koje su uzrokovale kašnjenje ili čak potpuno povlačenje bolesnika iz protokola. Stoga se suportivna terapija pokazala osobito važnom i u starijih bolesnika, te će joj se u fazi III ispitivanja ovih protokola morati posvetiti odgovarajuća pažnja.

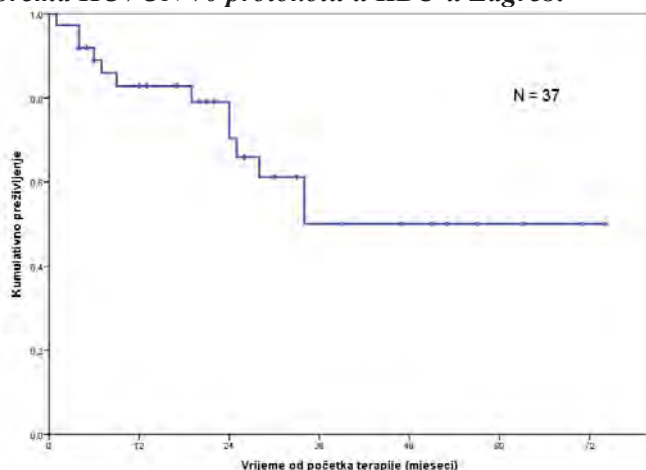
Upravo ohrabrena navedenim rezultatima, EORTC grupa (prema eng. European Organization for Research and Treatment of Cancer) je odlučila provesti prospektivnu, multicentričnu, randomiziranu zajedničku studiju s HOVON grupom, po imenu HOVON 100. Ova je studija započela u listopadu 2009. te će do travnja 2013. uključivati bolesnike s novootkrivenom ALL između 18 i 70 godina. Radi se o protokolu temeljenom na HOVON 70 protokolu (za bolesnike dobi 18-39 godina) odnosno na HOVON 71 protokolu (za bolesnike dobi 40-70 godina) s dodatkom novog lijeka (klofarabina) u fazi indukcije i konsolidacije, kao i ispitivanjem minimalne ostatne bolesti (MRD, prema eng. minimal residual disease) za identificiranje posebnih rizičnih skupina. Naime, ispitivanje MRD kod djece ima dokazanu prognostičku vrijednost⁷ te se danas već koristi za određivanje rizičnih skupina u postojećim pedijatrijskim protokolima.⁸ HOVON 100 studija faze II/III je započela s uključivanjem bolesnika u Nizozemskoj, Belgiji i Francuskoj, te joj je primarni cilj ispitati provedivost ovog protokola, a sekundarni njegov utjecaj na preživljenje i izlječenje odraslih bolesnika (OS i EFS).

U KBC-u Zagreb se protokoli HOVON 70 i HOVON 71 koriste u liječenju ALL od 2005. godine, te se danas svi bolesnici s novootkrivenom ALL liječe prema navedenim protokolima. Stoga smo s dosegnutim medijanom praćenja ovih bolesnika od 22 mjeseca (raspon 1-74 mjeseci) mogli po prvi put procijeniti rezultate navedenog liječenja. Prema protokolu HOVON 70 dosad je u našoj ustanovi liječeno

37 bolesnika, s medijanom dobi od 23 godine pri početku liječenja (raspon 15-39 godina), s time da se u 25 bolesnika radilo o novootkrivenoj ALL. Kompletan je remisija je postignuta u 31 bolesnika (84%) a dvogodišnji OS iznosi 61% odnosno DFS (prema eng. disease-free survival) 57%. Teže komplikacije prilikom liječenja su uglavnom, kao i u ranije prikazanim studijama, bile vezane uz infektivne komplikacije (u 27 bolesnika-gotovo 73%), uz relativno dobru podnošljivost asparaginaze te visokih doza metotreksata.

Ohrabrujući rezultati liječenja odraslih bolesnika prema kemoterapijskim protokolima HOVON 70 i HOVON 71, potaknuli su naš centar na suradnju s HOVON grupom i EORTC-om, te se stoga nadamo da će do kraja ove godine HOVON 100 studija biti odobrena u našoj zemlji te da će u ovaj protokol moći biti uključeni novodijagnosticirani ALL bolesnici, koji zadovoljavaju kriterije za uključivanje.

Slika 4. OS kod odraslih ALL bolesnika liječenih prema HOVON 70 protokolu u KBC-u Zagreb.



Literatura:

1. Pui CH, Evans WE. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. N Eng J Med. 2006; 354(2):166-78.
2. Goldstone AH et al. In adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia, the greatest benefit is achieved from a matched sibling allogeneic transplantation in first complete remission, and an autologous transplantation is less effective than conventional consolidation/maintenance chemotherapy in all patients: final results of the International ALL Trial (MRC UKALL XII/ECOG E2993). Blood. 2008;111:1827-33.
3. Huguet F et al. Pediatric-inspired therapy in adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: the GRAALL-2003 study. J Clin Oncol. 2009;27:911-18.
4. Haiat S et al. Outcome of 40 adults aged from 18 to 55 years with acute lymphoblastic leukemia treated with double-delayed intensification pediatric protocol. Leuk Res. 2011;35: 66-72.
5. Rijneveld AW et al. Intensified chemotherapy inspired by a pediatric regimen combined with allogeneic transplantation in adult patients with acute lymphoblastic leukemia up to the age of 40. Leukemia. 2011;25:1697-1703.
6. Daenen S et al. Intensive chemotherapy to improve outcome in patients with acute lymphoblastic leukemia over the age of 40: a phase II study for efficacy and feasibility by HOVON. Leukemia. 2012;1-4.
7. Raff T et al. Molecular relapse in adult standard-risk ALL patients detected by prospective MRD monitoring during and after maintenance treatment: data from the GMALL 06/99 and 07/03 trials. Blood. 2007;109:910-15.
8. Conter V et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with Bcell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. Blood. 2010;115:3206-14.

Opservacijska studija AML-1: početak uključivanja bolesnika

Nadira Duraković^{1,2}, Alen Ostojić¹, Boris Labar^{1,2}

¹ Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb, Zagreb

² Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

Adresa autora za kontaktiranje:

Dr. sc. Nadira Duraković, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilište u Zagrebu

E-pošta: nadira@mef.hr

Nakon što je na prošlogodišnjem proljetnom sastanku u Tuheljskim toplicama predstavljena opservacijska studija AML-1, na posljednjem sastanku KROHEM-a su predstavljeni i prvi rezultati. S obzirom na to da je riječ o studiji koja je započela u siječnju ove godine, i to za sada samo u centru KBC Zagreb, tako je i broj zabilježenih bolesnika bio skroman, a praćenje kratko. Unatoč tome smatrali smo da je važno podsjetiti i članstvo na važnost ove studije te smo zbog toga u okviru Radne skupine za akutne leukemije kratko predstavili algoritam studije te uključne i isključne čimbenike. U ovom ih tekstu nećemo ponavljati, obzirom da su *in extenso* opisani u prethodnom broju Biltena. Podsjetit ćemo samo da do sada nikada nisu sustavno sakupljeni podaci o oboljelima od akutne leukemije u Republi-

ci Hrvatskoj, te je nepoznata incidencija bolesti, kao niti rezultati liječenja oboljelih.

Predstavljen je u dodatak u obliku kalkulatora rizika, koji pomaže nadležnom liječniku u procjeni rizika prema WHO klasifikaciji te kalkulaciji komorbiditeta prema ECOG i HCT-CI skali (Slika 1), a koji je dostupan svima na mrežnim stranicama KROHEM-a.

Do sastanka je u studiju uključeno ukupno 10 bolesnika, jedan bolesnik je procijenjen da je povoljnog rizika pred uvodnu terapiju, 3 su imali intermedijarni rizik dok je 6 bolesnika imalo nepovoljni rizik, pa su obzirom na navedeno, te na komorbiditete primili adekvatnu, protokolom predviđenu terapiju (Slika 2). Ovisno o odgovoru na uvodnu terapiju i na pristigle rezultate citogenetkih i molekularnih analiza liječenje je nastavljeno postindukcijskom terapijom, pri čemu se planiralo jednog bolesnika s povoljnim rizikom liječiti autolognom transplantacijom, jednog bolesnika alogeničnom transplantacijom od srodnog davatelja, a jedan je bolesnik predviđen za alogeničnu transplantaciju od nesrodnog davatelja zbog nepovoljnog citogenetskog rizika (Slika 3).

Praćenje bolesnika u KBC Zagreb se nastavlja i dalje, a izražena je i nada da će se s početkom rada registra, kojem će se pristupati preko mrežnog sučelja, studiji priključiti i drugi centri.

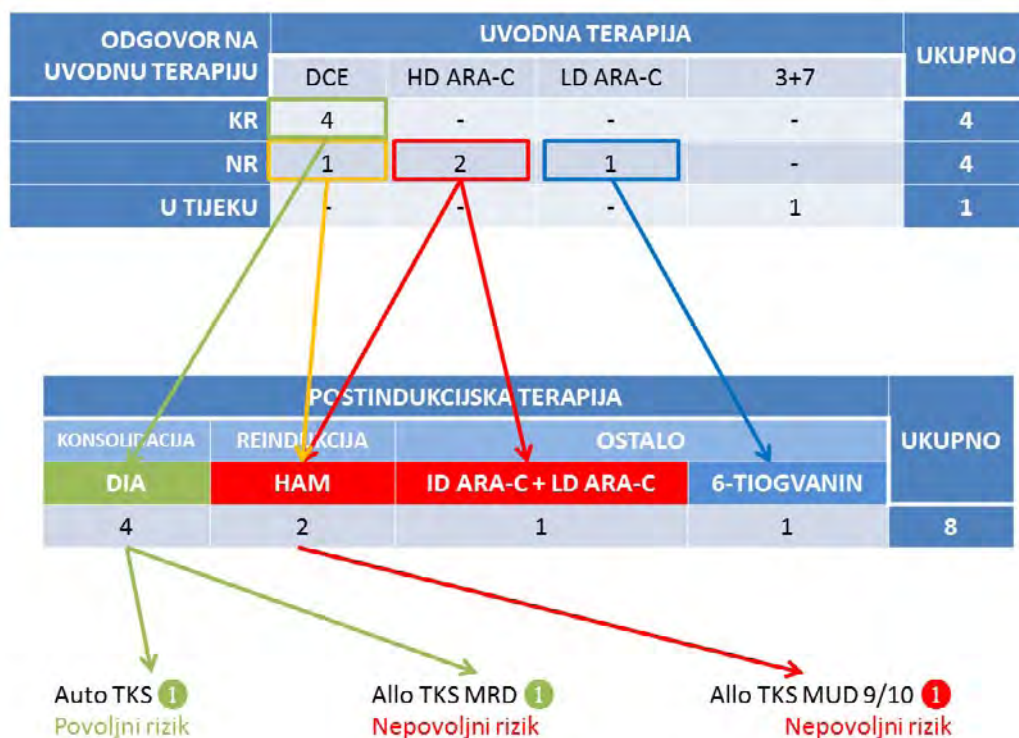
Slika 1. Kalkulator rizika.

PROCJENA RIZIKA ZA PACIJENTE S AML (KROHEM AML-1) v1.3 (09/05/2017)			
Ime i prezime bolesnika:		Spol: M	Datum dijagnoze:
		Datum rođenja:	Dob: 0
CITOMORFOLOGIJA/CITOKEMIJA I IMUNOFENOTIP		ECOG OPĆI STATUS (Am J Clin Oncol. 1982; 5(6):649-55.)	
AML-M0 bez prethodnog MDS-a ili znakova mijelodisplazije		0 - potpuno aktivan, obavlja sve aktivnosti kao i prije bolesti bez ograničenja	
POVEZANA S KEMOTERAPIJOM?		HCT-CI (Blood. 2005;106(8):2912-9.)	
Lkc $\geq 100 \times 10^9/L$? NE		Bolest jetra NE	
CD34+ BLASTI? NE		Plućna bolest NE	
GENETSKE PROMJENE		Ostali komorbiditeti	
☐ t(8;21)(q22;q22) ☐ RUNX1-RUNX1T1 ☐ inv(16)(p13.1;q22) ili t(16;16)(p13.1;q22) ☐ CBFB-MYH11 ☐ NPM1 mutacija bez FLT3-ITD ☐ CEBP α mutacija (normalni kariotip) ☐ FLT3-ITD (normalni kariotip) ☐ NPM1 mutacija + FLT3-ITD (normalni kariotip) ☐ diviji tip NPM1 + FLT3-ITD (normalni kariotip) ☐ diviji tip NPM1 bez FLT3-ITD (normalni kariotip) ☐ inv(3)(q21;q26.2) ili t(3;3)(q21;q26.2) ☐ MLL1-mutacija ☐ RPN1-FVT1 ☐ -5 ili del 5q ☐ t(6;9)(p23;q31) ☐ -7 ☐ DEK-NUP214 ☐ promjena(1/p) ☐ Bez prethodne terapije za AML ☐ KR nakon prethodne terapije za AML ☐ Ne-KR nakon prethodne terapije za AML ☐ Bez prethodne terapije za AML		☐ Aritmija (atrijska fibrilacija ili modulator, "sick sinus" sindrom, ili ventrikularne aritmije) ☐ Srčana bolest (koronarna bolest, dekompenzacija srca, infarkt miokarda III EF $\leq 50\%$) ☐ Srčana bolest zalistaka (OSIM prolapsa mitralne valvula) ☐ Peptički ulkus (kojeg treba liječiti) ☐ Upalna bolest crijeva (Chronova bolest ili ulcerozni kolitis) ☐ Dijabetes (kojeg treba liječiti inzulinom ili oralnim hipoglikemicima) ☐ Cerebrovaskularna bolest (IHA ili cerebrovaskularni inzult) ☐ Psihijatrijski poremećaj (depresija ili anksioznost koju je potrebno psihijatrijski nadzirati i liječiti) ☐ Debljina (bolesnici s indeksom tjelesne mase > 35) ☐ Reumatska bolest (SIF, RA, polimiozitis, miješana bolest vezivnog tkiva, ili polimijalgija reumatika) ☐ Bubrežna teška bolest (kreatinin $> 177 \mu\text{mol/L}$, dijaliza ili transplantacija bubrega) ☐ Preboljeli solidni zloćudni tumor (liječenje provedeno prije osnovne bolesti za bilo koji zloćudni tumor osim melanomskog rak kože) ☐ Infekcije (koje je potrebno nastaviti liječiti i nakon 0. dana)	
PROCJENA RIZIKA I PSIHOFIZIČKI STATUS PACIJENTA		ECOG = 0 HCT-CI = 0	
INTERMEJARNI RIZIK			
Napomena:			

Slika 2. Uključeni bolesnici, procjena rizika prije indukcije.

#	Pacijent	Spol	Dob	WHO
1	NV	M	55	Akutna monocitna/monoblastična leukemija
2	HZ	M	52	AML sa der(11q23);MLL preuredba (mijelomonocitna)
3	ČD	M	33	AML iz MDS-a (RAEB-2)
4	KI	M	51	AML NOS: s minimalnom diferencijacijom
5	ML	Ž	50	AML s t(8;21)(q22;q22);RUNX1-RUNX1T1;AML1/ETO
6	SLI	Ž	31	AML sa znacima mijelodisplazije, MLL-amplifikacija, kompleksni kariotip
7	CJ	Ž	75	t-AML/t-MDS
8	ES	Ž	40	AML s 11q23 (MLL) abnormalnostima
9	MK	Ž	68	AML sa znacima mijelodisplazije, -7
10	MV	Ž	61	AML bez sazrijevanja/MPAL B-mijeloidna

PROCJENA RIZIKA PRED UVODNU TERAPIJU	UVODNA TERAPIJA					UKUPNO
	DCE	HD ARA-C	LD ARA-C	3+7	BEZ	
POVOLJNI	1	-	-	-	-	1
INTEREDIJARNI	3	-	-	-	-	3
NEPOVOLJNI	1	2	1	1	1	6
UKUPNO	5	2	1	1	1	10

Slika 3. Postindukcijska terapija.

Nacrt smjernica za liječenje alogeničnom transplantacijom

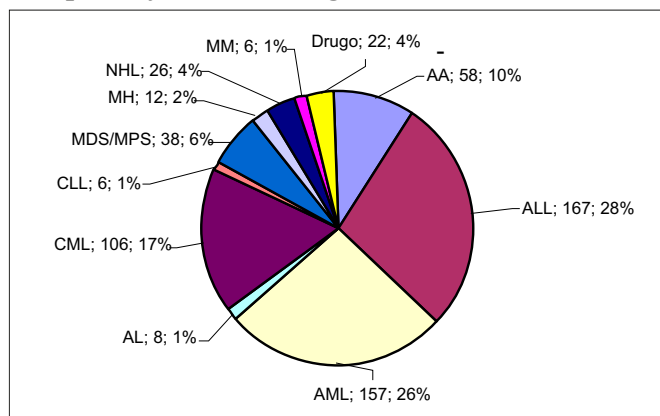
Prim. Ranka Serventi Seiwert, dr. med.

Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti,
KBC Zagreb

E-pošta: serventi_seiwert@hotmail.com

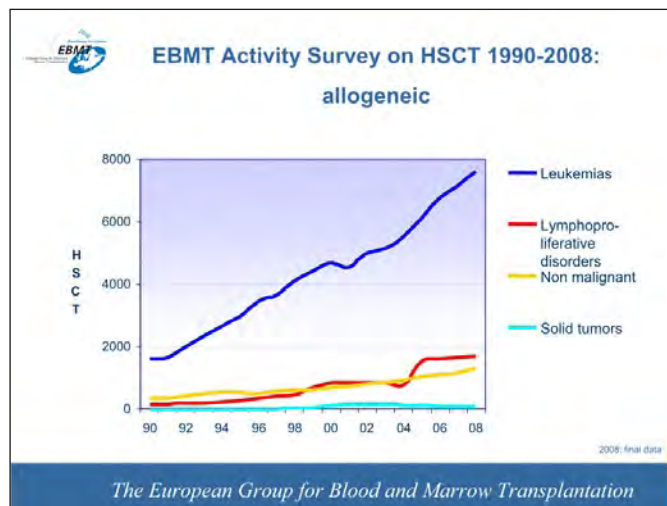
Alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica potencijalno je kurativna metoda u liječenju mnogih zloćudnih tumora krvotvornih organa kao i bolesnika s teškom aplazijom koštane srži te nekih nasljednih bolesti krvotvornog sustava i metaboličkih bolesti (Slika 1, Slika 2). Zloćudne bolesti krvotvornog sustava, na prvom mjestu akutne leukemije, glavne su indikacije za liječenje alogeničnom transplantacijom.

Slika 1. Dijagnoze bolesnika liječenih alogeničnom transplantacijom u KBC Zagreb 1983-2010.



ALL (akutna limfoblastična leukemija); AML (akutna mijeloična leukemija); AL (akutna leukemija nediferencirana); CML (kronična mijeloična leukemija); CLL (kronična limfatična leukemija); MDS/MPS (sindrom mijelodisplazije/kronična mijeloproliferativna neoplazma); MH (Hodgkinov limfom); NHL (Non Hodgkinov limfom); MM (multipli mijelom); AA (Aplastična anemija)

Slika 2. Podaci Europske grupe za liječenje alogeničnom transplantacijom 1990. – 2008.



Na sastanku KROHEM-a u Tuheljskim Toplicama definirano je mjesto i uloga alogenične transplantacije u liječenju akutne mijeloične leukemije u sklopu KROHEM-ove AML 1 opservacijske studije. Neki od kriterija dogovorenih u ovoj studiji su univerzalni kao što su opći uvjeti koje bolesnik treba ispunjavati, karakteristike darivatelja transplantata, izvora i kvalitete transplantata te principi pripreme za transplantaciju.

Bolesnici, kandidati za liječenje alogeničnom transplantacijom matičnih krvotvornih stanica moraju zadovoljavati opće kriterije: Karnofsky indeks $\geq 70\%$; ECOG 0-2; vrijednost transaminaza koje nisu veće od 3 x gornje granice referentnih vrijednosti, vrijednosti kreatinina $< 120 \mu\text{mol/L}$; klirens kreatinina $> 60 \text{ ml/min}$; ejskijska frakcija srca $> 60\%$, te ne smiju imati nekontrolirane infekcije.

Dob bolesnika određuje intenzitet pripreme za alogeničnu transplantaciju:

- bolesnici do 45 godina starosti – standardni način pripreme;
- bolesnici do 60 godina starosti – priprema smanjenog intenziteta;
- bolesnici stariji od 60 godina (Karnofsky $> 90\%$, bez znakova oštećenja drugih organskih sustava) liječe se alogeničnom transplantacijom ako je to jedina djelotvorna terapija.

Pridružene bolesti značajno smanjuju dvogodišnje preživljenje s 59% za bolesnike niskog na 17% za bolesnike visokog skora transplantacijskog indeksa komorbiditeta koji su time kandidati za pripremu smanjenog intenziteta bez obzira na kalendarsku dob.

Darivatelji transplantata mogu biti:

- srodni genotipski podudarni davatelj (HLA podudarnost 6/6);
- srodni fenotipski podudarni davatelj (roditelji);
- srodni davatelj s razlikom u jednom HLA lokusu (HLA podudarnost 5/6, odnosno 9/10 visokom rezolucijom);
- nesrodni podudarni davatelj HLA tipizacijom visoke rezolucije podudaran: 10/10, 9/10 i iznimno 8/10;
- umbilikalne krvi HLA podudarnosti 6/6, odnosno 5/6;
- iznimno haploidentični srodni davatelj.

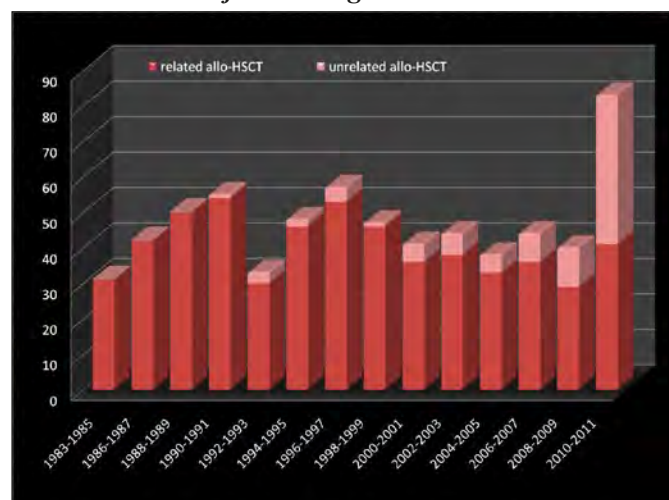
Broj bolesnika liječenih alogenom transplantacijom u stalnom je porastu, što je posljedica sve većeg broja transplantacija od HLA podudarnog nesrodnog darivatelja, transplantacija matičnih stanica krvi pupkovine pa i haploidentičnih transplantacija (Slika 3).

Idealan darivatelj je srodni darivatelj HLA podudarnosti 6/6, odnosno nesrodni darivatelj HLA podudarnosti 10/10 visokom rezolucijom.

HLA nepodudarnost na jednom ili više HLA lokusa povećava toksičnost transplantacije te je prihvatljiva u bolesnika s visoko rizičnom bolesti gdje rizik same bolesti nadmašuje povećani rizik transplantacije.

Transplantacija od haploidentičnog darivatelja primjenjuje se kod bolesti visokog rizika kod kojih nije moguće naći idealnog darivatelja u prihvatljivom vremenskom roku. Protokoli koji koriste ciklofosfamid kao imunosupresiju u ranom posttransplantacijskom razdoblju pokazali su se učinkoviti u prevenciji akutnog i kroničnog oblika reakcije transplantata protiv primaoca (GvHD, engl. Graft versus Host Disease), a prihvatanje transplantata postiže se u > 80% slučajeva.

Slika 3. Darivatelji KBC Zagreb 1983. - 2010.



Related alo HSCT (transplantacija od srodnog darivatelja);
Unrelated alo HSCT (transplantacija od nesrodnog darivatelja)

Priprema za transplantaciju

Budući se učinak alogenične transplantacije temelji ne samo na citotoksičnom učinku kemo i/ili radioterapije, već i na imunosnom odgovoru transplantata protiv tumora - GvL (engl. graft versus leukemia effect), u pripremi za transplantaciju koriste se sve više protokoli smanjenog intenziteta kondicioniranja. Cilj im je smanjiti neposrednu toksičnost čime se omogućuje liječenje alogeničnom transplan-

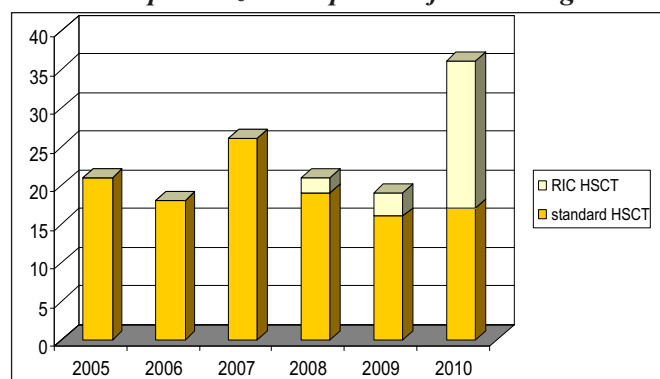
tacijom bolesnika starije životne dobi i bolesnika s bolestima drugih organskih sustava. Postoje različite sheme pripreme za transplantaciju koje koriste i različite lijekove, a većina ih se oslanja na fludarabin u kombinaciji s busulfanom, ciklofosfamidom, mel-falanom ili ozračenjem cijelog tijela u dozi 200 cGy (Tablica 1).

Bez obzira na tip nemijelobalativne pripreme relapsi ostaju veliki problem kao i akutni i kronični oblik GvHD-a. Odluka o načinu pripreme za transplantaciju ovisi o karakteristikama samog bolesnika (dob, opće stanje, pridružene bolesti), a rjeđe i o tipu bolesti koja se liječi alogeničnom transplantacijom.

Tablica 1. Priprema za transplantaciju.

Mijeloablativno kondicioniranje
Busulfan 0,8 mg/kg tt i.v. (16 doza) + Ciklofosfamid 60 mg/kg tt (2 doze)
Ciklofosfamid 60mg / kg tt 8 2 doze) + TBI 12 Gy u tri frakcije
Kondicioniranje reduciranog intenziteta
Fludarabin 30 mg/m ² na x 5 dana + busulfan i.v. 3,2 mg/kg tt na dan tijekom dva dana + antimocitni globulin (ATG)
Nemijeloablativno kondicioniranje /mini alo
Ozračenje cijelog tijela u ukupnoj dozi <2 Gy +/- Fludarabin
Fludarabin + Ciklofosfamid +/- ATG
Ozračenje limfnih čvorova (Total nodal irradiation, TNI) + ATG

Slika 4. Priprema za transplantaciju KBC Zagreb.



RIC HSCT (reduced iIntensity conditionin HSCT, kondicioniranje smanjenog intenziteta);
standard HSCT (standardno mijeloablativno kondicioniranje), broj bolesnika

Izvor transplantata

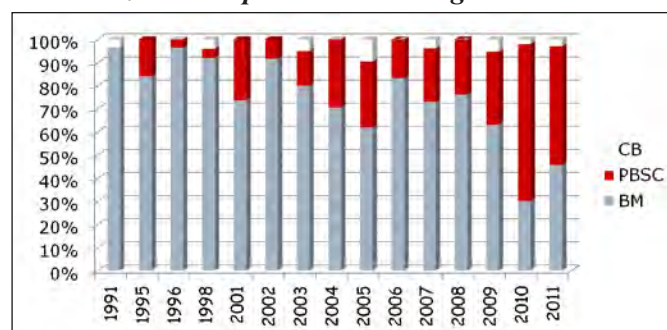
Izvor matičnih krvotvornih stanica mogu biti koštana srž, periferna krv nakon stimulacije darivatelja filgastrimom te krv pupkovine. Karakteristike pojedinih transplantata prikazuje Tablica 2.

Tablica 2. Izvor transplantata.

Izvor stanica		Potreban broj
Koštana srž	Ograničen broj stanica	stanica s jezgrom $>2 \times 10^8/\text{kg tt}$
Periferna krv	Stimulacija darivatelja G-CSF 10 mcg/kg tt	$>2,0 \times 10^6 \text{ CD34} + \text{st/kg tt}$
		$>5,0 \times 10^6 \text{ CD34} + \text{st/kg tt}$ u RIS
Umbilikalna krv	Prikupljnje lako transplantat brzo dostupan, mali broj stanica u dozi	HLA 6/6 $\geq 3,0 \times 10^7/\text{kg TNC}$ HLA 5/6 $\geq 4,0 \times 10^7/\text{kg TNC}$

Izbor između koštane srži i periferne krvi kao izvora transplantata ovisi o želji darivatelja i preferencijama određenog transplantacijskog centra. Osim u slučaju aplastične anemije gdje se bolji rezultati postižu transplantacijom koštane srži, nije se pokazala razlika u preživljenju bolesnika transplantiranih matičnim stanicama koštane srži ili periferne krvi. Uz transplantaciju periferne krvi hematološki oporavak je brži, relapsi bolesti su rjeđi, ali je učestalost kroničnog GvHD-a veća i u uvjetima obiteljske (srodne) i nesrodne transplantacije.

Izraziti porast udjela transplantacija u KBC Zagreb može se barem djelomično objasniti povećanim brojem transplantacija reduciranog intenziteta kondicioniranja.

Slika 5. Izvor transplantata KBC Zagreb 1991. – 2011.

CB (Cord Blood, umbilikalna krv); PBSC (Peripheral Blood Stem Cells, matične stanice periferne krvi); BM (Bone Marrow, koštana srž)

Na posljednjem sastanku KROHEM-a u svibnju 2012. radna skupina za alogeničnu transplantaciju definirala je neke od svojih zadataka u izradi smjernica:

- indikacije za alogeničnu transplantaciju s obzirom na tip i stadij bolesti;
- HLA tipizacija i izbor darivatelja transplantata;

- pretraživanje Međunarodnog registra nesrodnih darivatelja;
- priprema za transplantaciju;
- prevencija, dijagnoza i liječenje akutnog GvHD-a;
- prevencija, dijagnoza i liječenje kroničnog GvHD-a;
- praćenje kimerizma periferne krvi nakon transplantacije;
- prevencija i liječenje relapsa nakon alogenične transplantacije.

Literatura:

1. Baldomero H, Gratwohl M, Gratwohl A et al. The EBMT activity survey 2009: trends over the past 5 years. Bone Marrow Transplant. 2011 Apr;46(4):485-501.
2. Sorror ML, Maris MB, Storb R et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)_ specific comorbidity index : a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. Blood 106:2912-2919;2005.
3. Apperley J, Carreras E, Gluckman E, Masszi T . Hematopoietic Stem Cell Transplantation, The EBMT Handbook 2012.
4. Anasetti C, Logan BR, Lee SJ et al. Peripheral-Blood Stem Cell versus Bone Marrow from Unrelated Donors. N Engl J Med, 2012;367:1487-1496.
5. Blaise D, Farnault L, Faucher C et al. Reduced- intensity conditioning with Fludarabin, oral busulfan and thymoglobulin allows long term disease control and low transplant mortality in patients with hematologic malignancies. Exp. Hematol. 2010; 38:1241-50.
6. Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, et al. Reduced Mortality after Allogeneic Hematopoietic –Cell Transplantation. N.Engl J Med 363 (22):2091-2101, 2010.
7. Bacigalupo A, Ballen K, Rizzo D, et al. Defining the definition of conditioning regimens – working definition. Biol Blood Marrow Transplant. 2009 Dec;15(12):1628-33.
8. Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. Biol Blood Marrow Transplant. 2008 Jun;14(6):641-50.
9. Fuchs EJ, Huang XJ, Miller JS. HLA-haploidentical stem cell transplantation for hematologic malignancies. Biol Blood Marrow Transplant. 2010 Jan;16(1 Suppl):S57-63.

Postupak pronalaženja nesrodnog darivatelja krvotvornih matičnih stanica

**Dr. sc. Mirta Mikulić, dr. med.¹,
Prof. dr. sc. Zorana Grubić²**

¹ *Registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica KBC Zagreb*
E-pošta: mmikulic@kbc-zagreb.hr

² *Klinička jedinica za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb*
E-pošta: zgrubic@kbc-zagreb.hr

Kako tek jedna trećina bolesnika kod koje postoji potreba za liječenjem alogeničnom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (TKMS) ima genotipski ili fenotipski HLA identičnog darivatelja u obitelji, nesrodni fenotipski HLA identični darivatelji pružaju mogućnost za liječenje transplantacijom velikom dijelu bolesnika. Kao i u slučaju transplantacije od srodnog darivatelja, porijeklo transplantata krvotvornih matičnih stanica (KMS) može biti iz koštane srži, periferne krvi ili krv iz pupkovine, a darivatelj i primatelj moraju biti podudarni u genima Glavnog sustava tkivne podudarnosti (HLA). Sadašnji standardi liječenja alogeničnom transplantacijom KMS u našem centru od odraslog nesrodnog darivatelja zahtijevaju podudarnost 10/10 ili 9/10 u genima HLA (HLA-A, -B, -C, -DRB1 i -DQB1) i to na visokoj rezoluciji. Za krv iz pupkovine neophodna podudarnosti je 6/6 ili 5/6 za gene lokusa HLA-A, -B i -DRB1.

Cilj ovog prikaza je opisati postupak pronalaženja nesrodnog darivatelja, čime se bavi Registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica (RDDKMS) Kliničkog bolničkog centra Zagreb. RDDKMS nacionalni je hrvatski registar za liječenje alogeničnom transplantacijom od nesrodnih darivatelja, a čiji su temeljni zadaci organizacija i provođenje poslova vezanih uz pretraživanje i pronalaženje podobnog nesrodnog darivatelja, kako među darivateljima upisanim u naš nacionalni registar tako i u međunarodnim Registrima dobrovoljnih darivatelja KMS-a. U ovom času RDDKMS broji preko 30.000 od koji je 25.408 tipiziranih darivatelja tipizirano za gene lokusa HLA-A, -B, i -DRB1 (niska rezolucija). Osim podataka o odraslim nesrodnim darivateljima, RDDKMS sadrži podatke i o Banci krvi iz pupkovine Ana Rukavina koja u ovom trenutku broji 1.970 doza krvi iz pupkovine pohranjenih i tipiziranih za gene lokusa HLA-A, -B i -DRB1.

Zajedno s drugih 65 nacionalnih Registrara iz 47 zemalja RDDKMS je dio Svjetskog registra dobrovoljnih darivatelja koštane srži – *Bone Marrow Donors Worldwide* (BMDW), koji objedinjuje informacije o 20.547.529 odraslih darivatelja i doza krvi iz pupkovine.

Kako se metoda alogenične TKMS od nesrodnog darivatelja provodi u KBC Zagreb, u svom svakodnevnom radu RDDKMS usko surađuje s transplantacijskim centrom i Timom za liječenje transplantacijom krvotvornih matičnih stanica KBC Zagreb (dalje transplantacijski tim), te Kliničkim jedinicama za tipizaciju tkiva, Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC Zagreb u postupcima tipizacije HLA, prikupljanja transplata KMS-a periferne krvi te s Bankom krvi iz pupkovine Ana Rukavina.

Pretraživanje BMDW-a započinje nakon što je učinjena tipizacija HLA bolesnika i njegove obitelji te je ustanovljeno da unutar obitelji bolesnika nema HLA identičnog darivatelja, a na transplantacijskom timu KBC Zagreb procijenjeno je da bolesnik ima indikaciju za liječenje transplantacijom alogenične koštane srži od nesrodnog darivatelja. Transplantacijski tim sastoji se od stručnjaka različitih profila uključenih u skrb bolesnika koji se liječe alogeničnom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica – hematologa, pedijataru, transfuziologa, imunogenetičara, medicinskih biokemičara, infektologa, pulmologa itd., a sastaje se jednom tjedno.

Algoritam postupka pretraživanja registra i pronalaženja odgovarajućeg nesrodnog darivatelja prikazan je na slici (Slika 1), a u tekstu su izdvojeni najvažniji koraci:

1. Transplantacijski tim KBC Zagreb postavlja indikaciju za liječenje TKMS od fenotipski HLA podudarnog nesrodnog darivatelja te daje uputu RDDKMS o započinjanju postupka pretraživanja.

Pri tome, za bolesnika kod kojeg je već učinjena obiteljska HLA tipizacija potrebno je poslati još jedan uzorak krvi za potvrdnu HLA tipizaciju u Kliničke jedinice za tipizaciju tkiva. Za one bolesnike koji nisu bili na tipizaciji HLA s obitelji neophodno je poslati dva odvojena uzorka krvi.

Nakon završene tipizacije, RDDKMS uz pomoć Kliničkih jedinica za tipizaciju tkiva započinje pre-

traživanje BMDW-a. Pretraživanjem BMDW-a moguće je identificirati potencijalnog/e darivatelja/e u nekom od inozemnih registara uključenih u rad RDDKMS-a.

2. U slučaju da je pronađen potencijalni darivatelj u RDDKMS-u, dogovara se dodatna tipizacija (geni lokusa HLA-C) iz postojećeg uzorka te potvrđna HLA tipizacija potencijalnog darivatelja iz novog uzorka krvi. U dogovoru s transplantacijskim timom procjenjuje se postoji li primjerena podudarnost u genima HLA. Ovisno o fazi liječenja bolesnika, liječnici transplantacijskog centra predlažu termine prikupljanja transplantata, prema kojima RDDKMS dogovara točan datum s darivateljem. Isto tako, liječnici transplantacijskog centra predlažu tip transplantata (koštana srž vs. periferna krv), a darivatelj se odlučuje prema njihovim sugestijama, ali i vlastitim preferencama.

Kada je ustanovljen datum prikupljanja transplantata koji odgovara i bolesniku i darivatelju, dogovara se i termin medicinske obrade darivatelja, otprilike mjesec dana prije same transplantacije. Medicinska obrada darivatelja važna je zbog procjene njegove sposobnosti da prođe kroz postupak darivanja bez komplikacija, a istovremeno se testiraju i biljezi zaraznih bolesti kako ne bi došlo do prijenosa na bolesnika. Kontraindikacije za darivanje uključuju psihičke bolesti, endokrine poremećaje, bolesti kardiovaskularnog sustava, autoimune, neke neurološke bolesti, te maligne tumore i prethodne transplantacije tkiva ili organa, a testiranjem na zarazne bolesti obuhvaćeni su HBV, HCV, CMV, EBV, HIV, sifilis, HTLV i toksoplazma. Po završetku obrade RDDKMS izdaje *klirens*, tj. potvrdu o dobrom medicinskom stanju darivatelja što je uvjet za započinjanje kemoterapije kondicioniranja bolesnika.

U slučaju da je predviđeno prikupljanje KMS periferne krvi, darivatelj 4 dana ranije započinje s primjenom granulocitnog faktora rasta, a u svakom slučaju zaprima se u bolnicu dan prije prikupljanja. Prikupljanje transplantata aferezama traje jedan ili dva dana, a darivatelj se kao i nakon prikupljanja transplantata koštane srži otpušta kući dan po završetku prikupljanja.

Transplantat se infundira bolesniku svjež, odnosno bez zamrzavanja, a uz moguću prethodnu obradu (odvajanje plazme ili eritrocita).

3. U slučaju da nije pronađen darivatelj u RDDKMS-u, nastavlja se pretraživanje BMDW-a. Nadležni hematolog ili pedijatar ispunjava obrazac HZZO-a „Zahtjev i prijedlog za upućivanje na liječenje u inozemstvu“ koji se ovjerava na transplantacijskom timu i potom ga bolesnik potpisuje te ga on ili članovi njegove obitelji predaju u HZZO. Na temelju zahtjeva HZZO izdaje rješenje koje vrijedi 60 dana i bolesnik ga mora redovito produžavati.

Na temelju rezultata preliminarne pretraživanja Svjetskog registra, šalje se preliminarni upit u nacionalni/e registar/e gdje postoje potencijalni darivatelji za detaljnije podatke o tim darivateljima. Kada iz tih registara stignu odgovori, potraga se sada fokusira na najpodudarnije darivatelje. Za sljedeći korak potrebno je da HZZO izda jamčevno pismo o pokrivanju troškova za nabavku i dopremu transplantata iz pojedinih zemalja što se ostvaruje komunikacijom između HZZO-a i RDDKMS-a. Po izdavanju jamčevnog pisma RDDKMS upućuje zahtjev za uzorak krvi za potvrđnu tipizaciju HLA, odnosno dodatnu tipizaciju ako darivatelja nije testiran za svih potrebnih 6 lokusa HLA, u odgovarajući registar. Uzorak se potom tipizira u Kliničkim jedinicama za tipizaciju tkiva. O nalazu podudarnosti HLA izvještava se transplantacijski tim koji odlučuje je li podudarnost zadovoljavajuća. U slučaju da nije, postupak se ponavlja sa sljedećim potencijalnim darivateljem s popisa. Ako je procijenjeno da je podudarnost HLA odgovarajuća, liječnici transplantacijskog centra popunjavaju obrasce za narudžbu transplantata koji se upućuju u odgovarajući registar. Inozemni registar odabire neki od predloženih datuma i način prikupljanja transplantata, te organizira i provodi medicinsku obradu darivatelja o kojoj izvještava u *klirensu* koji mora biti izdan prije započinjanja kemoterapije kondicioniranja bolesnika. Transplantat KMS transplantacijskom centru dostavlja kurir. Kurir mora biti osoba educirana o značaju transplantata KMS-a i načinu transporta, a to su najčešće mlađi liječnici.

Put i boravak kurira u centru gdje se prikuplja transplantat organizira RDDKMS, kao i izdavanje uvozne dozvole Ministarstva zdravlja. Transplantat KMS-a primjenjuje se svjež uz eventualnu prethodnu obradu.

4. U slučaju da se transplantacijski tim odluči za transplantat umbilikalne krvi te se u BMDW-u nađe moguća odgovarajuća doza krvi iz pupkovine,

postupak je nešto jednostavniji. Od banke krvi iz pupkovine dobije se izvještaj o dozi koji uključuje tipizaciju HLA i procjenu broja matičnih stanica, te ako transplantacijski tim odluči da podudarnost i broj stanica odgovaraju, potrebno je učiniti potvrđnu tipizaciju HLA te doze. Ako se doza krvi iz pupkovine našla u nekoj od inozemnih banaka, a ne u domaćoj, po završenoj tipizaciji organizira se dostava smrznutog transplantata krvi iz pupkovine kurirskom službom.

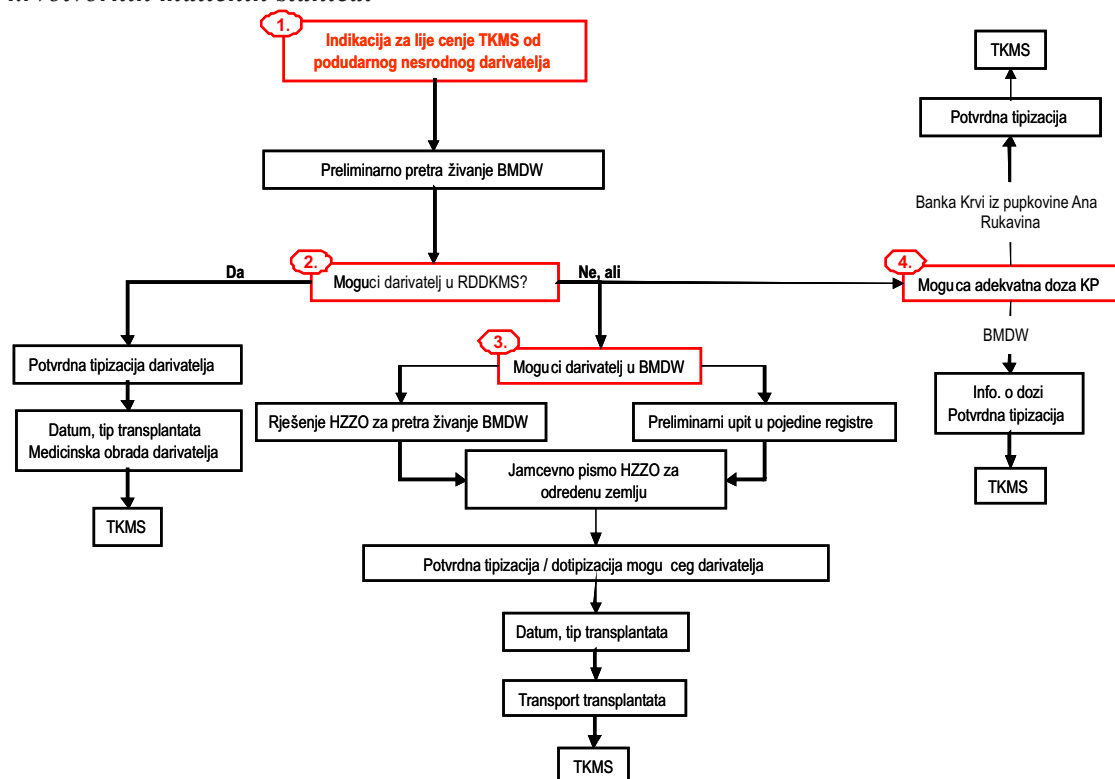
Za svakodnevnu praksu potrebno je znati:

- Indikaciju za liječenje alogeničnom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica od nesrodnog HLA podudarnog darivatelja postavlja Tim za liječenje transplantacijom krvotvornih matičnih stanica KBC Zagreb, na prijedlog nadležnog hematologa ili pedijatra.
- Pretraživanje Svjetskog registra dobrovoljnih darivatelja koštane srži (BMDW) u nadležnosti je Registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica (RDDKMS) i Kliničkih jedinica za tipizaciju tkiva KBC-a Zagreb, dok je izbor darivatelja u nadležnosti transplantacijskog tima.
- U slučaju da potencijalni darivatelj nije pronađen u domaćem, već u nekom od inozemnih

registara, nadležni liječnik ispunjava obrazac HZZO-a „Zahtjev i prijedlog za upućivanje na liječenje u inozemstvu“ koji se ovjerava na transplantacijskom timu, a bolesnik ga osobno predaje u Direkciju HZZO-a u Zagrebu. Bolesnik mora svakih 60 dana tražiti produženje rješenja HZZO-a.

- Medicinska obrada darivatelja iz domaćeg registra te prikupljanje transplantata KMS-a u nadležnosti je RDDKMS-a i Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju KBC-a Zagreb. Datum prikupljanja i tip transplantata određuju se prema prijedlogu transplantacijskog centra, ali i prema mogućnostima dobrovoljnog darivatelja.
- Za bolesnike čiji je dobrovoljni darovatelj pronađen u nekom od inozemnih registara, RDDKMS rješava administraciju oko jamčevnog pisma HZZO-a za pokrivanje troškova inozemnog registra, te u dogovoru s transplantacijskim centrom obavlja komunikaciju s inozemnim registrom u vezi datuma prikupljanja i tipa transplantata KMS-a. RDDKMS također organizira dopremu transplantata iz inozemstva do transplantacijskog centra.

Slika 1. Algoritam postupka pronalaženja nesrodnog HLA podudarnog darivatelja krvotvornih matičnih stanica.



TKMS – Transplantacija krvotvornih matičnih stanica; BMDW – Bone Marrow Donors Worldwide (Svjetski registar dobrovoljnih darivatelja koštane srži); RDDKMS – Registar dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica; KP – krv iz pupkovine

Tipizacija HLA u procjeni kompatibilnog darivatelja

Prof. dr. sc. Zorana Grubić

Klinička jedinica za tipizaciju tkiva

Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju

KBC Zagreb, Zagreb

E-pošta: zgrubic@kbc-zagreb.hr

Razlika u genima Glavnog sustava tkivne podudarnosti (engl. Human Leukocyte Antigen, HLA) između primatelja i darivatelja krvotvornih matičnih stanica (KMS) aktivira T-stanice i NK-stanice što dovodi do reakcije transplantata protiv primatelja (engl. Graft versus Host Disease, GvHD), uništavanja leukemijskih stanica (engl. Graft versus Leukemia) kao i odbacivanja transplantata. Sama transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) od fenotipski HLA identičnog nesrodnog darivatelja metoda je izbora za mnoge bolesnike koji nemaju genotipski HLA identičnog darivatelja u obitelji. Naime, unutar obitelji približno 30% bolesnika ima genotipski HLA identičnog darivatelja, mali broj bolesnika ima fenotipski HLA identičnog jednog od roditelja, a za veliku većinu bolesnika preostaje traženje dobrovoljnog nesrodnog fenotipski HLA identičnog darivatelja.

Postupak pronalaženja nesrodnog fenotipski HLA identičnog darivatelja provodi se ili kroz nacionalni registar dobrovoljnih darivatelja pojedine zemlje (ako takav postoji), odnosno kroz Svjetski registar nesrodnih dobrovoljnih darivatelja (engl. Bone Marrow Donors Worldwide, BMDW). Svjetski registar obuhvaća podatke o HLA tipiziranim darivateljima i jedinicama umbilikalne krvi u svim nacionalnim registrima, odnosno bankama uključenim u njegov rad. U ovom trenutku BMDW obuhvaća 66 nacionalnih registara i 46 banki umbilikalnih krvi s preko dvadeset milijuna darivatelja (19.883.967 darivatelja i 542.957 jedinica umbilikalnih krvi) (1).

Opće je prihvaćeno da je, uz dijagnozu, stadij bolesti, životnu dob bolesnika te postupak pripreme bolesnika prije TKMS, podudarnost u genima HLA ključan čimbenik za uspješan ishod TKMS. U programu nesrodne TKMS postoji nekoliko protokola, ovisno o broju podudarnosti HLA para primatelj-darivatelj: 6/6 (HLA-A, -B, -C), 8/8 (HLA-A, -B, -C, -DRB1), 10/10 (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1) te 12/12 (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1). Najveći broj centara u svijetu, uključujući i hrvatski transplantacijski centar u KBC Zagreb, pri odabiru idealnog nesrodnog darivatelja, traži podudarnost

primatelja i nesrodnog darivatelja 10/10.

Poznato je da je sustav HLA najpolimorfiji genetski sustav kod čovjeka s preko 8.000 različitih do danas otkrivenih alela (Tablica 1).

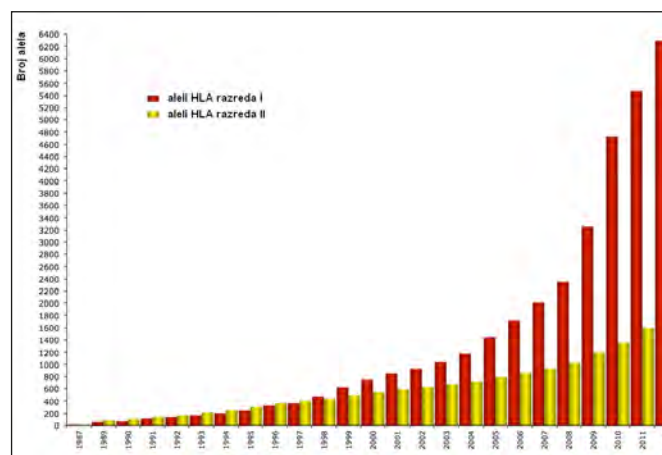
Tablica 1. Raznovrsnost gena HLA.

HLA razred I										
Gen	A	B	C	E	F	G				
Aleli	2.031	2.028	1.353	11	22	50				
Proteini	1.685	1.363	1.119	3	4	16				
Nul aleli	31	33	47	0	0	2				
HLA razred II										
Gen	DRA	DRB	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1	DMA	DMB	DOA	DOB
Aleli	7	1.260	47	131	34	155	7	13	12	13
Proteini	2	901	29	120	17	134	4	7	3	5
Nul aleli	0	25	1	3	0	3	0	0	1	0
HLA razred II - aleli DRB										
Gen	DRB1	DRB2	DRB3	DRB4	DRB5	DRB6	DRB7	DRB8	DRB9	
Aleli	1.191	1	58	15	20	3	2	1	1	
Proteini	891	0	46	8	17	0	0	0	0	
Nul aleli	36	0	1	3	2	0	0	0	0	

*preuzeto iz IMGT/HLA Database 3.9 (2012-07), <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>

Ta brojka nije konačna jer se uvođenjem molekularnih metoda određivanja gena HLA, svake godine otkrivaju novi, i novi aleli HLA (Slika 1).

Slika 1. Otkriće novih alela HLA.



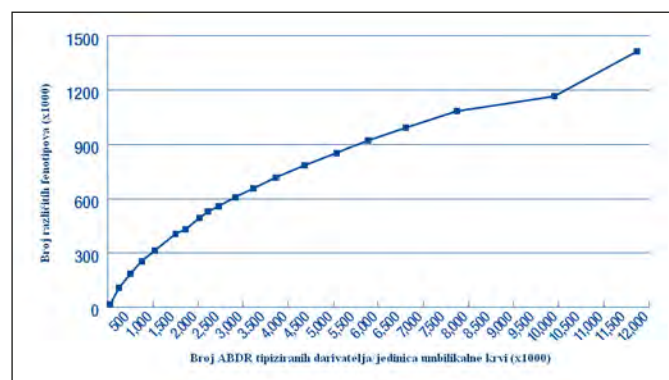
*preuzeto iz IMGT/HLA Database 3.9 (2012-07), <http://hla.alleles.org/>

Najpolimorfiji lokus sustava HLA je lokus HLA-B. S obzirom na broj do sada poznatih alela HLA na lokusima HLA-A, -B, -C moguće je složiti više od 6×10^9 različitih kombinacija tih alela, odnosno fenotipova HLA, a uključimo li još i alele lokusa HLA-DRB1 i -DQB1 onda je broj različitih fenotipova HLA veći od 10×10^{13} . Međutim, broj različitih fenotipova HLA je znatno manji zbog nepravilne raspodjele alela HLA u populaciji, odnosno u svijetu, neravnoteže udruživanja (engl. linkage disequilibrium, LD) alela HLA u haplotipove HLA kao i činjenice da veliki broj alela HLA spada u rijetke ili vrlo rijetke. Naime, aleli HLA, s obzirom na njihovu zastupljenost, u svijetu se dijele na:

- a) vrlo česte - učestalost $>5,0\%$ - zastupljeni u cijelom u svijetu (npr. A*02:01)
- b) česte - učestalost $1,0-5,0\%$ - zastupljeni u velikom broju populacija (npr. A*25:01)
- c) rijetke - učestalost $0,1-1,0\%$ - zastupljeni u manjem broju populacija (npr. B*27:14)
- d) vrlo rijetke - učestalost $<0,1\%$ - zastupljeni u nekoliko populacija (npr. B*14:11).

Zbog velikog polimorfizma gena HLA vjerojatnost da su dvije osobe, koje nisu u srodstvu, identične HLA vrlo je mala i stoga je neophodan veliki broj nesrodnih dobrovoljnih darivatelja, kako bi vjerojatnost pronalaženja identičnog darivatelja bila što veća. Vjerojatnost pronalaženja nesrodnog darivatelja 10/10 u prvom redu ovisi o alelima HLA koje ima primatelj jer povećanje broja darivatelja u nacionalnom registru, odnosno u BMDW-u ne znači da će svaki bolesnik lako naći podudarnog darivatelja.

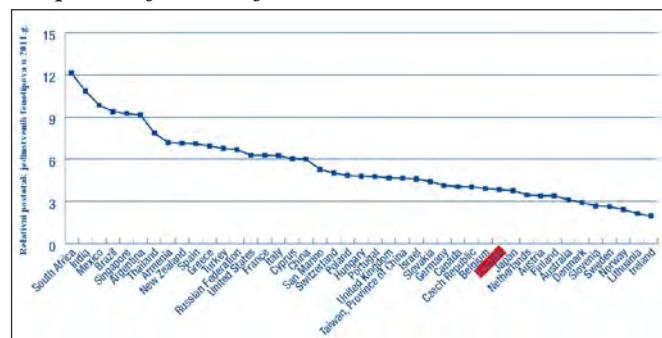
Slika 2. Odnos broja HLA-A, -B, -DR tipiziranih darivatelja i broja različitih fenotipova HLA u BMDW-u.



* preuzeto iz Bone Marrow Donors Worldwide - Annual Report 2011

Iz Slike 2 vidimo da povećanje broja nesrodnih darivatelja i jedinica umbilikalne krvi u BMDW-u dovodi do neproporcionalnog rasta broja novih fenotipova HLA, a porast broja novih fenotipova HLA tijekom 2011. godine je rezultat pridruženja brazilskog nacionalnog registra radu BMDW-a s preko 2.000.000 novih darivatelja. Iz tog se vidi koliko je nužno da svaka zemlja ima i svoj nacionalni registar jer svaka pojedina populacija ima i svoje specifičnosti s obzirom na učestalost pojedinih alela i haplotipova HLA (Slika 3).

Slika 3. Prikaz jedinstvenih haplotipova HLA-A-B-DR po zemljama uključenim u rad BMDW-a.



* preuzeto iz Bone Marrow Donors Worldwide - Annual Report 2011

Na temelju dosadašnjih rezultata vjerojatnost pronalaženja fenotipski HLA identičnog nesrodnog darivatelja 10/10 može se podijeliti u 3 skupine:

- a) VELIKA $> 95\%$ - primatelj ima česte alele HLA i bar jedan uobičajeni haplotip HLA
- b) SREDNJA $\approx 50\%$ - primatelj ima bar jedan uobičajeni haplotip HLA
- c) MALA $< 5\%$ - primatelj ima rijetki alel/alele ili neuobičajenu kombinaciju alela u haplotipu, tj. nema uobičajeni LD između alela usko vezanih lokusa B-C ili DRB1-DQB1

Izbor nesrodnog darivatelja u programu TKMS ovisi o zadanim kriterijima podudaranja koje definira svaki transplantacijski centar, odnosno u našem slučaju transplantacijski tim KBC Zagreb. Propisanim smjernicama našeg transplantacijskog tima najmanji broj podudarnosti između primatelja i nesrodnog darivatelja je 8/10 i to samo u onim slučajevima kada je vjerojatnost pronalaženja 10/10 darivatelja izuzetno mala, odnosno nikakva. U protekle 3 godine u Hrvatskoj je za 100 bolesnika tražen nesrodni darivatelj, od toga je za njih 63 pronađen 10/10 nesrodni darivatelj, 31 bolesnik imao darivatelja 9/10, dok je za 6 bolesnika bio izabran darivatelj podudarnošću 8/10. Neki od tih bolesnika prikazani su u Tablici 2. Bolesnici za koje su izabrani darivatelji podudarnošću 8/10 imali su ili rijetke alele HLA ili neuobičajene haplotipove HLA te bi traženje darivatelja 10/10 bio gubitak vremena.

Na temelju svega iznijetog možemo zaključiti da je osim stadija bolesti primatelja, stupnja urgentnosti prilikom traženja nesrodnog podudarnog darivatelja neophodno uzeti u obzir i njegove alele HLA te na taj način izbjeći nepotreban gubitak vremena u traženju podudarnog darivatelja 10/10 u onim slučajevima kada je izbor darivatelja ograničen.

Tablica 2. Pretraživanje nacionalnog i svjetskog registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica za šest bolesnika.

BOLESNIK	ALELI HLA	CBMDR BROJ DARIVATELJA		BMDW BROJ DARIVATELJA		PODUDARNOST	KOMENTAR
		6/6 LR	10/10 HR	6/6 LR	10/10 HR		
1	A*01:01, *02:01 C*07:01 B*08:01, *18:01 DRB1*03:01, *11:04 DRB1*02:01, *03:01	38	15	7424	132	10/10	česti haplotipovi HLA s jakim LD
2	A*01:01, *02:01 C*07:01 B*08:01, *18:01 DRB1*03:01, *15:01 DQB1*02:01, *06:02	3	1	1713	21	10/10	jedan česti haplotip HLA s jakim LD i jedan haplotip s čestim alelima HLA, ali bez jakog LD-a
3	A*02:01, *03:01 C*02:02, *07:01 B*18:01, *44:02 DRB1*11:04, *15:01 DQB1*03:01, *05:02	0	0	384	0	9/10 MM na lokusu DQB1	neuobičajeni haplotip DRB1-DQB1
4	A*03:01, *32:01 C*04:01, *07:02 B*07:05, *35:03 DRB1*04:01, *16:01 DQB1*03:02, *05:02	2	0	58	0	9/10 MM na lokusu HLA-B HR	rijetki alel na lokusu HLA-B
5	A*03:01, *24:02 C*01:02, *16:02 B*13:02, *27:05 DRB1*07:01, *08:04 DQB1*02:02, *04:02	0	0	13	0	8/10 MM na lokusu HLA-C LR MM na lokusu HLA-DRB1 HR	rijetki alel na lokusu DRB1 i neuobičajeni haplotip B-C
6	A*23:01, *24:02 C*04:01, *07:01 B*35:02, *49:01 DRB1*04:15, *11:01 DQB1*03:01, *03:02	3	0	262	0	8/10 MM na lokusu HLA-B HR MM na lokusu HLA-DRB1 HR	rijetki alel DRB1 i ne česti alel na lokusu HLA-B

CBMDR-Croatian Bone Marrow Donor Registry, BMDW-Bone Marrow Donor Worldwide;
LD-linkage disequilibrium; MM-nepodudarnost; LR-niska rezolucija; HR-visoka rezolucija

Literatura:

- Nowak J. Role of HLA in hematopoietic SCT. Bone Marrow Transplan. 2009;42:S71-S76.
- Bone Marrow Donors Worldwide (<http://www.bmdw.org/>)
- Tiercy JM, Villard J, Roosnek E. Selection of unrelated bone marrow donors by serology, molecular typing and cellular assays. Transpl Immunol. 2002;10:215-21.
- Fischer G. Immunogenetic selection of donors for haematopoietic stem cell transplantation: an approach. Transpl Immunol. 2002;10:223-5.
- Lee SJ, Klein J, Haagenson M, Baxter-Lowe LA, i sur. High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. Blood 2007;110:4576-83.
- <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html>
- Middleton D, Menchaca L, Rood H, Komerofsky R. New allele frequency database: <http://www.allelefrequencies.net>. Tissue Antigens. 2003; 61:403-7.
- Tiercy JM, Nicoloso G, Passweg J, Schanz U, Seger R, Chalandon Y, Heim D, Güngör T, Schneider P, Schwabe R, Gratwohl A. The probability of identifying a 10/10 HLA allele-matched unrelated donor is highly predictable. Bone Marrow Transplant. 2007;40:515-22.
- Bone Marrow Donors Worldwide - Annual Report 2011.
- Baxter-Lowe LA, Maiers M, Spellman SR, i sur. HLA-A disparities illustrate challenges for ranking the impact of HLA mismatches on bone marrow transplant outcomes in the United States. Biol Blood Marrow Transplant. 2009;15:971-81.

Venske tromboembolije u pet bolnica Republike Hrvatske

Dražen Pulanić¹, Velka Gverić-Krečak², Zlatka Nemet-Lojan³, Božena Coha⁴, Hrvoje Holik⁴, Renata Babok-Flegarić⁵, Mili Komljenović⁶

¹ *Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb*

² *Odjel interne medicine, OB Šibenik*

³ *Internistički odjel, OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica, Koprivnica*

⁴ *Odjel za unutarnje bolesti, OB „Dr. Josip Benčević“, Slavonski Brod*

⁵ *OB Varaždin*

⁶ *OB „Hrvatski ponos“, Knin*

Adresa autora za kontaktiranje:

Doc. dr. sc. Dražen Pulanić, dr. med.

Odjel za hemostazu i trombozu, te benigne bolesti krvotvornog sustava

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 Trakošćanu u svibnju 2012. prikazani su podaci o praćenju venskih tromboembolija (VTE) u 2011. godini u pet bolnica iz četiri županije Republike Hrvatske (RH) u sklopu pokrenute KROHEM-ove studije praćenja incidencije VTE u RH.

Još jednom je potrebno naglasiti da su VTE među najvećim medicinskim i najznačajnijim javnozdravstvenim problemima današnjice. Riječ je o jako čestoj bolesti koja često recidivira s mogućim dugotrajnim posljedicama. Podaci vezani uz incidenciju i karakteristike VTE u RH uglavnom do sada nisu poznati, i KROHEM je tu prepoznao svoju ulogu kako bi se pokušali prikupiti podaci o inci-

denciji i karakteristikama ove važne bolesti u RH.

Podsjetimo, na sastanku KROHEM-a u Vodica- ma u studenom 2010. predložena je, raspravljena i usvojena KROHEM-ova akademska, 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 započela po predviđenom programu studije dr. Velka Gverić-Krečak u OB Šibenik.

Slika 1. Četiri županije Republike Hrvatske u kojima se provodi praćenje incidencije venskih tromboembolija.



Slika 2. Opća bolnica Šibenik.

Praćenju VTE u sklopu Krohemove studije aktivno su se priključili i dr. Zlatka Nemet-Lojan iz OB „Dr. Tomislav Bardek“ Koprivnica, dr. Božena Coha i dr. Hrvoje Holik iz OB „Dr. J. Benčević“ u Slavonskom Brodu, dr. Renata Babok-Flegarić iz OB Varaždin, te dr. Mili Komljenović iz OB „Hrvatski ponos“ Knin, tako da u studiji aktivno participira pet bolnica iz četiri županije Republike Hrvatske: Šibensko-kninske, Koprivničko-križevačke, Varaždinske i Brodsko-posavske županije (Slika 1).

Slika 3. Opća bolnica “Hrvatski ponos” Knin.**Slika 4. Opća bolnica “Dr. Tomislav Bardek” Koprivnica.****Slika 5. Opća bolnica “Dr. Josip Benčević” Slavonski Brod.****Slika 6. Opća bolnica Varaždin.**

Prikupljen je veliki broj bolesnika s vrlo zanimljivim podacima o karakteristikama i procijenjenoj incidenciji VTE u RH u 2011., što ćemo pokušati objaviti u indeksiranom časopisu. Veseli nas interes kolega za daljnje praćenje incidencije i karakteristika VTE u RH u 2012. godini, te se nadamo da će se praćenju VTE uključiti i kolege iz drugih centara u Hrvatskoj.

Kvaliteta života osoba s hemofilijom – deskriptivni prikaz pojedinih obilježja odraslih osoba s hemofilijom u Republici Hrvatskoj*

Doc. dr. sc. Marko Marinić

Institut društvenih znanosti Ivo Pilar, Zagreb

E-pošta: Marko.Marinic@pilar.hr

Što je “kvaliteta života”?

Promatrajući s aspekta učestalosti pojavljivanja u znanstvenoj i stručnoj literaturi, koncept “kvaliteta života” je svakako jedan od najprisutnijih. Dovoljno je u pretraživač neke od brojnih svjetskih baza podataka upisati “Quality of Life” (QoL) te će nam se ponuditi tisuće različitih članaka.

Makar se radilo o primarno psihološkom fenomenu, a onda i psihologijskom terminu, izraz “kvaliteta života” našao je svoju uporabu i u brojnim drugim znanostima, poput sociologije, politologije, filozofije, ekonomije, biomedicinskih znanosti itd. Jasno nam je, stoga, da je kvaliteta života jedna izrazito multidisciplinarna sintagma, no samim time ona je i jedan od najrazličitije shvaćenih i u različite svrhe korištenih termina. Velika su razmimoilaženja u shvaćanju njegova značenja te nas stoga ne iznenađuje činjenica da danas zapravo ne postoji jedna univerzalna, općeprihvaćena definicija.

Ipak, kako bi nam bilo jasnije čime se to u ovom tekstu bavimo, iz tog silnog mnoštva različitih definicija izdvojiti ćemo jednu koja možda ponajbolje objašnjava sam fenomen, a prema kojoj je kvaliteta

života **subjektivno doživljavanje** vlastitog života određeno **objektivnim okolnostima** u kojima osoba živi, **karakteristikama ličnosti** koje utječu na doživljavanje realnosti i **specifičnim životnim iskustvom** te osobe (1).

Istraživanja kvalitete života

S ciljem dobivanja konkretnih pokazatelja spomenutog subjektivnog doživljavanja vlastitoga života, provode se znanstvena empirijska istraživanja kvalitete života. Danas postoje različiti standardizirani instrumenti/upitnici koji se pri takvim istraživanjima koriste, a oni mogu biti primijenjeni kako na općoj populaciji nekog društva, tako i na različitim specifičnim dijelovima društva - uključujući i nama ovdje zanimljivu populaciju osoba s hemofilijom.

Prva sveobuhvatnija istraživanja kvalitete života osoba s hemofilijom javljaju se u devedesetim godinama prošlog stoljeća te se od tada razvilo nekoliko različitih pristupa i različitih instrumenata njezina utvrđivanja. Osim temeljnih, generičkih, univerzalnih upitnika namijenjenih općenitom istraživanju kvalitete života vezane uz zdravlje (Health-related quality of life – HRQOL), danas se za ovu svrhu ipak najčešće koriste vrlo specijalizirani instrumenti konstruirani upravo za osobe s hemofilijom. Neki od tih instrumenata prikazani su u Tablici 1 i Tablici 2 (2).

Tablica 1. Specijalizirani upitnici namijenjeni istraživanju kvalitete života djece s hemofilijom.

Acronym	Name	Reference	Country
Hem Dux	Quality of life questionnaire for children with hemophilia	Robben <i>et al.</i> [37]	Netherlands
QUAL-HEMO	Haemophilia age-group specific quality of life questionnaire	Trudeau <i>et al.</i> [38]	France
HAEMO-QOL	Haemophilia Quality of Life Questionnaire (3 age versions)	v. Mackensen <i>et al.</i> [39]	Europe
CHO-KLAT	Canadian Haemophilia Outcomes-Kids' Life Assessment Tool	Young <i>et al.</i> [40]	Canada
na	Quality of Life for Young Patients	Manco Johnson <i>et al.</i> [41]	USA
HAEMO-QOL Index	Haemophilia Quality of Life Questionnaire Index (1 age version)	Pollak <i>et al.</i> [42]	Europe

Tablica 2. Specijalizirani upitnici namijenjeni istraživanju kvalitete života odraslih s hemofilijom.

Acronym	Name	Reference	Country
Medtap	n.a.	Flood <i>et al.</i> [43]	USA
QUAL-HEMO	Quality of life questionnaire in hemophilia	Trudeau <i>et al.</i> [38]	France
Hemofilia-QoL	Disease-specific quality-of-life questionnaire to adults living with haemophilia	Arranz <i>et al.</i> [44]	Spain
Hemolatin-QoL	Disease-specific quality-of-life questionnaire to adults living with haemophilia	Remor <i>et al.</i> [45]	South America
Haem-A-QoL	Haemophilia QoL questionnaire for adults	v. Mackensen <i>et al.</i> [46]	Italy

Korištenjem ovih instrumenata u posljednjih desetak godina provedeno je nekoliko istraživanja kvalitete života osoba s hemofilijom i to prvenstve-

no u zemljama zapadne Europe te Sjeverne i Južne Amerike. Neka od tih istraživanja navedena su u Tablici 3 (3).

* Tekst je modificirana verzija dvaju tekstova objavljenih u časopisu „Hemofilija – glasilo Društva hemofiličara Hrvatske“ (5, 6).

Tablica 3. Prikaz istraživanja kvalitete života osoba s hemofilijom, a koja su koristila specijalizirane upitnike za hemofiliju.

Year	Authors	Country	Participants	Sample (n)	Measure
2000	Bullinger et al. [6]	6 European countries	Children/adolescents and parents	58*	Haemo-QoL
2004	v. Mackensen et al. [7]	6 European countries	Children/adolescents and parents	339 ^a	Haemo-QoL
2004	Young et al. [8]	Canada	Children/adolescents and parents	50**	CHO-KLAT
2004	Arranz et al. [9]	Spain	Adults	73**	Hemofilia-QoL
				35*	(version 1.0)
2005	Remor et al. [5]	8 Latin-American countries	Adults	50**	Hemolatin-QoL
2005	Remor et al. [10]	Spain	Adults	121 ^a	A36 Hemofilia-QoL
2005	v. Mackensen et al. [11]	Italy	Adults	233 ^a	Hemo-A-QoL
2006	Gueróns et al. [12]	France	Children/adolescents and parents, adults	70**	QUAL HEMO
2008	Rentz et al. [13]	Germany, Spain, USA, Canada	Adults	221 ^a	Haemo-QoL-A

Ovakva istraživanja su u suvremenom pristupu skrbi za osobe s hemofilijom nužna i to zbog mnoštva vrlo različitih razloga, a koje zbog limitiranog prostora u ovom članku ne možemo navoditi. No već i samom činjenicom da suvremeni pristup bolesti (i zdravlju) ne znači samo čisto medicinsko fokusiranje na bolest i njeno tretiranje, nego se zahtijeva jedan sveobuhvatni, multidimenzionalni pristup čovjeku kao osobi sa svim njegovim specifičnostima i na svim njegovim dimenzijama, jasno je da je za postizanje osobnog blagostanja i zadovoljstva životom pacijenta nužno utvrditi sve parametre koji tome mogu doprinosti.

Istraživanje kvalitete života odraslih osoba s hemofilijom u Hrvatskoj

U skladu s mnoštvom postavljenih partikularnih ciljeva, a koji bi se možda mogli svesti na jedan glavni, opći cilj – *utvrditi stvarnu kvalitetu života odraslih osoba s hemofilijom u Republici Hrvatskoj te pokušati iskristalizirati na koji način bi se ista mogla podići* – u srpnju 2011. godine započelo je empirijsko istraživanje ove populacije.

Radilo se o kvantitativnom empirijskom istraživanju metodom poštanskog anketiranja. Pri tome je korišten specijalizirani upitnik “A36 Hemofilia-QoL”, a kojega je razvio španjolski tim stručnjaka (4). Njime su obuhvaćeni različiti aspekti života (fizičko zdravlje, dnevne aktivnosti, razina oštećenja zglobova, bol, zadovoljstvo liječenjem, poteškoće s

liječenjem, emocionalno funkcioniranje, mentalno zdravlje, društveni odnosi i aktivnosti), no osim pitanja sadržanih u spomenutom instrumentu dodano je i mnoštvo drugih varijabli. Svaka od njih trebala je detektirati neko od specifičnih životnih obilježja i iskustava karakterističnih za život s hemofilijom, ali i općenito život u Republici Hrvatskoj.

Uzorkovanje, odnosno odabir ispitanika napravljen je u bazi Centra za hemofiliju KBC-a Zagreb te u bazi članstva Društva hemofiličara Hrvatske. Ispitni materijali poslani su svim odraslim članovima Društva, ali i svim drugim odraslim osobama s hemofilijom a koje su se u zadnjih 10 godina barem jedanput javile u Centar, neovisno o tome jesu li se nakon javljanja dalje nastavile liječiti u KBC-u Zagreb, ili nekom drugom, regionalnom centru. Treba napomenuti i da je ispitivanje bilo u potpunosti dobrovoljno i anonimno.

Sam empirijski dio istraživanja trajao je oko 3 mjeseca. Poslano je 230 upitnika na adrese odraslih osoba s hemofilijom te je u konačnici dobiveno 135 ispravno popunjenih upitnika.

Istaknimo sada neke od dobivenih rezultata. Nećemo ulaziti u detaljniju uzročno-posljedičnu analizu rezultata kroz korelacije varijabli, različite statističke obrade i testove (to ćemo ostaviti za neku drugu prigodu), nego ćemo se zadržati samo na deskriptivnom prikazu osnovnih socio-demografskih obilježja te pojedinih specifičnosti vezanih uz samu hemofiliju i njeno liječenje.

Tablica 4. Prikaz pojedinih specifičnosti vezanih uz samu hemofiliju i njeno liječenje.

	N (broj ispitanika)	%
Vrsta hemofilije		
Hemofilija A	110	81,5
Hemofilija B	24	17,8
Bez odgovora	1	0,7
Stupanj hemofilije		
Teška hemofilija (prvi stupanj)	55	40,7
Umjerena hemofilija (drugi stupanj)	21	15,6
Laka hemofilija (treći stupanj)	30	22,2
Nije mi poznato	23	17,0
Bez odgovora	6	4,4
Kućna terapija		
Da	79	58,5
Ne	54	40,0
Bez odgovora	2	1,5
Inhibitori		
Da	15	11,1
Ne	67	49,6
Ne znam	47	34,8
Bez odgovora	6	4,4
Profilaksa, odnosno uzimanje lijeka svakih 2-3 dana neovisno o (ne)postojanju krvarenja		
Da	41	30,4
Ne	89	65,9
Bez odgovora	5	3,7
Učestalost krvarenja u zadnjih godinu dana		
Svaki tjedan, ili gotovo svaki tjedan	20	14,8
2-3 puta mjesečno	17	12,6
Otprilike jedanput mjesečno	18	13,3
Jedanput ili dvaput u 3 mjeseca	20	14,8
Jedanput ili dvaput u 6 mjeseci	10	7,4
Jedanput ili dvaput u godinu dana	18	13,3
Nisam imao nikakvo krvarenje u zadnjih godinu dana	30	22,2
Bez odgovora	2	1,5
Zadovoljstvo ispitanika odnosom njihovog liječnika opće prakse prema njima		
Uopće nisam zadovoljan	3	2,2
Uglavnom nisam zadovoljan	3	2,2
I zadovoljan i nezadovoljan	15	11,1
Uglavnom sam zadovoljan	54	40,0
Potpuno sam zadovoljan	60	44,4
Zadovoljstvo ispitanika odnosom njihovog hematologa prema njima		
Uopće nisam zadovoljan	6	4,4
Uglavnom nisam zadovoljan	2	1,5
I zadovoljan i nezadovoljan	10	7,4
Uglavnom sam zadovoljan	31	23,0
Potpuno sam zadovoljan	84	62,2
Bez odgovora	2	1,5

Tablica 5. Prikaz pojedinih socio-demografskih obilježja ispitanika.

	N (broj ispitanika)	%
Dob		
Do 20 godina	18	13,3
Od 21 do 30 godina	25	18,5
Od 31 do 40 godina	35	25,9
Od 41 do 50 godina	24	17,8
Od 51 do 60 godina	16	11,9
Od 61 do 70	9	6,7
71 i više godina	6	4,4
Bez odgovora	2	1,5
Stupanj obrazovanja		
Bez ikakve škole	2	1,5
Započeta, ali nezavršena osnovna škola	8	5,9
Završena osnovna škola	15	11,1
Završena srednja trogodišnja škola	23	17,0
Završena srednja četverogodišnja škola	49	36,3
Završena viša škola	9	6,7
Završena visoka škola / fakultet / magisterij / doktorat	28	20,7
Bez odgovora	1	0,7
Bračno stanje		
Sam	62	45,9
U braku	59	43,7
U izvanbračnoj zajednici	9	6,7
Bez odgovora	5	3,7
Broj djece		
Nemam djecu	71	52,6
Jedno	25	18,5
Dvoje	24	17,8
Troje	7	5,2
Četvero	2	1,5
Bez odgovora	6	4,4
Osobni mjesečni prihodi		
Nemam nikakvih stalnih prihoda	27	20,0
Do 1000 kuna	9	6,7
Od 1001 do 2000 kuna	24	17,8
Od 2001 do 3000 kuna	13	9,6
Od 3001 do 5000 kuna	24	17,8
Od 5001 do 7000 kuna	16	11,9
Od 7001 do 10000 kuna	13	9,6
Preko 10001 kune	7	5,2
Bez odgovora	2	1,5

Sasvim očekivano, najviše je osoba s dijagnozom *hemofilije A*, a najveći postotak oboljelih ima upravo najteži oblik bolesti – njih 40,7%. Treba napomenuti da 17% ispitanika nije znalo odgovor na ovo pitanje te bi postotak osoba s teškim oblikom hemofilije možda mogao biti i veći. Dijagnosticirane inhibitore ima 11,1% ispitanika, što dodatno i značajno komplicira opću sliku stanja bolesti.

Kućnu terapiju provodi 58,5% ispitanika. Nešto više od 40% njih ima iskustvo krvarenja barem jedanput mjesečno, a neki od njih čak i svaki tjedan. 22,2% ispitanika nije imalo nikakvo krvarenje u posljednjih godinu dana - najvjerojatnije se radi o osobama s lakim oblikom bolesti, ili o osobama koje su na učinkovitoj profilaksi.

Zadovoljstvo odnosom liječnika prema ispitanicima je na visokom nivou. Oko 85% ispitanih osoba s hemofilijom diljem Hrvatske zadovoljno je i odnosom osobnog liječnika primarne zdravstvene zaštite prema njima, ali i odnosom njihovog hematologa.

Što se standardnih socio-demografskih varijabli tiče, evidentno je da najveći broj ispitanika pripada dobnoj skupini između 30 i 40 godina, a po stupnju obrazovanja najviše je srednjoškolski obrazovanih ispitanika. Međutim, evidentan je i, za hrvatski prosjek, prilično visok broj ispitanika s višim ili visokim obrazovanjem – u ukupnom zbroju čak nešto više od četvrtine ispitanika, što je vrlo pohvalan podatak.

Pomalo iznenađuje rezultat da gotovo polovica ispitanika nije oženjeno, a čak ih 52,6% nema djecu. Možda je to zapravo i u korelaciji s ekonomskom situacijom, koja se pokazala izrazito lošom. Znatan broj ispitanika je s vrlo malim primanjima ili čak bez primanja uopće. Jasno da među ovima koji nemaju nikakva stalna primanja može biti i određeni broj srednjoškolaca i studenata koji u pravilu nemaju vlastita primanja i financirani su od strane roditelja, no čak i uz takvo objašnjenje loša financijska situacija je evidentna i zabrinjavajuća.

Dobiveni rezultati su vrlo indikativni, no oni zapravo predstavljaju samo početak elaboracije o kvaliteti života osoba s hemofilijom. U sljedećim radovima bit će potrebno poduzeti kompleksnije analize rezultata te ustvrditi koliko svaki od ovih (ali i brojnih drugih) parametara doista utječe na opću kvalitetu života osoba s hemofilijom u Republici Hrvatskoj, a onda i što je potrebno poduzeti kako bi ona bila na što višoj razini.

Literatura:

1. Krizmanić M., Kolesarić V., (1989), Pokušaj konceptualizacije pojma "Kvaliteta života". *Primijenjena psihologija* 10 179.-184, str. 179.
2. Gringeri A., Von Mackensen S., (2008), Quality of life in haemophilia. *Haemophilia* 14 (Suppl. 3), 19–25, str. 22.
3. Remor, E. (2011) Quality of Life in Hemophilia, u: *Current and Future Issues in Hemophilia Care* (ur: Rodríguez-Merchán E. C.; Valentino L. A.), Wiley-Blackwell, Oxford.
4. Remor E, Arranz P, Quintana M, Villar A, Jimenez-Yuste V, Diaz JL, et al. (2005), Psychometric field study of the new haemophilia quality of life questionnaire for adults: The 'Hemofilia-QoL'. *Haemophilia* 11, 603–610.
5. Marinić M. (2011), Istraživanje kvalitete života odraslih osoba s hemofilijom u Republici Hrvatskoj – preliminarno izvješće. *Hemofilija - Glasilo Društva hemofiličara Hrvatske* 4, 1, str. 20–23.
6. Marinić M. (2012), Kvaliteta života odraslih osoba s hemofilijom u Republici Hrvatskoj – kratko izvješće o istraživanju. *Hemofilija - Glasilo Društva hemofiličara Hrvatske* 5, 1, str. 33–35.

Stečena hemofilija A - prikaz slučaja iz KBC Osijek

Tatjana Ladenhauser, dr. med.

Odjel za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

Klinički bolnički centar Osijek, Osijek

E-pošta: palijan.tatjana@kbo.hr

Uvod

Stečena hemofilija A (AHA) rijetka je bolest uzrokovana vlastitim protutijelima (inhibitorima) na cirkulirajući koagulacijski čimbenik VIII (FVIII), koja se manifestira sklonošću potencijalno životno ugrožavajućem krvarenju. Češća je kod starijih dobnih skupina te kod žena postpartalno. Može biti udružena s autoimunim bolestima (reumatoidni artritis, sistemski eritematozni lupus), s malignim bolestima, ali u više od polovice slučajeva je idiopatska. Krvarenja nastaju u mekim tkivima, mišićima, iz probavnog sustava, dok krvarenje u zglobove nije uobičajeno. Do krvarenja često dolazi nakon kirurških zahvata, iako je prisustvo inhibitora od ranije. U laboratorijskim je nalazima produljeno aktivirano parcijalno trombotičko vrijeme (aPTV) i snižen FVIII, a testom Bethesda određuje se specifičnost i titar inhibitora, međutim ta metoda nije dostupna u svim centrima. Krvarenje kod AHA je stanje koje treba prepoznati i liječiti čim prije. Cilj liječenja je zaustavljanje krvarenja i eradikacija inhibitora. Kod krvarenja koja nisu životno ugrožavajuća i kod niskog titra inhibitora, može se dati dez-mopresin (DDAVP) ili humani FVIII, a kod ozbiljnih krvarenja ili visokog titra inhibitora primjenjuje se rekombinantni čimbenik VIIa (rFVIIa) ili koncentrat protrombinskog kompleksa (aPCC). Istodobno s hemostatskim liječenjem, uvodi se i imunosupresija sa ciljem eradikacije inhibitora i to kortikosteroid u dozi 1mg/kg, sam ili sa ciklofosfamidom 2mg/kg. Peripartalno je opisana i nešto češća pojava spontanog nestanka inhibitora.

Incidencija bolesti je oko 1.3 do 1.5 slučajeva na milijun stanovnika godišnje.¹ Prema podacima studije EACH2, medijan dobi pojavnosti bolesti je 73.9 godine, a prema drugoj skupini autora 64 godine. Idiopatska AHA čini 51.9% slučajeva, a 11.8 do 11.9% povezano je s malignim i autoimunim bolestima. 57% slučajeva AHA koji nisu povezani postpartalnim razdobljem čine muškarci.^{2,3} Kod 41 bolesnika s malignom bolešću i AHA, njih 25 imalo je solidni tumor, a 16 hematološku novotvorinu. 64% solidnih tumora bili su adenokarcinomi, uglavnom pluća i prostate, a kronična limfatična leukemija najčešća od hematoloških zloćudnih bolesti. Bolesnici s tumorima kod kojih se postigne kompletna remisija AHA, najčešće imaju novotvorinu niskog stadija i niži titar inhibitora kod

pojave bolesti.⁴ 42 slučaja AHA (8.4%) od dokumentiranih 501 u EACH2 registru, žene su u peripartalnom razdoblju. Kod njih 74% postiže se kompletna remisija bolesti imunosupresijom, a kod 87% zaustavljanje krvarenja zaobilaznim (engl. *bypassing*) lijekovima. Rizik razvoja inhibitora veći je nakon prvog porođaja, a medijan vremena od porođaja do pojave inhibitora je 2 mjeseca.^{5,6} Najčešća protutijela na koagulacijske čimbenike su ona na FVIII, uglavnom su klase IgG i vežu komplement.⁷ Bolest je karakterizirana pojavom spontanih krvarenja koja su kod 15 do 20% bolesnika fatalna.⁸ Krvarenja se često javljaju nakon nekog kirurškog postupka, a prezentiraju se kao veliki hematomi, ekhimoze ili teško mukozno krvarenje, što uključuje epistakse, krvarenje iz gastrointestinalnog sustava, makrohematuriju. Spontani hemartros nije uobičajen. Kod žena postpartalno najčešća su krvarenja u meka tkiva, mišića, vaginalna krvarenja, krvarenja u zglobove i hematurija. Sumnja na AHA postavlja se temeljem kliničke slike velikih hematoma i ekhimoza kod starije osobe bez značajne traume i bez ranije poznatog poremećaja zgrušavanja. U laboratorijskim nalazima prisutni su: produljen aPTV, normalno protrombinsko vrijeme (PV), snižen FVIII. Potom se radi test miješanja: miješaju se različiti omjeri pacijentove i kontrolne plazme i mjeri aPTV odmah po miješanju i nakon dva sata. Prolongirano produljenje aPTV ukazuje na postojanje inhibitora. Specifičnost inhibitora određuje se Bethesda testom, koji je ujedno i dijagnostički test za AHA i koji kvantificira titar protutijela.⁹ 1 Bethesda jedinica jest recipročno razrjeđenje pacijentove plazme koje rezultira 50%-tnom aktivnošću FVIII. Odmah po dijagnozi potrebno je uvesti imunosupresiju, no optimalan imunosupresijski protokol još nije posve etabliran. Prema dostupnim podacima, uočena je stabilnija kompletna remisija uz kortikosteroide i ciklofosfamid (70%), definirana nedetektabilnim inhibitorom, nego uz kortikosteroide same (48%) ili uz protokole koji uključuju rituksimab (59%). Medijan vremena do kompletne remisije je otprilike 5 tjedana uz kortikosteroide, sa ili bez ciklofosfamida, a rituksimabu treba gotovo dvostruko toliko vremena. Davanje imunoglobulina nije popravilo ovaj ishod. Druga linija terapije uspješna je kod otprilike 60% bolesnika kod kojih prva linija nije dovela do remisije.¹⁰ Rizični čimbenici za letalni ishod su visoka dob, pridružena zloćudna bolest i nepostignuta kompletna remisija.¹¹ Nema suglasnosti oko prve linije hemostatskog liječenja, no podaci pokazuju da se prvom linijom postiže kontrola krvarenja kod 79.6% pacijenata i to u većem broju primjenom rFVIIa i aPCC (tzv. *bypassing* lijekovi), nego primjenom FVIII i DDAVP (93.3% vs 68.3%,

$p=0.003$). Kontrola krvarenja postiže se podjednako primjenom rFVIIa i aPCC.¹² Krvarenja s niskim titrom inhibitora mogu se liječiti koncentratom ljudskog FVIII u visokim dozama 20j/kg/d za svaku Bethesda jedinicu plus dodatnih 40j/kg.¹³ Kod bolesnika s višim titrom inhibitora, daje se aPCC (50-100j/kg svakih 8 do 12 sati, maksimum dnevne doze 200j/kg) ili rFVIIa (90 μ g/kg svaka dva sata ili rjeđe). Neki ne preporučuju davanje FVIII ovim pacijentima, jer je često neučinkovit, a može i pogoršati krvarenje zbog dodatnog poticanja proizvodnje protutijela.¹⁴ Opisan je i protokol indukcije imune tolerancije s FVIII koji je u primjeni kod 14 bolesnika doveo do kompletne remisije u njih 13 i to za otprilike 6 puta kraće vrijeme (4.6 tjedana vs 28.3 tjedna) u odnosu na standardnu imunosupresivnu terapiju. Tri se tjedna primjenjuje: FVIII 30j/kg/d prvog tjedna, 20j/kg/d drugog i 15j/kg/d trećeg tjedna, uz ciklofosfamid 200mg/d do ukupne doze od 2 do 3 g i metilprednizolon 100mg/d iv jedan tjedan, potom postupno smanjivanje doze kroz dva tjedna.¹⁵ Praćenje bolesnika uključuje monitoriranje vidljivog krvarenja, crvene krvne slike, a aPTV i titar inhibitora prate se rjeđe, svaka dva do četiri tjedna od uvođenja imunosupresije. Relaps nakon prve kompletne remisije očekuje se kod 20% pacijenata, a 70% njih ponovno će postići kompletnu remisiju uz isto liječenje.¹⁶ U sljedećim trudnoćama nakon AHA rijetko postoji mogućnost relapsa. Protutijela mogu uzrokovati životno ugrožavajuće krvarenje sljedećeg fetusa zbog transplacentalnog prijenosa IgG protutijela.¹⁶

Prikaz slučaja

Sedamdesetšestogodišnja bolesnica zaprimljena je na Traumatološki odjel zbog velikog hematoma i sufuzija cijele desne noge, a dva mjeseca nakon parcijalne aloartroplastike desnog kuka. Njena dotadašnja povijest bolesti sadržavala je nekoliko ranijih operativnih zahvata (kolecistektomija, adnektomija, operacija descenzusa maternice, Bakerovih cista oba koljena, katarakte), kroničnu opstruktivnu plućnu bolest, permanentnu fibrilaciju atrija, arterijsku hipertenziju, reumatoidni artritis, hipotireozu i imunotireopatiju, dugotrajnu sideropeničnu anemiju, polip želuca, ali ne i sklonost krvarenju i hemoragijske događaje. Dva mjeseca ranije je pri padu zadobila prijelom vrata desne bedrene kosti i lijeve palčane kosti te je liječena parcijalnom aloartroplastikom desnog kuka. Nakon zahvata je uveden varfarin za sprječavanje postoperativne tromboembolije. Od ostalih lijekova redovno je uzimala metotreksat, salazopirin, prednizon, folnu kiselinu, vitamin B12, levotiroksin, antihipertenzive, blokator protonske crpke, analgetike, željezo. Dva tjedna prije pojave hematoma noge učinjena je polipektomija želuca, a u laboratorijskim je nalazima tada

bila prisutna teška sideropenična anemija i produljeni aPTV, međutim nije rađena dodatna obrada koagulopatije. Prije polipektomije je ukinut varfarin i uveden niskomolekularni heparin u profilaktičkoj dozi. Kod prijema na Kiruršku kliniku, bolesnica je bila srednje teškog općeg stanja, nepokretna, blijeda, slabo prokrvljenih vidljivih sluznica, po koži desne ruke, cijele desne noge i gluteusa bile su prisutne opsežne sufuzije (Slika 1 i Slika 2), na lijevoj ruci nekoliko manjih sufuzija, jetra je bila povećana za 1 cm, digitorektalnim pregledom nađeni su tragovi stolice normalne boje, a bio je prisutan i jači otok stražnje lože desne natkoljenice bolan na dodir.

Slika 1.



Slika 2.



U laboratorijskim se nalazima našla normocitna anemija s hemoglobinom 84 g/L, uredni trombociti, uredan PV, povećan aPTV omjer na 1.67 (normala 0.80-1.20), snižen FVIII udjela 0.21 (normala 0.50

-1.49), negativan test miješanja. Zbog daljnjeg produženja aPTV i pogoršanja anemije, 2. dana bolesti liječena je krioprecipitatom i koncentratima eritrocita (KE). 3. dana je uveden metilprednizolon u dozi 1.5 mg/kg i predloženo drugo hemostatsko liječenje, ali je kroz tri dana liječena pročišćenim koncentratom ljudskog FVIII i von Willebrand faktorom (vWF), isprva nižom, a potom i višom dozom (2x45 ij/kg). 7. dana udjel FVIII je 0.04, aPTV 2.71, anemija je korigirana s KE odnosno bolesnica je ovisna o transfuzijama. Ponovno je učinjen test miješanja koji je ovaj put pozitivan, to jest dokazano je prisustvo inhibitora na koagulacijski čimbenik. Bolesnica se premješta na hematološki odjel, a liječenje se mijenja u rFVIIa svaka 4 sata kroz tri dana, 10. dan uključen je i ciklofosamid 2x100mg per os. 14. dan i dalje perzistira nizak FVI-II 0.06, aPTV 1.65, prisutna je anemija, a dolazi i do pogoršanja lokalnog nalaza na desnoj natkoljenici koja je jače otečena, izrazito bolna, sjajne i zategnute kože. Na CDI je potvrđen veliki hematoma natkoljenice, ali uz edem mekih česti, zbog čega je učinjena lateralna incizija i evakuacija hematoma uz antibiotike, s obzirom na prijeteći *compartment* sindrom. Preoperativno je uključen aPCC u dozi 50j/kg svakih 6 sati, a tijekom i nakon samog zahvata nije bilo hemoragijskih komplikacija. aPCC je nastavljen idućih 8 dana, uz stalnu imunosupresiju kortikosteroidom i ciklofosamidom, antibiotik, te nije bilo daljnjih krvarenja. 20. dana popravlja se anemija, nema potrebe za daljnjim transfuzijama KE, aPTV je 1.19, a FVIII 0.27, 21. dana isključen je iz terapije aPCC. 23. dana bolesti bolesnica postaje febrilna, uz proljev, hipotenziju, poremećaj elektrolita, bez krvarenja, promijenjen je antibiotik empirijski, ali bolesnica egzistira 27. dan pod kliničkom slikom sepse, naknadno pristigli mikrobiološki nalaz hemokulture ukazao je na sepsu epidermalnim stafilokokom.

Rasprava

Kako je ranije navedeno, stečena hemofilija A rijetka je bolest koja se prezentira sklonošću opsežnim krvarenjima u starijim dobnim skupinama, a bez ranije poznate hemoragijske dijeteze. Često je udružena s autoimunim i malignim bolestima i često se očituje nakon nekog kirurškog zahvata. Iako je bolesnica iz našeg slučaja prethodno primala varfarin nakon ortopedskog operativnog zahvata sklonost krvarenju se nije mogla objasniti time jer je PV bio uredan. Prilikom drugog rutinskog zahvata polipektomije, uočen je produljen aPTV uz anemiju. Neprepoznata stečena hemofilija A je kod bolesnice dovela do ozbiljnog krvarenja. Nakon što se bolest očitovala vidljivim krvarenjem, pristupilo se dodatnoj obradi koja je dovela do dijagnoze, s napomenom da rutinsko određivanje

titra i specifičnosti inhibitora na FVIII nije dostupno u svakoj ustanovi, pa tako ni u našoj, već se do konačne dijagnoze došlo indirektno. Nije bio poznat niti titar inhibitora, a za pretpostaviti je da je bio visok s obzirom da nije uslijedilo povećanje udjela FVIII nakon davanja istoga, već se manjak produbio, što tumačimo kao jatrogeno uzrokovanu hiperprodukciju vlastitih protutijela izazvanu dodatnim vanjskim unošenjem FVIII. Tek nakon uvođenja tzv. *bypassing* lijekova (rFVIIa i aPCC) te nastupa djelovanja imunosupresije, krvarenje se smanjilo kao i potreba za transfuzijama. Unatoč poboljšanju svih praćenih laboratorijskih i kliničkih parametara stečene hemofilije A, imunosupresivno liječenje i značajan komorbiditet doveli su do smrtnog ishoda bolesnice koji je neposredno bio uzrokovan sepsom.

Literatura:

- Collins PW, Hirsch S, Baglin TP et al. Acquired hemophilia A in the United Kingdom: a 2-year national surveillance study by the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation. *Blood*. 2007;109:1870.
- Delgado J, Jimenez-Yuste V, Hernandez-Navarro F, Villar A. Acquired hemophilia: review and meta analysis focused on therapy and prognostic factors. *Br J Haematol*. 2003;121:21.
- Knoeb l P, Marco P, Baudo F, Collins P, Huth-Kühne A, Nemes L, Pellegrini F, Tengborn L, Lévesque H; EACH2 Registry Contributors. Demographic and clinical data in acquired hemophilia A: results from the European Acquired Hemophilia Registry (EACH2). *J Thromb Haemost*. 2012;10(4):622-31.
- Sallah S, Wan JY. Inhibitors against factor VIII in patients with cancer: Analysis of 41 patients. *Cancer*. 2001; 91:1067.
- Franchini M. Postpartum acquired factor VIII inhibitors. *Am J Hematol*. 2006; 81:768.
- Tengborn L, Baudo F, Huth-Kühne A, Knoeb l P, Lévesque H, Marco P, Pellegrini F, Nemes L, Collins P; EACH2 registry contributors. Pregnancy-associated acquired haemophilia A: results from the European Acquired Hemophilia (EACH2) registry.
- Green D, Lechner K. A survey of 215 non-hemophilic patients with inhibitors to Factor VIII. *Thromb Haemost*. 1981; 45:200.
- Lévesque H, Borg JY, Bossi P, Goudemand J, Gullet B, Cabane J. Acquired hemophilia: current diagnostic and therapeutical approaches. *Rev Med Interne*. 2001;22(9):854-66.
- Kasper CK, Aledort L, Aronson D et al. Proceedings: A more uniform measurement of factor VIII inhibitors. *Thromb Diath Haemorrh*. 1975; 34:612.
- Collins P, Baudo F, Knoeb l P, Lévesque H, Nemes L, Pellegrini F, Marco P, Tengborn L, Huth-Kühne A; EACH2 registry collaborators. Immunosuppression for acquired hemophilia A: results from the European Acquired Hemophilia Registry (EACH2). *Blood*. 2012;120(1):47-55.
- Bitting RL, Bent S, Li Y, Kohlwe s J. The prognosis and treatment of acquired hemophilia: a systematic review and meta-analysis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2009;20(7):517-23.
- Baudo F, Collins P, Huth-Kühne A, Lévesque H, Marco P, Nemes L, Pellegrini F, Tengborn L, Knoeb l P; EACH2 registry contributors. Management of bleeding in acquired hemophilia A: Results from European Acquired Hemophilia registry (EACH2). *Blood*. 2012;120(1):39-46.
- Franchini M, Lippi G. Acquired factor VIII inhibitors. *Blood*. 2008; 112:250.
- Huth-Kühne A, Baudo F, Collins P, Ingerslev J, Kessler CM, Lévesque H, Castellano ME, Shima M, St-Louis J. International recommendations on the diagnosis and treatment of patients with acquired hemophilia A. *Haematologica*. 2009; 94:566-75.

Imuna trombocitopenija u djece

Prof. dr. sc. Jelena Roganović, dr. med.

Klinika za pedijatriju KBC Rijeka

Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

E-pošta: jelena.roganovic1@ri.t-com.hr

Imuna trombocitopenija (ITP) je stečeni hematološki poremećaj karakteriziran izoliranom trombocitopenijom (broj trombocita $< 100 \times 10^9/L$) uslijed imunološki posredovane ubrzane razgradnje trombocita u monocitno-makrofagnom sustavu, prvenstveno slezene. Najčešća je autoimuna bolest krvnih stanica i najčešća trombocitopenija dječje dobi s godišnjom incidencijom 1 na 10.000 djece.

Etiologija: ITP je uzrokovana autoantitijelima na glikoproteine membrane trombocita i megakariocita. Ova autoantitijela razlog su ubrzane razgradnje trombocita i njihove smanjene produkcije iz megakariocita. Najčešći trombocitni antigeni su glikoproteinski kompleksi GPIIb-IIIa i GPIb-IX-V. Antitrombocitna autoantitijela većinom su IgG klase (pretežno IgG1 i IgG2). Čimbenici koji pokreću stvaranje autoantitijela nisu u potpunosti poznati. ITP se u djece najčešće javlja nakon virusne infekcije (virus influence, rubeole, parotitisa, parvovirus, citomegalovirus, Epstein-Barr virus, varicella-zoster virus), znatno rjeđe nakon cijepljenja. Mehanizmi kojima virusna infekcija pokreće autoimunu reakciju su sljedeći: poliklonalna aktivacija B-limfocita, adsorpcija virusa na trombocite, deponiranje imunih kompleksa koji sadrže virus na trombocitnu membranu, otkrivanje kriptogenih neoantigena na površini trombocita i, najvažnije, molekularna sličnost između epitopa na virusima i trombocita. Rezultat ove sličnosti je stvaranje autoantitijela koja unakrsno reagiraju s virusom i trombocitima domaćina. Širenje autoimunog odgovora na druge antigene determinante trombocita odgovorno je za daljnji razvoj ITP, a proinflammatorni citokini doprinose punoj ekspresiji bolesti. Istraživanja ukazuju na značaj genetskih čimbenika u nastanku ITP. Ključnu ulogu u prepoznavanju i vezivanju trombocita obloženih autoantitijelima imaju Fcγ receptori makrofaga, prvenstveno slezene. Polimorfizam ovih receptora rezultira različitim afinitetom pojedinih alela za vezivanje IgG.

Klinička slika: U tipičnim slučajevima ITP je karakterizirana iznenadnim javljanjem kožnih krvarenja u inače zdravog djeteta, najčešće 1 do 4 tjedna nakon preboljele virusne infekcije. Uz kožna krvarenja, u trećine bolesnika prisutna je epistaksa i krvarenje u sluznicu usne šupljine. Krvarenje u sluznicu mokraćnog i probavnog trakta prisutno je u manje od 10% bole-

snika. U adolescentica s ITP moguća je menoragija. U 10% djece palpabilna je slezena. Opće stanje djeteta je u pravilu dobro. Opća slabost, povišena temperatura, bolovi u kostima, limfadenopatija ili hepatosplenomegalija pobuđuju sumnju na drugu etiologiju. Najteža komplikacija ITP, intrakranijalno krvarenje, javlja se u manje od 1% bolesnika.

Prema opće prihvaćenom tzv. Vicenza Konsenzusu Internacionalne radne grupe (International Working Group) iz 2009. godine ujednačena je terminologija ITP u djece i odraslih. Razlikuje se primarna i sekundarna ITP. Primarna ITP označava autoimuni poremećaj karakteriziran izoliranom trombocitopenijom u odsustvu drugih uzroka ili udruženih poremećaja. Sekundarna ITP uključuje sve forme imunološki posredovane trombocitopenije osim primarne ITP. Također su definirane faze bolesti. Umjesto prijašnjih naziva „akutna“ i „kronična“ predložene su sljedeće kategorije: „novodijagnosticirana“ ITP (razdoblje od prva 3 mjeseca nakon postavljanja dijagnoze), „perzistentna“ ITP koja uključuje bolesnike s ITP u razdoblju između 3 i 12 mjeseci nakon postavljanja dijagnoze, te „kronična“ ITP trajanja duljeg od 12 mjeseci. Povoljan tijek s potpunom remisijom unutar nekoliko tjedana ili mjeseci ima 60 do 90% djece. Za razliku od odraslih, 30 do 80% djece s kroničnom ITP doživi oporavak spontano ili nakon provedene terapije.

Laboratorijske značajke: Laboratorijske pretrage ključne za postavljanje dijagnoze su kompletna krvna slika i razmaz periferne krvi. Tipičan nalaz je izolirana trombocitopenija. Broj trombocita je nizak, u 80% djece ispod $20 \times 10^9/l$ i često ispod $10 \times 10^9/l$. Blagu anemiju ima 15% bolesnika. Testovi zgrušavanja su u granicama normale. Serološki testovi kojima se ispituje prisutnost antitrombocitnih antitijela nisu pouzdani zbog nedostatne specifičnosti i senzitivnosti (u čak 40% pacijenata s ITP ne mogu se dokazati antitrombocitna antitijela). Pri tipičnim kliničkim i laboratorijskim nalazima nije potrebna punkcija koštane srži. Punkcija je obvezna u atipičnim slučajevima (loše opće stanje djeteta, limfadenopatija, hepatosplenomegalija), a dio hematologa je preporučuje prije primjene steroidne terapije.

Liječenje: ITP u djece je najčešće prolazni benigni poremećaj koji ne zahtijeva liječenje. Dokazano je da farmakoterapija može skratiti razdoblje izrazite trombocitopenije, ali ne utječe na ishod bolesti. Da li opservirati dijete s akutnom ITP ili ga aktivno liječiti, bila je tema rasprava koje su decenijama dijelile pedijatrijske hematologe u svijetu. Smjernice Američkog hemato-

loškog društva (American Society of Hematology) iz 1996. godine preporučuju medikamentoznu terapiju u djece s brojem trombocita $< 20 \times 10^9/l$ i krvarenjem u sluznice, te u sve djece s brojem trombocita $< 10 \times 10^9/l$. Prema novim ASH smjernicama iz 2011. godine u djece bez krvarenja ili s blagim krvarenjem preporučuje se samo opservacija bez obzira na broj trombocita. Britanska pedijatrijska hematološka grupa (British Paediatric Haematology Group) određuje terapijski pristup prvenstveno prema kliničkoj slici, a ne prema broju trombocita.

Bez obzira na terapijski pristup, roditelje i bolesnike treba iscrpno informirati i poučiti o naravi bolesti. Aktivnosti djeteta valja ograničiti ukoliko je broj trombocita $< 20 \times 10^9/l$ ili su vidljiva nova krvarenja. Kontaktni sportovi se zabranjuju pri broju trombocita nižem od $50 \times 10^9/l$. Potrebno je izbjegavati lijekove koji utječu na funkciju trombocita, kao što su acetilsalicilna kiselina i ibuprofen.

Lijekovi koji se najčešće koriste su kortikosteroidi i intravenski imunoglobulin (IVIG). U literaturi postoje brojni podaci o primjeni različitih doza i u različitom trajanju. Kortikosteroidi utječu na integritet vaskularne stijenke, smanjuju stvaranje antitrombocitnih antitijela, smanjuju afinitet antitijela za membranu trombocita i smanjuju fagocitozu antitijelima obloženih trombocita u monocitno-makrofagnom sistemu. Najčešće se primjenjuje prednizon peroralno u dozi od 4 mg/kg/d (maksimalna dnevna doza 60 mg) kroz 4 dana.

Mehanizam djelovanja IVIG-a je višestruk, a najvažnija je blokada Fc receptora makrofaga te supresija stvaranja i vezanja antitrombocitnih antitijela. Novija istraživanja preporučuju jednokratnu primjenu IVIG-a u dozi od 0,8 g/kg.

Anti-D imunoglobulin se primjenjuje u liječenju Rh(D) pozitivnih bolesnika koji imaju funkcionalnu slezenu. Standardna doza je 25 µg/kg/d intravenski kroz 2 dana. Oponizirani eritrociti vežu se na Fc receptore makrofaga slezene i interferiraju s destrukcijom trombocita obloženih antitijelima. U 16% bolesnika razvija se blaga hemolitička anemija s prosječnim padom vrijednosti hemoglobina 0.8 g/dL + 1.5, 1 do 2 tjedna nakon primjene.

Rituximab se primjenjuje u bolesnika refraktornih na standardnu terapiju, u dozi od 375 mg/m² intravenski 1x tjedno tijekom 4 uzastopna tjedna.

Eltrombopag je agonist trombopoetinskih receptora s dokazanom učinkovitosti u odraslih. Klinička ispitivanja u djece su u tijeku. Primjenjuje se peroralno u dnevnoj dozi od 50-75 mg.

Splenektomija je metoda izbora u djece s kroničnom ITP refraktornom na medikamentoznu terapiju i s krvarenjima koja značajno utječu na kvalitetu živo-

ta. Splenektomijom se postiže terapijski učinak u 75% djece s ITP. Zbog rizika od postsplenektomične sepse ne preporučuje se u djece mlađe od 5 godina.

Literatura:

1. Bekker E, Rosthøj S. Successful implementation of a watchful waiting strategy for children with immune thrombocytopenia. *Dan Med Bull.* 2011;58(4):A4252.
2. Bergmann AK, Grace RF, Neufeld EJ. Genetic studies in pediatric ITP: outlook, feasibility, and requirements. *Ann Hematol.* 2010;89(Suppl 1):S95-103.
3. Blanchette V, Bolton-Maggs P. Childhood immune thrombocytopenic purpura: diagnosis and management. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2010;24(1):249-73.
4. Bussel JB, Buchanan GR, Nugent DJ, Gnarr DJ, Bomgaars LR, Blanchette VS, Wang YM, Nie K, Jun S. A randomized, double-blind study of romiplostim to determine its safety and efficacy in children with immune thrombocytopenia. *Blood.* 2011;118(1):28-36.
5. Cole CH. Rapid update on childhood immune thrombocytopenic purpura. *J Paediatr Child Health.* 2012;48(5):378-9.
6. Del Vecchio GC, Giordano P, Tesse R, Piacente L, Altomare M, De Mattia D. Clinical significance of serum cytokine levels and thrombopoietic markers in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood Transfus.* 2012;10(2):194-9.
7. Grainger JD, Rees JL, Reeves M, Bolton-Maggs PH. Changing trends in the UK management of childhood ITP. *Arch Dis Child.* 2012;97(1):8-11.
8. Gwilliam NR, Lazar DA, Brandt ML, Mahoney DH Jr, Wesson DE, Mazziotti MV, Nuchtern JG, Lee TC. An analysis of outcomes and treatment costs for children undergoing splenectomy for chronic immune thrombocytopenia purpura. *J Pediatr Surg.* 2012;47(8):1537-41.
9. Ho WL, Lee CC, Chen CJ, Lu MY, Hu FC, Jou ST, Lin DT, Lin KH. Clinical features, prognostic factors, and their relationship with antiplatelet antibodies in children with immune thrombocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2012;34(1):6-12.
10. Imbach P, Kühne T, Müller D, et al. Childhood ITP: 12 months follow-up data prospective Registry I of the Intercontinental Childhood ITP Study Group (ICIS). *Pediatr Blood Cancer.* 2006;46:351-6.
11. Kühne T, Berchtold W, Michaels LA, Wu R, Donato H, Espina B, Tamary H, Rodeghiero F, Chitlur M, Rischewski J, Imbach P; Intercontinental Cooperative ITP Study Group. Newly diagnosed immune thrombocytopenia in children and adults: a comparative prospective observational registry of the Intercontinental Cooperative Immune Thrombocytopenia Study Group. *Haematologica.* 2011;96(12):1831-7.
12. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L Jr, Crowther MA; American Society of Hematology. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood.* 2011;117(16):4190-207.
13. Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, Michel M, Provan D, Arnold DM, Bussel JB, Cines DB, Chong BH, Cooper N, Godeau B, Lechner K, Mazzucconi MG, McMillan R, Sanz MA, Imbach P, Blanchette V, Kühne T, Ruggeri M, George JN. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood.* 2009;113(11):2386-93.
14. Roganovic J, Letica-Crepulja M. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a 15-year natural history study at the Children's Hospital Rijeka, Croatia. *Pediatr Blood Cancer.* 2006;47:662-4.
15. Roganovic J. Rituximab treatment in refractory idiopathic thrombocytopenic purpura in children. *Eur J Pediatr.* 2005;164:334.

Smjernice dijagnostike i liječenja hemokromatoze u pedijatrijskoj kliničkoj praksi

Prof. dr. sc. Srđana Čulić, prim. dr. med.

Klinika za dječje bolesti KBC Split

Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu, Split

E-pošta: sculic@kbsplit.hr

Normalno organizam sadrži 800-1500 mg željeza, koje je uskladišteno u makrofazima jetre, slezene i koštane srži. Ako unos željeza nadmaši mogućnost fiziološkog skladištenja ono se gomila u parenhimnim stanicama organa u obliku topljivog feritina ili kasnije netopljivog hemosiderina. Posljedica ovog taloženja je hemokromatoza.

Hemokromatoza u djece, kao i u odraslih, nastaje zbog prekomjernog nakupljanja i toksičnog djelovanja iona željeza u jetri, srcu, gušterači, hipofizi, zglobovima i koži.

Na hemokromatozu u politransfundirane djece ćemo posumnjati ako su vrijednosti serumskog feritina $> 1000 \mu\text{g/l}$.

Hemokromatoza može biti:

1. primarna ili genetska,
2. sekundarna ili stečena.

Primarna ili hereditarna hemokromatoza (HH) je nasljedna bolest koja se rijetko dijagnosticira u djetinjstvu. To je urođeni nedostatak metabolizma željeza s polaganom progresivnom akumulacijom željeza u različitim organima, a manifestira se u 4. ili 5. dekadi života. Neki autori su registrirali ovu pojavu kroz tri generacije. Najmlađa djeca u kojih je opisana su jedno od 29 mjeseci i jedno od 7 g. Dugotrajne posljedice taloženja željeza u jetri su ciroza i karcinom jetre (1).

Sekundarna ili stečena hemokromatoza (SH) relativno je česta, može se prevenirati, a nastaje nakon primjene brojnih transfuzija deplazmatiziranih eritrocita (DE), parenteralnih pripravaka željeza ili dugotrajnog uzimanja peroralnog željeza.

SH u djece je češća od HH. Suvremeni agresivni način liječenja malignih bolesti kemoterapijom, radioterapijom i transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (TKMS) alogeničnom ili autolognom, zahtijeva primjenu čestih transfuzija DE.

Urođene hematološke bolesti kod kojih se u liječenju primjenjuju brojne transfuzije DE kao što su anemija srpastih stanica i talasemija često se kompliciraju hemokromatozom koja je zbog oštećenja organa vodeći uzrok smrtnosti ovakvih bolesnika značajno povećavajući učestalost smrtnog ishoda.

Česte transfuzije opterećuju mali organizam velikim količinama željeza koje on nije u stanju sam brzo

izlučiti te se željezo počinje odlagati u stanice parenhimnih organa (jetra, srčani mišić, slezena) i nastaje hemokromatoza koja uzrokuje oštećenje navedenih organa i njihovu disfunkciju, što se očituje srčanim aritmijama, zatajenjem srca, cirozom jetre, dijabetesom, poremećajem žlijezda s unutrašnjim izlučivanjem pa nastaje hipotireoza ili hipogonadizam.

Rizik nastanka hemokromatoze i potrebe za kelacijom željeza u pedijatrijskoj populaciji povezan je s bolestima koje zahtijevaju primjenu velikog broja transfuzija (Tablica 1).

Tablica 1. Bolesti koje zahtijevaju primjenu velikog broja transfuzija.

MDS
Beta talasemija
Blackfan Diamond anemija
Fanconijeva anemija
Kongenitalna diseritropoetska anemija
Aplastična anemija
Hematološke maligne bolesti visokog rizika (ALL, AML, NHL)
TKMS alogenična ili autologna

Hematološke maligne bolesti visokog rizika (ALL, AML, NHL)

Dugotrajno opterećenje željezom dokazano je u najmanje 14% djece liječene zbog ALL (2).

Opisana je vrlo visoko rizična ALL i prethodno nedijagnosticirana HH u 14 godišnje djevojčice sa značajnim preopterećenjem željezom, disfunkcijom jetre i srca te letalnim ishodom u koje je poslije smrti dokazana mutacija C282Y potvrdivši HH (3).

Prisustvo C282Y gena i HH u djece uzrokuje pojačanu sklonost nastanku ALL pa bi ispitivanje ove mutacije pomoglo u procjeni rizika leukemije (4).

Transplantacija krvotvornih matičnih stanica

Opterećenje željezom često prati TKMS u djece. Neki autori opisuju jetreno opterećenje željezom u čak do 77% djece, opterećenje slezene u 46%, a koštane srži u 38.5% (5).

Opterećenje željezom udruženo je s hepatičnom, srčanom i endokrinom disfunkcijom nakon TKMS nakon koje je povišene koncentracije feritina (1100 ng/mL) imalo 93.2% djece. Dokazana je pozitivna korelacija serumskog feritina, bilirubina i gama-GT. Visoke koncentracije feritina korelirale su s lošijom funkcijom srca. Bolesnici s hipotireozom i nedostatkom hormona rasta imali su značajno više vrijednosti feritina (6).

Autologna TKMS

Veno okluzivna bolest (engl. *Veno Oclusive Disease* - VOD) može nastati kao komplikacija autologne TKMS u liječenju visoko rizičnih solidnih malignih tumora u djece kao što su neuroblastom ili visoko rizični tumori središnjeg živčanog sustava (SŽS). Reduciranje opterećenja željezom kelacijom značajno smanjuje rizik nastanka VOD-a (7).

Štetnost povećane količine željeza

Povećana količina željeza u organizmu djeluje štetno na eritropoezu koja postaje neefikasna. U cirkulaciju se otpuštaju oštećeni eritrociti trombogenog potencijala što uzrokuje visoki rizik nastanka tromboza. Može se pojaviti ekstramedularna hematopoeza, osteoporoza, abnormalna funkcija jetre, hipotireoza, hipogonadizam. Uslijed nagomilavanja željeza u srčanom mišiću nastaje progresivan i značajni pad ventrikularne ejekcijske frakcije lijevog srca što povećava rizik od zatajenja srca i nastanka plućne hipertenzije.

Manifestacije hemokromatoze u djece

Opterećenje željezom je vrlo štetno u djece. Nastaje jedna i više endokrinoloških anomalija, a najčešća je abnormalnost hipotalamičko-pituitarno-gonadalne osovine s endokrinološkom disfunkcijom. Posljedice ovakvog stanja su zakašnjeli pubertet, usporeni rast, hipotireoidizam te hipoparatiroidizam (8).

Dijagnostički algoritam preopterećenja željezom

Obavezno zbrajati broj primljenih transfuzija. Nakon 10-20 primljenih transfuzija DE ili nakon postignute remisije maligne bolesti odrediti serumske vrijednosti feritina (Tablica 2).

Tablica 2. Dijagnostički postupnik za hemosiderozu.

Broj primljenih transfuzija
Serumske vrijednosti feritina > 1000 µg/l
Mjerenje zasićenosti transferina
Ispitivanje koncentracije željeza u jetri pomoću MRI T2 tehnike
Određivanje vrijednosti LIC-a
Ev. određivanje vrijednosti istaloženog željeza u srčanom mišiću
Procjena težine hemosideroze

Ako su vrijednosti serumskog feritina >1000 µg/l potrebno je potvrditi preopterećenje željezom mjerenjem zasićenosti transferina koje se izračunava pomoću formule:

zasićenost transferina (%) = vrijednost serumskog željeza (µmol/L)/TIBC x 100

Referentna vrijednost zasićenosti transferina iznosi od 25 - 50%.

Da bi mogli sa sigurnošću dokazati opterećenje jetre ili srca željezom koristimo se ispitivanjem koncentracije željeza u jetri i srcu pomoću MRI T2 tehnike. Tako određujemo kapacitet zasićenja jetre željezom (engl. *Liver Iron Concentration* - LIC). Vrijednosti LIC-a prikazane su u Tablici 3.

Tablica 3. Količina željeza u jetri – LIC.

Količina željeza u jetri	µmol/g
NORMALNA	< 40
LAGANO POVIŠENA	60 – 99
ZNAČAJNO POVIŠENA	100 – 199

LIC > 60 umol/g nam je potvrda preopterećenja jetre željezom.

Serumski feritin je najjednostavniji parametar praćenja preopterećenja željeza.

Ispitivanje koncentracije željeza u jetri i srcu pomoću MRI T2 tehnike pomaže nam u odlučivanju kada početi liječenje opterećenja željezom a isto tako kada prestati s liječenjem. Pomaže nam u monitoriranju učinka liječenja, određivanju doziranja kelatora i dužine liječenja. Samo bolesnici s teškim hepatalnim opterećenjem željezom pokazuju povišene T2 kardijalne vrijednosti, jer jetra je organ gdje se željezo najprije taloži. Povećani LIC udružen je sa značajnim poboljšanjem od vaskularnih, endokrinih i koštanih bolesti (9).

Liječenje hemokromatoze

Zbog brojnih komplikacija vezanih uz hemokromatozu u djece preporučuje se primjena kelatora što sprječava nastanak istih, poboljšava eritropoezu, uspjeh liječenja i preživljenje. Općenito, primjena kelatora prije i nakon TKMS poboljšava klinički ishod transplantiranih.

Indikacije za primjenu kelatora u djece

Kelatore ćemo primijeniti ako su u politransfudiranih bolesnika s HH i SH različitog uzroka (Tablica 1) vrijednosti feritina > 1000 ng/l, a vrijednosti LIC-a > 60 µmol/g.

Prije i nakon TKMS

- 1. Autologne** (solidni maligni tumori)
- 2. Alogenične** (beta talasemija, anemija srpastih stanica, osteopetroza, leukemije, limfomi).

Primjena u poslijetransplantacijskom periodu bitno smanjuje vrijednosti feritina kroz godinu dana za 30%, značajno smanjuje kardijalno i jetreno opterećenje željezom mjereno MR T2 tehnikom.

Optimalna kelacijska terapija u djece je peroralna Deferasiroks (DFX) – Exjade®. Primjenjuje se od 6 mjeseci do 24 mjeseca, ovisno o količini istaloženog željeza i brzini eliminiranja. Djeca ovakvu terapiju dobro toleriraju i nema nikakvih neželjenih efekata na hematopoezu donora i kimerizam. Rijetko uzrokuje porast vrijednosti AST, ALT, gama-GT, kreatinina. Rijetki su probavni simptomi (mučnina, povraćanje) (15 - 20%) ili osip (5%).

Terapijski postupnik i praćenje

Smjernice prilagoditi individualno s obzirom na uzrok hemokromatoze i buduće potrebe za transfuzijama.

Terapiju preopterećenja (željezom) započeti nakon 20 transfuzija DE ako je serumski feritin > 1000 ng/mL i vrijednosti LIC-a > 60 $\mu\text{mol/g}$ te ako će bolesnik primati dvije ili više transfuzija eritrocita tijekom godine dana ili duže.

Prije terapije:

Odrediti feritin, LIC, AST, ALT, gama-GT, kreatinin u serumu i cystatin C.

Praćenje tijekom liječenja:

Najjednostavnija je kontrola feritina. Potrebno je praćenje gore navedenih parametara osim LIC-a koji ćemo kontrolirati kada vrijednosti feritina budu <500 $\mu\text{g/l}$. Zbog mogućih nuspojava provjeravati svaki tjedan prvog mjeseca terapije, a zatim jedanput mjesečno AST, ALT, gama-GT, kreatinin u serumu i cystatin C.

Kada vrijednosti serumskog feritina budu <500 $\mu\text{g/l}$ i LIC <60 $\mu\text{mol/g}$ prekinuti liječenje

Ponovo kontrola serumskog feritina za mjesec dana; u slučaju porasta >1000 $\mu\text{g/l}$ ponovo započeti liječenje.

Doziranje

Preporučena inicijalna dnevna doza 20 mg/kg TT, maksimalna doza je 40 mg/kg TT jedanput dnevno na prazan stomak 30 minuta prije jela. Ako je jetra oštećena i nastupi porast transaminaza mogu se reducirati doze za 50%. Monitorirati feritin jedanput mjesečno, a doze prepraviti svaka 3 mjeseca individualno (može i 5-10 mg/kg).

Zaključak

Hemokromatoza uzrokuje lošiji uspjeh liječenja, ali uz primjenu kelatora željeza rezultati su značajno bolji. Moramo misliti na ovu komplikaciju liječenja i moramo naučiti kako je prepoznati. HH i SH se mogu uspješno liječiti, a ako se ne liječe ostavljaju trajne teške posljedice u djece. Deferasiroks ostaje zlatni standard u liječenju hemokromatoze u djece (10).

Literatura:

1. Franchini M, Veneri D. Recent advances in hereditary hemochromatosis. *Ann Hematol.* 2005;84(6):347-52.
2. Halonen P, Mattila J, Suominen P, Ruuska T, Salo MK, Mäkipernä A. Iron Overload in Children Who Are Treated for Acute Lymphoblastic Leukemia Estimated by Liver Siderosis and Serum Iron Parameters. *Pediatrics.* 2003; 111(1):91-6.
3. Balagtas JM, Dahl GV. Hemochromatosis in leukemia. *Pediatric Blood & Cancer.* 2012;58(1):101-3.
4. Dorak MT, Burnett AK, Worwood M. Hemochromatosis Gene in Leukemia and Lymphoma. *Leukemia & Lymphoma* 2002;43(3):467-77.
5. Kornreich L, Horev G, Yaniv I, Stein J, Grunebaum M, Zaizov R.. Iron overload following bone marrow transplantation in children: MR findings. *Pediatr Radiol.* 1997; 27(11):869-72.
6. Chotsampancharoen, Gan K, Kasow KA, Barfield RC, Hale GA, Leung W. Iron overload in survivors of childhood leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Pediatr Transplantation.* 2009;13:348-52.
7. Hee Won Chueh, Ki Woong Sung, Soo Hyun Lee, i sur. Iron Chelation Treatment With Deferasirox Prior to High-Dose Chemotherapy and Autologous Stem Cell Transplantation May Reduce the Risk of Hepatic Veno-Occlusive Disease in Children With High-Risk Solid Tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;58(3):441-7.
8. De Sanctis V, Roos M, Gasser T, i sur. Impact of long-term iron chelation therapy on growth and endocrine functions in thalassaemia. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2006;19:471-80.
9. Gomori JM, Horev G, Tamary H, i sur. Hepatic iron overload: quantitative MR imaging. *Radiology.* 1991;179(2):367-9.
10. Vichinsky E. Iron Overload and Iron Chelation Therapy in Pediatric Patients. *US Hematology.* 2009;2(1):64-7.

Hemofagocitna limfohistiocitoza: smjernice za dijagnostiku i liječenje

Ljubica Rajić¹, Sara Dejanović², Ranka Femenić¹, Maja Pavlović¹, Josip Konja¹, Ika Kardum Skelin³, Goran Tešović⁴, Drago Batinić⁵, Klara Dubravčić⁵, Ernest Bilić¹

¹Zavod za hematologiju i onkologiju, Klinika za pedijatriju, KBC Zagreb; ²KBC Zagreb;

³Zavod za kliničku citologiju i citogenetiku, KB Merkur; ⁴ Odjel za malu djecu s JIL-om, Klinika za infektivne bolesti, Zagreb; i ⁵Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb.

Adresa autora za kontaktiranje:

Prof. dr. sc. Ljubica Rajić, dr. med.

Zavod za hematologiju i onkologiju

Klinika za pedijatriju

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Klinički bolnički centar Zagreb

E-pošta: ljubica.rajic@yahoo.com

Uvod

Hemofagocitna limfohistiocitoza (HLH) jest po život opasno kliničko stanje koje nastaje zbog poremećaja imunskog odgovora na unutarnje ili vanjske podražaje. Poremećaj u konačnici dovodi do kraha homeostaze imunskog odgovora s posljedičnom hiperinflamacijom i multiorganskim oštećenjem (1). Radi se *de facto* o kliničkom sindromu koji se može razviti u različitim patološkim stanjima. Vodeći klinički znakovi bolesti su vrućica dugog trajanja, hepatosplenomegalija te simptomi citopenije.

Hemofagocitna limfohistiocitoza se na temelju osnovnog etiopatofiziološkog mehanizma dijeli u dva oblika s istovjetnom kliničkom slikom: primarnu HLH (poznatu kao familijarna HLH) i sekundarnu ili stečenu HLH (1-2). Oba oblika bolesti mogu se javiti u bilo kojoj dobi, no predominantno se dijagnosticira u dojenačko doba (70-80%) (3).

Familijarna hemofagocitna limfohistiocitoza (FHLH) jest rijetka fatalna bolest, autosomno recisivnog obrasca nasljeđivanja, koja se predominantno (70-80%) razvija u dojenačko doba. Procjenjuje se da incidencija familijarne HLH iznosi 1/50.000-300.000 novorođenih (3).

Sekundarna limfohistiocitoza se javlja sporadično, bez poznatih genetskih alteracija, a povezuje se s infekcijama, autoimunskim bolestima, juvenilnim reumatskim bolestima, malignim i metaboličkim bolestima, kao i jatrogenim imunodeficijencijama (npr. nakon transplantacije organa).

Etiologija

Hemofagocitna limfohistiocitoza nastaje zbog poremećaja u degranulaciji lizosomskih vezikula i posljedičnog oštećenja citotoksične aktivnosti NK-

stanica i limfocita (1-2). Zbog navedenog defekta različiti podražaji dovode do neadekvatne, odnosno prekomjerne aktivacije limfocita T s hipersekrecijom citokina. Uz slom regulacije negativne povratne sprege, hipersekrecija citokina uzrokuje aktivaciju makrofaga uz sliku hemofagocitoze.

Najčešći okidači imunskog poremećaja u HLH jesu patogeni mikroorganizmi, kao što su virusi iz skupine herpes. Maligni limfomi su čest uzrok HLH u odraslih, dok se poseban oblik HLH povezan s reumatskim bolestima (juvenilnim reumatoidnim artritisom, Stillovom bolešću, sistemskim eritematoznim lupusom i sl.) naziva sindrom aktivacije makrofaga (engl. *macrophage-activation syndrome*, MAS).

Iako je familijarna hemofagocitna limfohistiocitoza opisana tek 1952. godine pod nazivom hemofagocitne retikuloze (4), otkrića genetskih mutacija uslijedila su tek krajem 20. stoljeća. Do danas je otkriveno 5 različitih genskih lokusa odgovornih za nastanak bolesti (Tablica 1).

Tablica 1. Oblici hemofagocitne limfohistiocitoze (ref. 1-2).

PRIMARNA LIMFOHISTIOCITOZA	SEKUNDARNA LIMFOHISTIOCITOZA
Mutacije gena	Infektivni čimbenici
Mutacija 9q21.3-22: FHLH1	Reumatske bolesti (MAS)
PRF1(10q21-22): FHLH2	Autoimunosne bolesti
MUNC13-4(17q25): FHLH3	Maligne bolesti (leukemije, limfomi)
STX11(6q24): FHLH4	Metaboličke bolesti
UNC18B/STXBP2(19p13.2-13.3): FHLH5	
Imunodeficijentni sindromi	
Griscelijev sindrom	
Chediak-Higashijev sindrom	
Wiskott-Aldrichov sindrom	
PRF1- perforin 1; STX11- syntaxin 11; STXBP2- syntaxin binding protein	

Dijagnostika

HLH je sindrom sa širokim spektrom simptoma. Dijagnoza bolesti postavlja se na temelju kliničkih i laboratorijskih parametara te molekularnim analizama. Međunarodno društvo za histiocitozu je 1991. godine definiralo osnovne dijagnostičke smjernice za lakše postavljanje dijagnoze koje su uključivale sljedeće kardinalne pokazatelje: produljenu vrućicu, nalaz hepatosplenomegalija i citopenija te hipofibrinogenemiju i/ili hipertrigliceridemiju u laboratorijskim nalazima. Na temelju novih spoznaja o etiopatogenezi bolesti, smjernice su revidirane 2007. godine uvođenjem novih kriterija koji uključuju odsutnu ili nedostatnu aktivnost NK-stanica, hiperferitinemiju i povišenu razinu serumskog (topljivog) α -lanca receptora za interleukin 2 (IL-2R α , sCD25) (2). Prema novim smjernicama, dijagnoza bolesti postavlja se nalazom 5 od 8 navedenih kriterija (1-2). Međutim, klinički znakovi kao i upalni parametri često nisu prisutni u početku bolesti, a familijarna hemofagocitna limfohistiocitoza bez pravodobnog početka liječenja ima fatalni ishod u periodu od samo nekoliko tjedana do 2 mjeseca. Stoga se prema revidiranim smjernicama dijagnoza familijarne hemofagocitne limfohistiocitoze može postaviti i bez nalaza svih parametara u slučaju pozitivne obiteljske anamneze ili dokazanih mutacija.

Gotovo 50% bolesnika ima zahvaćen središnji živčani sustav (SŽS), od kojih se trećina prezentira sa znakovima infiltracije središnjeg živčanog sustava u obliku konvulzija, iritabilnosti, hipotonije, paralize kranijalnih živaca, hidrocefalusa, opistotonusa i sl. Često se bolesnici sa zahvaćenim SŽS-om otkrivaju tek nakon analize cerebrospinalnog likvora u kojem se karakteristično nalazi pleocitoza uz povišene razine proteina te sliku infiltracije limfohistiocitima. Pored hemofagocitoze, u velikog broja bolesnika hi-

stološki se dokazuje kronični perzistentni hepatitis s periportalnom limfocitnom infiltracijom (1-2). Stoga se hepatitis ili abnormalne vrijednosti jetrenih enzima u kontekstu ostalih pokazatelja hiperinflamacije u djeteta trebaju uzeti kao moguća HLH. Često se opisuju i simptomi poput limfadenopatije, anoreksije, žutice i ascitesa, pleuralnog izljeva, hipoproteinemije, hiponatriemije, dislipidemije (povišena razina VLDL-a i smanjena razina HLD-a) te kožnih eflorescencija, ponajčešće makulopapularnog osipa.

Signifikantni laboratorijski nalazi su citopenija, hipetrigliceridemija i/ili hipofibrinogenemija, hiperferitinemija, povišeni jetreni enzimi i LDH.

Hemofagocitna limfohistiocitoza se često prezentira simptomima sličnim sepsi, zbog čega se dijagnoza postavlja kasno ili se čak i previda. Kliničko pogoršanje septičnog stanja unatoč adekvatnom liječenju treba upozoriti liječnike na moguću dijagnozu HLH. Hemofagocitoza, iako karakteristična za bolest, često se ne nalazi na početku bolesti što dodatno može dovesti do odgode postavljanja dijagnoze i odgovarajućeg liječenja.

Klasična dijagnostička obrada uključuje anamnezu na temelju koje se već može opravdano posumnjati na familijarni oblik HLH. Dijagnozu dokazujemo, odnosno isključujemo daljnjom obradom koja uključuje KKS, biokemijske, imunološke i serološke parametre te punkciju koštane srži radi citomorfološke, citogenetičke, molekulske i imunofenotipske analize kojima dokazujemo moguću osnovnu bolest koja predisponira za razvoj HLH (infekciju, autoimunost ili limfoproliferaciju).

Zbog posebnog značenja zahvaćenosti središnjeg živčanog sustava, kako prognostičkog tako i terapijskog (potreba za traženjem prihvatljivog donora za TKMS), u osnovnoj obradi potrebno je učiniti i lumbalnu punkciju i analizu cerebrospinalnog likvora.

Tablica 2. Revidirani dijagnostički kriteriji za HLH prema Henteru i suradnicima (ref. 2).

A. Molekularna dijagnoza: mutacija PRF1, UNC13D, Munc 18-2, Rab27a, STX11, SH2D1A ili BIRC4
ili
B. Pet od 8 sljedećih kriterija:
1. vrućica $>38,5^{\circ}\text{C}$
2. splenomegalija
3. citopenija minimalno 2 od 3 linije u perifernoj krvi: Hgb $<90\text{ g/dL}$, Trc $<100 \times 10^3/\text{mL}$, neutrofili $<1 \times 10^3/\text{mL}$
4. hipertrigliceridemija (natašte) $\geq 265\text{ mg/dL}$ i/ili hipofibrinogenemija $< 150\text{ mg/dL}$
5. feritin $\geq 500\mu\text{g/L}$
6. serumski sCD25 (α -lanac topljivog receptora za IL-2) $\geq 2400\text{ U/mL}$
7. smanjena ili nedostatna aktivnost NK-stanica
8. hemofagocitoza u koštanoj srži, cerebrospinalnom likvoru, jetri ili limfnim čvorovima

Detekcija i identifikacija genetskih mutacija smatra se danas neophodnom ne samo zbog mogućnosti dijagnosticiranja i adekvatnog liječenja primarne HLH, već i zbog mogućnosti prenatalne dijagnostike i genetskog savjetovanja obitelji s identificiranom mutacijom.

Budući da genetska analiza zahtjeva određeno vrijeme, a neliječena hemofagocitna limfohistiocitoza je izrazito progresivna, uvriježen je stav da se ne treba čekati rezultat analize jer je početak liječenja jednak i za primarnu i sekundarnu HLH. Stoga se liječnik mora osloniti na sve navedene komplementarne metode i nalaze kojima se može relativno rano potkrijepiti dijagnoza bolesti.

Neizostavan dio dijagnostičke obrade danas čini analiza biomarkera inflamacije, od kojih se posebice ističe topljivi α -lanac receptora za IL-2 (sCD25) čije koncentracije u serumu >2400 U/L predstavljaju izrazito specifičan nalaz za HLH i izravno korelira sa stupnjem aktivacije limfocita T (5). Međutim, zbog nemogućnosti određivanja sCD25 u mnogim laboratorijima preporučuje se analiza koncentracije feritina u serumu. Iako je prema smjernicama koncentracija feritina >500 $\mu\text{g/L}$ signifikantna, takav nalaz je nespecifičan budući da se pojavljuje u svim hiperinflamatornim stanjima (feritin je reaktant akutne faze upale). Međutim koncentracije >10.000 $\mu\text{g/L}$ koje se detektiraju u aktivnoj HLH su visoko specifične za bolest te imaju ne samo dijagnostički već i prognostički značaj (smanjenje razine nakon uspješne terapije, porast pri reaktivacije bolesti).

Dakle, dijagnostička obrada ima za cilj:

- isključiti malignu, reumatsku ili metaboličku bolest
- identificirati infektivnog uzročnika
- utvrditi zahvaćenost središnjeg živčanog sustava

- genetskim testiranjem omogućiti prenatalnu dijagnostiku i genetsko savjetovanje obiteljima

Liječenje

Neliječena familijarna hemofagocitna limfohistiocitoza je bez iznimke fatalna bolest, a jedini dokazani kurativni oblik liječenja jest alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) (1-2).

Glavni cilj u početnoj fazi liječenja HLH jest suzbijanje hiperinflamacije i hipercitokinemije primjenom imunosupresivnih lijekova, što obično dovodi do rezolucije kliničkih simptoma (hepatosplenomegalije i simptoma sa strane središnjeg živčanog sustava), kao i životno ugrožavajuće citopenije i koagulopatije.

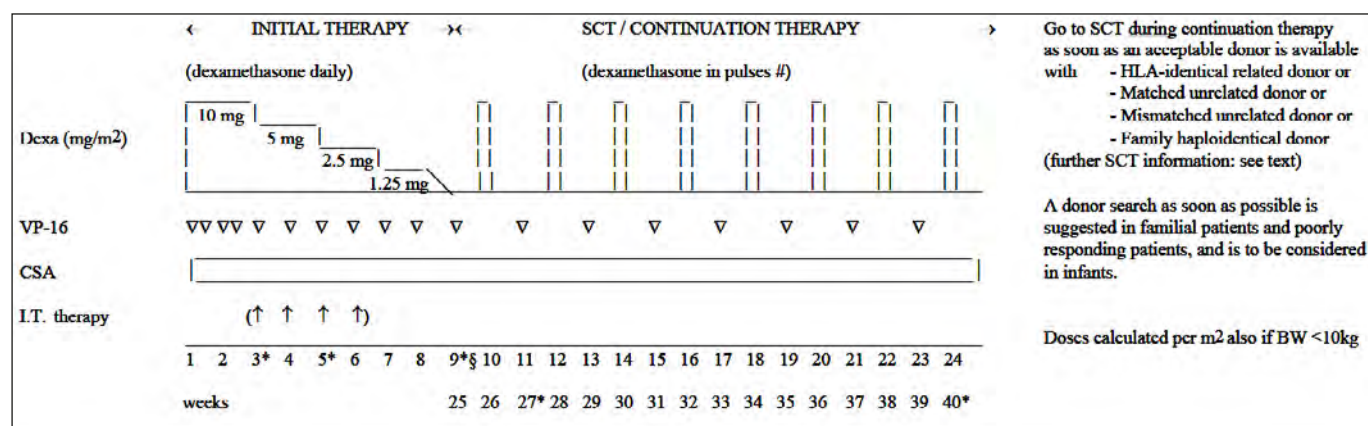
Sekundarni cilj liječenja jest eliminacija antigenpredočnih stanica koje čine trajni izvor podražaja za neadekvatnu pojačanu imunosnu aktivaciju citotoksičnih limfocita.

Učinkovita kombinacija imunosupresivskih i citotoksičnih lijekova - etopozid (VP-16), deksametazon i ciklosporin A - danas čini temelj modernog liječenja HLH. Većina centara koristi protokol liječenja HLH-2004 koji se sastoji od faze indukcije (tjedan 1-8) i faze održavanja (od 9-40 tjedna) te, ako je indicirano, transplantacije krvotvornih matičnih stanica.

Cilj induksijske faze jest uvesti bolesnika u remisiju bolesti (kliničku i laboratorijsku) koja se u većini bolesnika postiže već unutar dva tjedna liječenja. Perzistiranje simptoma predstavlja loš prognostički znak pa takvi bolesnici često zahtijevaju liječenje transplantacijom krvotvornim matičnim stanicama.

U protokolu HLH 2004 ciklosporin A se uvodi od prvog dana indukcije, a doza je određena koncentracijom lijeka u plazmi koja treba iznositi 200 $\mu\text{g/L}$.

Tablica 3. Shema protokola HLH-2004 za liječenje hemofagocitne limfohistiocitoze prema Henteru i sur., 2007. (preuzeto iz ref. 2).



Uloga faze održavanja jest spriječavanje reaktivacije primarne hemofagocitne limfohistiocitoze, kao i teških oblika sekundarne HLH u tijeku traganja za podobnim donorom za TKMS.

Zbog težine bolesti te nuspojava kemoterapeutika potrebno je adekvatno praćenje bolesnika, što uključuje određivanje KKS-a, kreatinina i elektrolita, biomarkera inflamacije, analize cerebrospinalnog likvora, MR-a i sl. Također, detekcija mogućeg infektivnog čimbenika kao okidača pretjerane imunosne reakcije zahtjeva adekvatno liječenje.

U većine bolesnika, a posebice u onih s teškim oblikom bolesti sa znakovima oštećenja organa te u dojenčadi potrebno je započeti postupak traženja odgovarajućeg darivatelja krvotvornih matičnih stanica. U zadnje se vrijeme sve više opisuju i primjena humaniziranog monoklonskog protutijela rituksimaba u HLH-u povezanim s Epstein Barrovim virusom, a koje brže dovodi do stabilizacije općeg stanja bolesnika.

Poseban problem predstavljaju bolesnici s rezistentnom bolešću na liječenje. Protokol HLH 2004 nema drugu liniju terapije, međutim opisuju se alternativni načini liječenja s primjenom anti-timocitnim globulinom i deksametazonom.

Zaključak

Rana dijagnostika hemofagocitne limfohistiocitoze te pravovremeno liječenje presudno je za prognozu bolesti koja bez odgovarajućeg liječenja ima infaustnu prognozu. Bolest se najčešće prezentira simptomima sličnim sepsi zbog čega se dijagnoza postavlja kasno ili se čak i previdi. Kliničko pogoršanje septičnog stanja, unatoč adekvatnom liječenju, treba upozoriti liječnika na moguću dijagnozu HLH. Hemofagocitoza, iako obilježava bolest, često nije prisutna u početku bolesti te se liječenje ne smije odgađati. Za razliku od uniformnog protokola liječenja primarne HLH (faza indukcije, faza održavanja, TKMS), stečena hemofagocitna limfohistiocitoza se liječi individualno, ovisno o težini kliničke slike.

Literatura:

1. Janka GE. Hemophagocytic syndromes. *Blood Rev.* 2007;21(5):245-53.
2. Henter JI, Horne A, Aricó M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, Ladisch S, McClain K, Webb D, Winiarski J, Janka G.. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer.* 2007;48(2):124-31.
3. Ishii E, Ohga S, Imashuku S, Kimura N, Ueda I, Morimoto A, Yamamoto K, Yasukawa M. Review of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in children with focus on Japanese experiences. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005;53(3):209-23.
4. Farquhar JW, Claireaux AE. Familial haemophagocytic reticulosis. *Arch Dis Child.* 1952;27(136):519-25.
5. Imashuku S, Hibi S, Sako M, Ishida Y, Mugishima H, Chen J, Tsunematsu Y. Soluble interleukin-2 receptor: a useful prognostic factor for patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 1995;86(12):4706-7.

Dubravka Sertić, Dijana Perčin: Fotografije s posljednjeg sastanka KROHEM-a u Trakošćanu u svibnju 2012.



