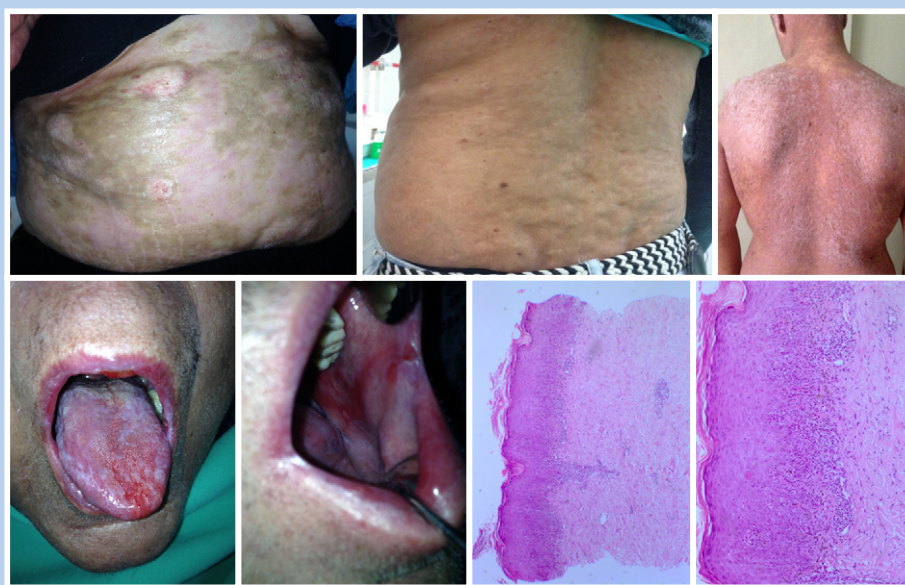


Bilten Krohema

Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KROHEM



3rd International Symposium
and Advanced Postgraduate Course in
**CHRONIC GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE:
CLINICAL PRACTICE AND RESEARCH**

Zagreb, Croatia
September 19 – 21, 2016


SYNDICATU U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Krohema



<https://eventyco.com/e/12179>

Volumen 8., Broj 1.

Krohema

Impresum

Bilten Krohema
Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KROHEM
Volumen 8., Broj 1., Travanj 2016.

Nakladnik:

Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti KROHEM

Za nakladnika:

Damir Nemet

Glavni urednik:

Dražen Pulanić

Tajnica Uredništva:

Lana Desnica

Uredništvo:

Srđana Čulić, Ivan Host, Inga Mandac Rogulj, Vlatka Periša, Mario Piršić

Tajnica KROHEM-a:

Dijana Perčin

Autori tekstova:

Radmila Ajduković-Stojisavljević

Ivan Alerić

Višnja Armanda

Josip Baković

Ana Boban

Drago Batinić

Ines Bojanić

Ernest Bilić

Ervina Bilić

Romana Čeović

Srđana Čulić

Lana Desnica

Nadira Duraković

Davorka Dušek

Ranka Femenić

Antonella Geljić

Magdalena Grce

Višnja Hariš

Ivana Horvat

Gordana Jakovljević

Ozren Jakšić

Željko Jonjić

Tajana Klepac Pulanić

Josip Konja

Dubravka Kuljiš

Dina Ljubas

Inga Mandac Rogulj

Marko Martinović

Nikolina Matic

Toni Matic

Sanja Mazić

Vibor Milunović

Zdravko Mitrović

Marinka Mravak-Stipetić

Damir Nemet

Slobodanka Ostojić Kolonić

Steven Živko Pavletić

Maja Pavlović

Vlatko Pejša

Dijana Perčin

Zinaida Perić

Vlatka Periša

Igor Petriček

Ana Petrović-Gluščić

Mario Piršić

Ana Planinc-Peraica

Iva Ozana Prah

Ema Prenc

Dražen Pulanić

Margareta Radić Antolic

Ljubica Rajić

Goran Rinčić

Jelena Roganović

Ranka Serventi-Seiwerth

Jasminka Stepan

Igor Stipančić

Marijo Vodanović

Radovan Vrhovac

Tamara Vukić

Renata Zadro

Silva Zupančić Šalek

Uputa suradnicima:

Materijali se šalju na adresu Uredništva „Bilten Krohema“, Buzinski prilaz 10, 10 010 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 slika na naslovnici:

Kožne promjene u bolesnika s kroničnim GVHD, ustupljeno i priređeno ljubaznošću prof. dr. sc. **Romane Čeović**, Klinika za dermatovenerologiju, Klinički bolnički centar Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.

Patohistološke slike kožnog kroničnog GVHD ustupljene su i priređene ljubaznošću dr. sc. **Ivane Ilić**, Klinički zavod za patologiju i citologiju, KBC Zagreb.

Oralni kronični GVHD, ustupljeno i priređeno ljubaznošću prof. dr. sc. **Marinke Mravak-Stipetić**, Zavod za oralnu patologiju, Klinika za stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Sadržaj

Damir Nemet:

Uvodnik	2
---------------	---

Ivana Horvat, Margareta Radić Antolic, Renata Zadro:

Klinička značajnost kvantifikacije mutacije V617F u bolesnika s Ph(-) MPN	3
---	---

Srdana Čulić:

Međunarodni registar i studija za kroničnu mijeloičnu leukemiju u djece i adolescenata - rezultati i objavljeni radovi	7
--	---

Ernest Bilić, Antonella Geljić, Ranka Femenić, Srdana Čulić, Jelena Roganović, Gordana Jakovljević, Josip Konja, Višnja Armanda, Dubravka Kuljiš, Maja Pavlović, Ana Petrović-Glušćić, Toni Matić, Jasminka Stepan, Ljubica Rajić:

Alergijska reakcija na L-asparaginazu i ishod liječenja akutne limfoblastične leukemije kod djece	10
---	----

Ernest Bilić:

Hemofilija u dječjoj dobi	14
---------------------------------	----

Zdravko Mitrović, Željko Jonjić, Višnja Hariš, Radmila Ajduković-Stojisavljević, Ozren Jakšić, Mario Piršić, Josip Baković, Igor Stipančić, Vlatko Pejša:

Laparoskopska splenektomija u liječenju imunotrombocitopenije - prikaz vlastitih iskustava	17
--	----

Marijo Vodanović, Dražen Pulanić, Ana Boban, Renata Zadro, Silva Zupančić Šalek, Damir Nemet:

Novi antikoagulantni lijekovi - mehanizam djelovanja, indikacije, antidoti	19
--	----

Inga Mandac Rogulj, Vibor Milunović, Marko Martinović, Goran Rinčić, Ana Planinc-Peraica, Slobodanka Ostojić Kolonić:

Izražaj microRNA u mijelodisplastičnom sindromu	24
---	----

Nadira Duraković:

JACIE akreditacija programa transplantacije krvotvornih matičnih stanica u KBC Zagreb	28
---	----

Dražen Pulanić, Lana Desnica, Ranka Serventi-Seiwerth, Marinka Mravak-Stipetić, Ervina Bilić, Romana Čeović, Nikolina Matić, Nadira Duraković, Zinaida Perić, Ljubica Rajić, Ernest Bilić, Tajana Klepac Pulanić, Igor Petriček, Dina Ljubas, Tamara Vukić, Ivan Alerić, Davorka Dušek, Toni Matić, Ines Bojanić, Sanja Mazić, Ema Prenc, Iva Ozana Prah, Magdalena Grce, Drago Batinić, Renata Zadro, Radovan Vrhovac, Steven Živko Pavletić, Damir Nemet:

Kronična bolest presatka protiv primatelja u KBC Zagreb – stručni i znanstveno-istraživački izazovi ..	30
--	----

Vlatka Periša:

Kalendar predstojećih hematoloških skupova	33
--	----

Dijana Perčin:

Izbori za upravljačka tijela KROHEM-a u Zadru	35
---	----

Dubravka Sertić:

Fotografije s posljednjeg sastanka KROHEM-a u Zadru u studenome 2015. godine	37
--	----

Uvodnik

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

u proteklih nekoliko mjeseci učinili smo niz važnih koraka bitnih za opstojnost naše udruge, njeno još bolje funkcioniranje i napredak u radu kao i stručni i znanstveni napredak naših članova ponaosob.

Tijekom jesenskog sastanka održana je Izborna skupština te su izabrana nova upravljačka tijela KROHEM-a. Tom prilikom je izglasan i novi Statut KROHEM-a što je bila obveza zbog odredbi novog Zakona o udrugama. Radilo se uglavnom o formalnom usklađivanju, a u funkcioniranju KROHEM-a u sadržajnom smislu nema bitnih promjena. Svu potrebnu dokumentaciju predali smo u Gradski ured za udruge Grada Zagreba i postupak registracije KROHEM-a u skladu s odredbama novog Zakona je u tijeku.

U prethodnom periodu iznijeli smo ideje o osnivanju fonda za edukaciju i stipendiranje edukacije mladih članova te fonda za podršku stručnim i znanstvenim projektima koji se odvijaju unutar KROHEM-a. U tom pravcu poduzete su prve aktivnosti za osnivanje Zaklade za stipendiranje mladih članova (stipendije za razne vrste edukacija, uključivo npr. plaćanje školarina doktorskog studija). U tijeku je izrada potrebne dokumentacije za osnivanje Zaklade. Početna sredstva za Zakladu izdvojiti će se iz financijskih sredstava KROHEM-a. Također se donijela odluka o osnivanju Fonda za unaprjeđenje stručnog i znanstvenog rada KROHEM-a iz kojeg će se financirati troškovi znanstvenih projekata koje provode članovi i radne skupine KROHEM-a. To znači da će postojati posebna financijska sredstva za koje će se članovi i radne skupine KROHEM-a svojim programima natjecati.

U listopadu prošle godine završeno je dvogodišnje projektno razdoblje projekta „Clinical and biological factors determining severity and activity of chronic graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation“. Završetak projektnog perioda ne znači prestanak rada na istraživanju problema kroničnog GvHD-a, već je projekt poslužio kao značajan poticaj i zamašnjak afirmaciji zagrebačkog tima za kronični GvHD u svijetu. Rad i rezultati projekta opisani su u ovom broju Biltena.

U rujnu se organizira treći simpozij i napredni tečaj o kroničnom GvHD i kasnim komplikacijama transplantacije krvotvornih matičnih stanica u Zagrebu. Predavači su najistaknutiji svjetski stručnjaci iz ovog područja, a značajan dio programa pripada timu iz Zagreba.

U svibnju ove godine ponovno se u Zagrebu održava vrlo kvalitetan sastanak „2016 European Focus on

Myeloproliferative Neoplasms and Myelodysplastic Syndromes“. KROHEM će ponovno kao i prošle godine sponzorirati troškove kotizacije mladim članovima, prvenstveno specijalizantima hematologije i time omogućiti njihovo sudjelovanje na ovom vrlo vrijednom edukativnom sastanku.

Svi registri bolesnika su sada u punoj funkciji te podsjećam da je to jedan od najznačajnijih projekata KROHEM-a. Posebno se pozivaju mlađi, ali i ostali članovi, na veću aktivnost u upisivanju bolesnika u registre. Uz to, upisivanje određenog broja bolesnika u registre je i uvjet za članstvo u KROHEM-u.

Kao što smo članove već u više navrata obavještavali, nužno je upotpuniti podatke o članstvu u Registru članova. Postojanje Registra članova je zakonska obveza, pogotovo nakon stupanja na snagu novog Zakona o udrugama. Pomoću Registra članova također je važno pratiti aktivnosti članova što je jedan od uvjeta članstva i uživanja pogodnosti članstva u KROHEM-u. Na sjednici Upravnog odbora KROHEM-a 16. ožujka 2016. obavljena je analiza aktivnosti svih članova pojedinačno i na temelju toga učinjena je revizija članstva. Tako je u jednog dijela članova promijenjen status članstva pa su npr. od redovitih članova postali izvanredni. Važno je da članovi redovito registriraju svoje aktivnosti u Registru članova, te također da obavještavaju administraciju KROHEM-a o promjeni svog statusa (npr. položenom specijalističkom ispitu što ih kvalificira za promjenu statusa iz pričuvnog u redovitog i slično).

Jesenski sastanak KROHEM-a se planira od 3. do 5. studenog, mjesto sastanka će biti vjerojatno Lovran. Čini se da je svaki novi polugodišnji sastanak KROHEM-a bolji od prethodnog, atmosfera je uvijek vrlo stimulativna, a interes za sudjelovanje raste. Obzirom na praksu da su sastanci KROHEM-a za sve članove besplatni i do detalja organizirani, uvijek je potrebno osigurati sve veća financijska sredstva za sve aktivnosti. Za sada je, međutim, financijska stabilnost dobra, znatno bolja nego prije nekoliko godina, zbog čega možemo planirati i organizirati nove aktivnosti KROHEM-a koje ga čine pravom kooperativnom udrugom koja uz edukaciju provodi i stručne i znanstvene aktivnosti. To je već i sada vidljivo povećanjem broja publikacija koje su proizvod projekata KROHEM-a, a ostvarenjem spomenutih planova i ustrajnim radom doseći će onu razinu koju želimo.

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

Klinička značajnost kvantifikacije mutacije V617F u bolesnika s Ph(-) MPN

**Ivana Horvat, Margareta Radić Antolic,
Renata Zadro**

Adresa autora za dopisivanje:

*Ivana Horvat, spec. med.biokemije i laboratorijske
medicine*

Odjel za laboratorijsku hematologiju i koagulaciju

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku

Klinički bolnički centar Zagreb

E-pošta: ivanahorvat13@gmail.com

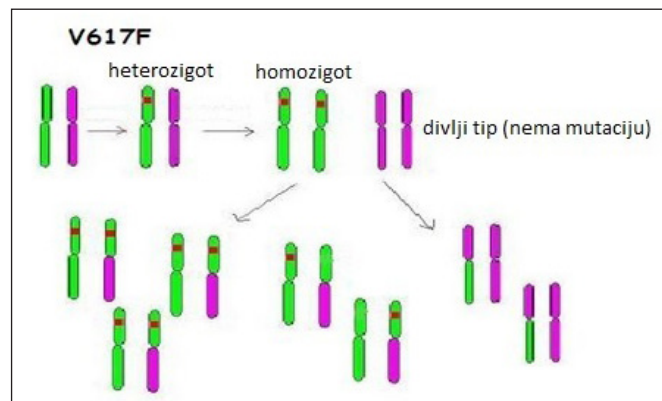
Otkriće stečene mutacije V617F u genu za *JAK2* 2005. godine bilo je presedan za jednostavnije postavljanje dijagnoze Ph(-) mijeloproliferativnih neoplazmi. Kao bitan molekularni biljeg koji ukazuje na klonalno podrijetlo bolesti uvršten je i u smjernice Svjetske zdravstvene organizacije (WHO) 2008. godine. Istodobno WHO mjenja naziv Ph(-) mijeloproliferativni poremećaji u mijeloproliferativne neoplazme, naglašavajući neoplastičku prirodu ovih bolesti.

Mutaciju V617F nalazimo u čak 95% bolesnika s policitemijom verom (PV), 60-65% bolesnika s esencijalnom trombocitozom (ET) te 60-65% bolesnika s primarnom mijelofibrozo (PMF) (1).

Gen *JAK2* (Janus kinaza 2) kodira protein JAK2 s glavnom ulogom u signalnom putu za proliferaciju mijeloidne loze. Stoga, kao posljedica mutacije u genu, protein više nema normalnu funkciju već neovisno o potrebama stvara signale koji potiču konstantnu proliferaciju eritrocita i/ili leukocita i/ili trombocita. Međutim, nakon otkrića ove mutacije nije bilo potpuno jasno kako jedna mutacija uzrokuje različite fenotipove bolesti koje prepoznavamo kao PV, ET i PMF. Proučavanjem signalnih puteva na koje utječe ova mutacija, te njenom kvantifikacijom („opterećenje mutiranim alelom V617F“) mnogi autori približili su se razjašnjavanju tog fenomena (1,2).

Svaka hematopoetska stanica s jezgrom ima dva alela gena *JAK2*. Ako stečena mutacija V617F nastane samo na jednom alelu, takva vrsta stanice je heterozigotna za mutaciju V617F. S obzirom na to da ova mutacija nastaje najčešće na razini progenitorske usmjerene matične stanice koja se dijeli mitotičkom rekombinacijom, za očekivati je, nakon dužeg vre-

mena, da će većina mijeloidnih stanica zahvaćenih mutacijom steći mutaciju V617F i na drugom alelu. Takva stanica s oba mutirana alela je homozigotna za mutaciju V617F (3).



Slika 1. Mitotička rekombinacija V617F mutirane stanice.

Što znači kvantifikacija mutacije V617F?

Postupak u kojem u uzorku granulocitne ili leukocitne DNA kvantitativno određujemo broj kopija mutiranog alela V617F nazivamo „opterećenje mutiranim alelom“. U toj analizi kvantificira se broj mutiranih alela u odnosu na ukupan broj alela u uzorku (mutiranih i nemutiranih-„divlji tip“). Ako je rezultat < 50 % mutiranih alela takvo opterećenje nazivamo heterozigotom za mutaciju, dok rezultat > 50% ukazuje na homozigota za mutaciju.

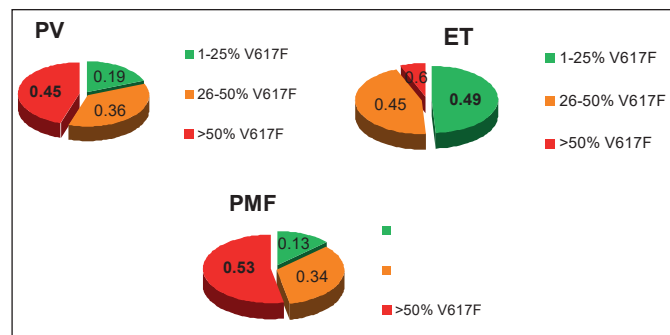
$$\frac{\text{broj alela koji imaju mutaciju}}{\text{broj ukupnih alela}} \times 100 = \%$$

$\frac{2500}{2500+20000} \times 100 = 11,1\%$ Heterozigot	$\frac{35000}{35000+20000} \times 100 = 63,6\%$ Homozigot
--	--

Slika 2. Primjeri izračuna opterećenja mutiranim alelom V617F.

Kakve vrijednosti opterećenja V617F očekujemo kod pojedinih dijagnoza?

Istraživanja su pokazala da većina PV i PMF bolesnika imaju homozigotni status mutacije V617F, dok kod ET prevladavaju heterozigoti (4,5).



Slika 3. Udio bolesnika prema dijagnozi i prema % opterećenja mutiranim alelom V617F.

Zašto određivati opterećenje mutiranim alelom V617F JAK2?

Postoji niz poveznica između opterećenja mutacijom V617F i moguće kliničke primjene. U tekstu dalje biti će navedene neke od najčešćih mogućih primjena ove analize.

Klinička slika i procjena rizika za trombozu kod PV i ET bolesnika

Kod PV bolesnika viša vrijednost opterećenja mutiranim alelom bila je povezana sa stimuliranom eritropoezom i mijelopoezom (viši hematokrit, niža koncentracija eritropoetina, viši broj leukocita i % neutrofila u diferencijalnoj krvnoj slici te viša koncentracija laktat dehidrogenaze u serumu).

Uspoređujući PV bolesnike sa < 25% mutiranog alela i one s mutiranim alelom > 75% oni s višim postotkom imali su veći rizik za kardiovaskularne događaje, veću slezenu, pojavu pruritusa, te potrebu za kemoterapijom. Ovi rezultati pokazuju da PV bolesnici s opterećenjem mutiranim alelom > 75% predstavljaju skupinu visokorizičnih bolesnika (6).

S time se slažu i rezultati istraživanja koje je uspoređivalo PV i ET heterozigote i homozigote. Uočeno je da u obje bolesti homozigoti imaju stimuliranu eritropoezu, mijelopoezu, niži broj trombocita, splenomegaliju i potrebu za citoreduktivnom terapijom, a također je u PV homozigota bila veća učestalost pruritusa (7).

Antonioli i sur. su u retrospektivnom istraživanju pokazali da su ET bolesnici većinom heterozigoti za mutaciju sa srednjim opterećenjem mutiranog alela 24% (raspon 1-87%), dok je opterećenje mutiranim alelom V617F > 51% imalo samo 5% bolesnika (8). Stariji bolesnici imali su i veće opterećenje. Ujedno je uočena povezanost većeg opterećenja mutacijom

s većom učestalošću arterijske tromboze u trenutku dijagnosticiranja, no ne i s nastankom venske tromboze. Iz toga je zaključeno da je veći rizik za nastanak arterijske tromboze u ET bolesnika koji imaju > 25% mutiranog alela.

Veliko retrospektivno istraživanje Carrobbioa i sur. koje je obuhvatilo ukupno 1282 PV i ET bolesnika dijagnosticiranih kroz 30 godina pokazalo je da oni s mutiranim alelom između 26-50% te oni s > 50% mutiranog alela imaju najveći rizik za nastanak tromboze (4). U prvih 5 godina od postavljanja dijagnoze PV ili ET, rizik za nastanak tromboze bio je viši kod PV bolesnika. Međutim, 5 godina nakon dijagnoze visoki postotak opterećenja mutiranim alelom bio je najjači rizični faktor povezan s nastankom tromboze, a istodobno dijagnoza više nije imala utjecaja. Ujedno je uočen i kontinuirani porast opterećenja mutiranim alelom kroz godine i kod ET i PV, iako hematološki parametri nisu ukazivali na progresiju bolesti iz ET u PV.

Oprečno ovim saznanjima rezultati istraživanja Alvarez-Larana i sur. ukazuju na to da se samo kod manjeg broja ET bolesnika % opterećenja mutiranim alelom mijenja s vremenom za razliku od PV bolesnika kod kojih se s vremenom povećava postotak opterećenja (9). PV i ET bolesnici s opterećenjem mutiranim alelom > 50% ili naglim padom (nevezanim za terapiju) ili porastom postotka mutiranog alela imali su veći rizik za nastanak vaskularnih komplikacija. Moguć uzrok tome je i starija dob ispitivanih bolesnika koja predstavlja neovisan faktor rizika za nastanak tromboze.

Nastanak mijelofibroze u PV i ET bolesnika

PV i ET bolesnici kojima je opterećenje mutiranim alelom stalno > 50% te bolesnici s neobjašnjivim porastom ili padom postotka mutiranog alela imali su značajno veći rizik za nastanak mijelofibroze (9). Slični rezultati dobiveni su u istraživanju gdje su PV i ET bolesnici s homozigotnim statusom imali veći rizik za transformaciju u fibrozu u odnosu na heterozigote (7). Ove rezultate potkrepljuje i istraživanje Silvera i sur. u kojem je opterećenje mutiranim alelom > 80% kod PV bolesnika povezano sa snažnijim simptomima bolesti, većom splenomegalijom i većim stupnjem fibroze (10).

Utjecaj mutacije V617F na prognozu, preživljenje i trombozu kod PMF bolesnika

Poznato je da PMF bolesnici imaju kraće preživljenje u odnosu na PV i ET bolesnike. S obzirom na to da dužina preživljenja PMF bolesnika varira od nekoliko mjeseci do desetljeća, važno je identificirati faktore koji utječu na preživljenje kako bi se kod visokorizičnih bolesnika pravovremeno mogao primijeniti odgovarajući postupak liječenja. U istraživanju koje je uključivalo 186 PMF bolesnika, dokazana je statistički značajna povezanost između većeg opterećenja mutiranim alelom i naglašenijeg mijeloproliferativnog fenotipa, ipak nije nađena razlika u preživljenju ili transformaciji u leukemiju u odnosu na bolesnike koji nemaju mutaciju V617F (5,7). Oprečno tome, rezultati istraživanja Campbella i sur. pokazali su da PMF bolesnici s mutacijom V617F imaju kraće preživljenje u odnosu na one bez mutacije (11).

U nekoliko istraživanja dobiveni rezultati ukazuju da bolesnici s manjim opterećenjem mutiranim alelom češće razviju anemiju i leukopeniju što je ujedno povezano i s kraćim preživljenjem. Guglielmelli i sur. zaključili su da je uzrok kraćeg preživljenja bolesnika s nižim opterećenjem V617F pojava sistemnih infekcija kao posljedica mijelodeplecije (5). U istraživanju Tefferi i sur. nađena je poveznica između manjeg opterećenja mutiranim alelom i većeg rizika za transformaciju u leukemiju (sumnja da postoji neki dominantniji klon stanica od klona s V617F mutacijom koji možda uzrokuje bržu transformaciju bolesti). Time bi se objasnila i transformacija V617F pozitivnih bolesnika s PMF u V617F negativnu leukemiju (12).

Veliko multicentrično istraživanje Barbuia i sur. provedeno na 707 PMF bolesnika ukazalo je da veći rizik za trombozu imaju V617F pozitivni bolesnici stariji od 60 godina s leukocitozom (13).

Opterećenje mutiranim alelom moglo bi služiti i u svrhu razlikovanja bolesnika s prefibrotičkom fazom PMF koji uglavnom imaju opterećenje mutiranim alelom > 50% u odnosu na ET bolesnike kod kojih većina ima opterećenje < 40% (7).

Opterećenje mutiranim alelom V617F kao biljeg odgovora na terapiju

Postoje oprečni rezultati o tome smanjuje li hidroksiureja opterećenje mutiranim alelom kod PV

i ET. Veći broj istraživanja ukazuju na to da dolazi do djelomičnog sniženja (značajnije kod žena) opterećenja mutiranim alelom. Uočeno je i da V617F pozitivni PMF bolesnici imaju bolji odgovor na terapiju hidroksiurejom u odnosu na one koji nemaju V617F mutaciju.

Terapija pegiliranim interferonom kod PV i ET bolesnika u nekim istraživanjima je dovela do značajnog sniženja opterećenja mutiranim alelom, u drugih bolesnika do djelomičnog sniženja opterećenja, ili terapija uopće nije utjecala na postotak opterećenja mutiranim alelom (7,10).

Terapija JAK2 inhibitorima ispitana je u velikom istraživanju Deiningera i sur. provedenom na PMF bolesnicima te bolesnicima s post-PV i post-ET mijelofibrozoj koji su bili na dugoj terapiji ruxolitinibom (od 6 do 54 mjeseca) (14). Neovisno o tome jesu li bolesnici pri dijagnozi imali visoko ili nisko opterećenje mutiranim alelom kod svih je došlo je do sniženja postotka mutacije koje je koreliralo sa smanjenjem volumena slezene, no nije koreliralo s promjenom hematoloških parametara niti morfologijom koštane srži. Uočeno je da su bolesnici koji su prije započeli s terapijom kao i PMF bolesnici srednjeg rizika imali bolji odgovor na terapiju ruxolitinibom.

Opterećenje mutiranim alelom V617F kao molekularni biljeg za praćenje nakon transplantacije matičnih stanica kod bolesnika s PMF

Nekoliko istraživanja pokazalo je da transplantirani V617F pozitivni PMF bolesnici, koji su 3-6 mjeseci nakon transplantacije postali negativni na mutaciju rjeđe su doživjeli relaps bolesti (7,15). U istraživanju Langea i sur. postavljeno je pitanje vrste uzorka potrebne za određivanje opterećenja mutiranim alelom nakon transplantacije matičnih stanica (koštana srž ili periferna krv) te u kojem vremenskom periodu nakon transplantacije je potrebno kvantificirati mutaciju (15). Pokazano je da ne postoji značajna razlika u rezultatu opterećenja mutiranim alelom između periferne krvi i koštane srži. Ujedno je zaključeno da bolesnici s opterećenjem mutiranim alelom < 1%, 28 dana nakon transplantacije, imaju značajno manji rizik za relaps bolesti. Ovo saznanje moglo bi omogućiti svrstavanje bolesnika u rizične skupine i pravovremenu terapiju kod visokorizičnih bolesnika poput snižavanja doze imunosupresiva ili infuzije donorskih limfocita.

U zaključku, pregled navedenih istraživanja ukazao je na oprečne rezultate. Većina podataka dobivena je retrospektivnim istraživanjima ili prospektivnim istraživanjima na malom broju bolesnika. Za procjenu prediktivne vrijednosti i kliničke značajnosti ove analize potrebna su daljnja prospektivna istraživanja na većem broju bolesnika koristeći pri tome analitički osjetljive metode.

Literatura:

1. Cazzola M. i Kralovics R. From Janus kinase 2 to calreticulin: the clinically relevant genomic landscape of myeloproliferative neoplasm. *Blood* 2014;123:3714-19.
2. Kilpivaara O i Levine RL. JAK2 and MPL mutations in myeloproliferative neoplasms: discovery and science. *Leukemia* 2008;22:1813-17.
3. Wang L., Swierczek SI, Lanikova L, Kim SJ, Hickman K, Walker K i sur. The relationship of JAK2 V617F and acquired UPD at chromosome 9p in polycythemia vera. *Leukemia* 2014;28:938-41.
4. Carrobio A, Finazzi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Dellacasa CM i sur. JAK2 V617F allele burden and thrombosis: a direct comparison in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 2009;37:1016-21.
5. Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G, Rambaldi A, Lo Coco F, Antonioli E i sur. Identification of patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on the burden of JAK2V617F mutated allele. *Blood* 2009;114:1477-83.
6. Vannuchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Longo G, Pancrazzi A, Ponziani V i sur. Prospective identification of high-risk polycythemia vera patients based on JAK2 V617F allele burden. *Leukemia* 2007;21:1952-59.
7. Vannucchi AM, Pieri L i Guglielmelli P. JAK2 allele burden in myeloproliferative neoplasms: effects on phenotype, prognosis and change treatment. *Ther Adv Hematol* 2011;2:21-32.
8. Antonioli E, Guglielmelli P, Poll G, Bogani C, Pancrazzi A, Longo G i sur. Influence of JAK2 V617F allele burden on phenotype in essential thrombocythemia. *Haematologica* 2008;93:41-8.
9. Alvarez-Larran A, Bellosillo B, Pereira A, Kerguelen A, Hernandez-Boluda JC, Martinez-Aviles L i sur. JAK2 V617F monitoring in polycythemia vera and essential thrombocythemia: Clinical usefulness for predicting myelofibrotic transformation and thrombotic events. *Am J Hematol* 2014;89:517-23.
10. Silver RT, Vandris K, Lynn Wang Y, Adriano F, Jones AV, Christos PJ i sur. JAK2 V617F allele burden in polycythemia vera correlates with grade of myelofibrosis, but is not substantially affected by therapy. *Leuk Res* 2011;35:177-82.
11. Campbell PJ, Griesshammer M, Döhner K, Döhner H, Kušec R, Hasselbalch HC i sur. V617F mutation in JAK2 is associated with poorer survival in idiopathic myelofibrosis. *Blood* 2006;107:2098-100.
12. Tefferi A, Lasho TL, Huang J, Finke C, Mesa RA, Li CY i sur. Low JAK2V617F allele burden in primary myelofibrosis, compared to either a higher allele burden or unmutated status is associated with inferior overall and leukemia-free survival. *Leukemia* 2008;22:756-61.
13. Barbui T, Carobbio A, Cervantes A, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Antonioli E i sur. Thrombosis in primary myelofibrosis: incidence and risk factors. *Blood* 2010;115:778-82.
14. Deininger M, Radich J, Burn TC, Huber R, Paranagama D i Verstovsek S. The effect of long-term ruxolitinib treatment on JAK2p.V617F allele burden in patients with myelofibrosis. *Blood* 2015;126:1551-4.
15. Lange T, Edelmann A, Siebolts U, Krahel R, Nehring C, Jäkel N i sur. JAK2 p.V617F allele burden in myeloproliferative neoplasms one month after allogeneic stem cell transplantation significantly predicts outcome and risk of relapse. *Haematologica* 2013;98:722-8.

Međunarodni registar i studija za kroničnu mijeloičnu leukemiju u djece i adolescenata - rezultati i objavljeni radovi

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

KBC Split i Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

E-pošta: srdjana.culic.sc@gmail.com

Uvod

Kronična mijeloična leukemija (engl. *Chronic Myeloid Leukemia* – CML) je vrlo rijetka u djece i adolescenata tako da se pojavljuje u manje od 5% svih slučajeva CML. Incidencija u djece raste s dobi pa je to iznimno rijetka bolest u vrlo mlade djece, a > 60% djece je starije od 10 godina života. Češća je u dječaka nego u djevojčica. Najčešći simptomi su astenija, gubitak na težini, splenomegalija i leukocitoza. Za razliku od odraslih djeca imaju veći broj leukocita kod dijagnoze (1).

Liječenje CML u djece nije standardizirano i obično slijedi smjernice liječenja u odraslih bolesnika. Preživljenje u djece oboljele od CML značajno se popravilo nakon primjene inhibitora tirozin-kinaze (engl. *Tyrosine Kinase Inhibitors* – TKI) pa s obzirom da djeca moraju primati TKI više godina pa i desetljeća, izložena su djelovanju ovih lijekova za vrijeme rasta i neophodno je pažljivo praćenje ovih bolesnika. Transplantacija krvotvornih matičnih stanica (TKMS) indicirana je jedino ako je bolest rekurentna i progresivna (2).

Desetogodišnja mogućnost preživljenja je slična u onih koji primaju TKI i transplantirane djece i adolescenata (3).

Da bi se mogao odrediti optimalan terapijski algoritam za pedijatrijsku CML potrebne su multicentrične studije dugotrajnog praćenja bolesnika što I-BFM pedijatrijska radna grupa (engl. *The I-BFM Pediatric CML Working Party*) aktivno i uspješno provodi od 2011 godine na čelu s voditeljem Fredericom Millot, a registrirani su bolesnici dijagnosticirani nakon siječnja 2000 godine. Međunarodni registar i studija (engl. *The International Registry for Chronic Myeloid Leukemia in Children and Adolescents* - I-CML-Ped-Study) osnovan je radi procjene epidemiologije, liječenja i ishoda CML u pedijatrijskoj populaciji. Glavni ciljevi ovog istraživanja u velikoj skupini bolesnika mlađih od 18 godina su utvrditi:

1. kliničke i biološke karakteristike CML,
2. prognostičke čimbenike,

3. nuspojave i dugoročne učinke liječenja TKI posebno učinak na rast i razvoj u djece,
4. koja vrsta liječenja bi bila optimalna.

Rezultati i objavljeni radovi

a) 2012. godine:

Rezultati istraživanja ove grupe, u kojoj aktivno sudjeluju brojne nacionalne pedijatrijske skupine širom svijeta pa tako i Sekcija za pedijatrijsku hematologiju i onkologiju Hrvatskog pedijatrijskog društva (engl. *Section of Pediatric Hematology and Oncology Croatian Paediatric Society* - SEPHO), prvi put su prikazani na sastanku Američkog udruženja za hematologiju (engl. *American Society for Hematology* - ASH) 2012. godine. Registrirano je 200 bolesnika iz 9 zemalja srednje dobi 11,6 godina života. 59% su bila muška djeca. Samo 8% bolesnika bilo je mlađe od 4 godine. Prema kriterijima Evropskog udruženja za leukemiju (engl. *European Leukemia Net*) kod dijagnoze 92% je bilo u kroničnoj fazi, 6% u fazi ubrzanja bolesti (engl. *Accelerated Phase* – AP) i 2% u blastičnoj krizi (engl. *Blast Crisis* - BC). Procjenom rizičnosti prema Sokalu 13% bolesnika je bilo niskog rizika, 33% srednjeg i 55% visokog rizika. Splenomegaliju je imalo 76% bolesnika (medijan 8 cm), a srednji broj leukocita je bio $250 \times 10^9/L$ (raspon: 5 do 1037), dok je 2,3% bolesnika imalo je Ph-pozitivne stanice. Sveukupno preživljenje nakon 42 mjeseca bilo je 97%. 63% bolesnika imalo je kompletan citogenetski odgovor (engl. *Complete Cytogenetic Response* - CCyR) 12 mjeseci nakon početka liječenja (43 bolesnika imatinib; prijelaz na dasatinib 3 bolesnika; interferon + cytosine arabinoside 1 bolesnik). Petero bolesnika je umrlo. Tip BCR-ABL transkripta analiziran je u 100 bolesnika: b3a2 51%, b2a2 40%, b3a2 plus b2a2 7% i b2a3 2% (4).

b) 2014. godine:

Utjecaj dodatnih citogenetskih abnormalnosti (engl. *Additional Cytogenetic Abnormalities* - ACA) kod dijagnoze na prognozu bolesti prikazan je 2014 na ASH-u. Analizirano je 239 djece i adolescenata mlađih od 18 godina, numeričke ili strukturne ACA te njihov utjecaj na CCyR. ACA je imalo sveukupno 17/239 djece (7,1%), 5/239 djece (2,1%) imalo je neku od varijanti t(9;22), 10 djece (4,2%) imalo

je neke druge numeričke ili strukturalne citogenetske abnormalnosti, a 2/239 (0,8%) imalo je oboje. Bolesnici u kroničnoj fazi kod dijagnoze ($n = 219$) imali su kumulativnu učestalost CCyR-a nakon 18 mjeseci 88% (95% CI: 82 % - 93%) dok je bila 70% (95% CI: 42% - 93%) u onih s varijantom t(9;22) ili ACA i onih s inačicom t(9;22) i/ili ACA ($p=0,151$). Troje bolesnika je umrlo od toga je jedan imao ACA kod dijagnoze. Trogodišnje ukupno preživljenje bilo je 99% (95% CI: 94% - 100%) u bolesnika u kroničnoj fazi bez varijanti t(9;22) ili ACA i 88% (95% CI: 39% - 98%) u onih s inačicom t(9;22) i/ili ACA ($p=0,042$) (5).

Iste godine na ASH-u su prikazana iskustva obzirom na prognozu bolesti. Obradeno je 278 bolesnika čiji su nalazi kod dijagnoze bili dostupni. ACA u Ph-pozitivnim stanicama dokazani su u 6% bolesnika. Osam bolesnika je umrlo. Sveukupno preživljenje nakon 60 mjeseci bilo je 95% (95% CI 89-97). Od 169 bolesnika koji su obrađeni na citogenetski odgovor 124 (73%) je postiglo CCyR. Pomoću univarijantne analize Eutos skor, veličina slezene, hematokrit, broj limfocita i nezrelih stanica u perifernoj krvi, postotak granulocita i monocita u koštanoj srži su zapaženi kao potencijalni prognostički čimbenici. Multivarijantnom analizom samo je postotak granulocita u koštanoj srži bio jedini nezavisan čimbenik u prognozi nastanka CCyR-a nakon 12 mjeseci (6).

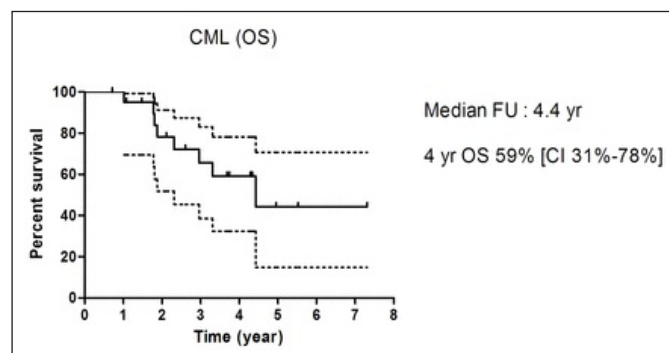
c) 2015. godine:

Sljedeće 2015 godine ponovo su prikazani rezultati na ASH-u kada je analiziran 301 pedijatrijski bolesnik mlađi od 18 godina koji je liječen imatinibom. Medijan trajanja liječenja imatinibom bio je 16 mjeseci (raspon 1-111). Na liječenje dasatinibom prešlo je 112 bolesnika. Vjerojatnost prekida na 38 mjeseci bila je 50%. Primarni uzrok promjene terapije bila je rezistencija u 47% bolesnika, nemogućnost postizanja kompletnog hematološkog odgovora u 1%, kompletnog citogenetskog odgovora u 20% ili molekularnog odgovora u 24%. Progresija bolesti je nastala u 19% bolesnika. Nehematološka toksičnost, najčešće bol u mišićima i kostima, bila je razlog prelaska na drugu liniju liječenja u 10% bolesnika. U 20% bolesnika liječnici su odlučili provesti TKMS još dok su bolesnici imali dobar molekularni odgovor. U vrijeme srednjeg praćenja bolesnika od 38 mjeseci registrirano je 8 smrtnih slučajeva, a među onima u kojih je promijenjena terapija bila su 4 transplantirana u akutnoj fazi. Uzrok smrti je vezan uz liječenje u 7 bolesnika i relaps u jednog bolesnika u kojeg nije promijenjena terapija (7).

Još jedan rad s rezultatima liječenja I-CML-Ped Study prikazan je na ASH-u iste godine u kojem su izneseni rezultati analize liječenja u AP i BP gdje su opisane karakteristike, liječenje i ishod liječenja u 21 djeteta s CML čija je bolest prešla u AP ili BC za vrijeme liječenja s TKI. U odraslih je primjenom TKI znatno reducirana učestalost AP i BC nakon primjene TKI od 20% na 1% do 1,5% dok su ovo prvi rezultati prikazani u djece.

Od 2001 godine do travnja 2015, u Europi u I-CML-Ped Study je registrirano 415 bolesnika od toga 21 bolesnik (5,1%) u kroničnoj fazi liječen s TKI prezentirao je AP ili BC. Srednja dob AP/BC uzorka je bila 13.2 godine (raspon: 4.5-16.9 godina). Kod dijagnoze, 15 bolesnika (71%) je imalo visokorizični Sokal skor s medijanom od 1,4 (raspon: 0,16-2,4). Svi su bolesnici imali t(9;22)(q34;q11) dok je jedan imao kompleksnu translokaciju t(1;9;22)(q12;q34;q11), a drugi još dodatnu inverziju inv(3)(q21q26). Imatinib je primjenjen kao prva linija liječenja u svih bolesnika. Prije AP ili BC, samo je pet bolesnika (24%) imalo CCyR i troje je postiglo veliki molekularni odgovor (engl. *Major Molecular Response* - MMR). Zbog nepotpunog molekularnog odgovora ili progresije u AP, u 8 bolesnika (38%) primjenjen je dasatinib. Medijan dužine liječenja s TKI prije AP ili BC bio je 11 mjeseci (raspon: 3 mjeseca-56.5 mjeseci). Medijan primjene TKI prije AP ili BC bio je 11 mjeseci. Od dva bolesnika koja su ostala u AP, a prije TKMS u jednog je doza imatiniba povećana, a u drugog je primjenjen dasatinib. Jedan je umro zbog komplikacija poslije transplantacije, a drugi je još živ s kompletnim molekularnim odgovorom bez TKI. 19 bolesnika je imalo BC uključujući četvero nakon AP. 13 bolesnika (62%) su razvili ALL, 5 (24%) AML i jedan bifenotipsku leukemiju. U dva bolesnika s ALL bio je zahvaćen središnji živčani sustav, jedan izolirani i jedan kombinirani. U AP ili BC, 9 bolesnika (43%) je imalo nove dodatne citogenetske abnormalnosti. 18 bolesnika u BC liječeni su AML ili ALL protokolom kombinirano s TKI druge generacije, 10 je postiglo kompletnu remisiju, četvero je umrlo prije TKMS, dvoje zbog progresije bolesti i dvoje zbog fatalne infekcije. Sveukupno je 15 bolesnika bilo transplantirano, a samo 4 bolesnika su postigla kompletni molekularni odgovor. Nakon transplantacije 7 bolesnika je primalo TKI druge generacije. 13 bolesnika je živo, ali jedan s ALL BC imao je relaps 26 mjeseci nakon transplantacije i čeka na drugu TKMS. Medijan prećenja je 4,4 godine, a sveukupno preživljenje je bilo 59% (66% za ALL BC nasuprot 40% za AML BC). Incidencija

AP/BC nakon imatiniba za CML u kroničnoj fazi je 5%, u ovoj grupi bolesnika. Usprkos primjene druge generacije TKI kombinirane s TKMS ishod je još uvijek vrlo loš (Slika 1.) (8).



Slika 1. Sveukupno preživljenje u bolesnika s CML u AP ili BC (8).

Zaključak

Izneseni podaci ukazuju da u djece i adolescenata s CML postoje kliničke i biološke razlike u odnosu na odrasle bolesnike s CML-om. Potrebno je optimizirati identifikaciju prognostičkih čimbenika isto kao i strategiju dijagnostike i liječenja u pedijatrijskoj populaciji. Neuspjeh liječenja je glavni razlog za prelazak na drugu liniju liječenja u djece i adolescenata liječenih imatinibom. Učinkovitost u drugoj liniji liječenja (dasatinib i TKMS) još uvijek treba znatno poboljšati jer nije dala očekivane rezultate.

Literatura:

1. Millot F, Traore P, Guilhot J et al. Clinical and biological features at diagnosis in 40 children with chronic myeloid leukemia. *Pediatrics* 2005; 116(1):140-3.
2. Hijjiya N, Schultz KR, Metzler M, Millot F, Suttorp M. Pediatric chronic myeloid leukemia is a unique disease that requires a different approach. *Blood* 2016;127(4):392-9.
3. Giona F, Moleti ML, De Benedittis D et al. Can chronic myeloid leukaemia in children and adolescents be successfully treated without haematopoietic stem cell transplant? A single centre experience. *Br J Haematol* 2016 Feb 23. doi: 10.1111/bjh.13991. [Epub ahead of print]
4. Millot F, Guilhot J, Suttorp M, Sedalacak P, Eveline SJ, de Bont M, Li CK, Kalwak K, Lausen B, Culic S, Dresse MF, Biondi A, Baruchel A. The International Registry for Chronic Myeloid Leukemia (CML) in Children and Adolescents (I-CML-Ped-Study): Objectives and Preliminary Results. *Blood* 2012;120:3741.
5. Millot F, Guilhot J, Suttorp M, Sedalacak P, Eveline SJ, de Bont M, Li CK, Kalwak K, Lausen B, Culic S, Dresse MF, Biondi A, Baruchel A, Brizard F. Impact of Additional Cytogenetic Abnormalities and Variant t(9;22) at Diagnosis on Prognosis of Childhood Chronic Myelogenous Leukemia: The Experience of the International Registry for CML in Children and Adolescents (I-CML-Ped Study). *Blood* 2014; 124:3137.
6. Millot F, Guilhot J, Suttorp M, Sedalacak P, Eveline SJ, de Bont M, Li CK, Kalwak K, Lausen B, Culic S, Dresse MF, Biondi A, Baruchel A. The Experience of the International Registry for Chronic Myeloid Leukemia (CML) in Children and Adolescents (I-CML-Ped Study): Prognostic Consideration. *Blood* 2014;124:521.
7. Millot F, Guilhot J, Suttorp M, Meunier AS, Meral GA, Sedalacak P, de Bont M, Li CK, Kalwak K, Lausen B, Culic S, De Moerloose B, Biondi A, Baruchel A. Switch to Subsequent Line of Treatment in Children and Adolescents with Chronic Myeloid Leukemia (CML) Treated with Imatinib: Experience of the International Registry for Chronic Myeloid Leukemia in Children and Adolescents (I-CML-Ped Study). *Blood* 2015;126:1576.
8. Meyran D, Petit A, Guilhot J, Suttorp M, de Bont ES, Li CK, Kalwak K, Lausen B, Culic S, Dresse MF, Biondi A, Millot F. Description and Management of Accelerated Phase and Blast Crisis in 21 CML Pediatric Patients. *Blood* 2015; 126: 2789.

Alergijska reakcija na L-asparaginazu i ishod liječenja akutne limfoblastične leukemije kod djece

Ernest Bilić¹, Antonella Geljić¹, Ranka Femenić¹,
Srđana Čulić², Jelena Roganović³,
Gordana Jakovljević⁴, Josip Konja¹,
Višnja Armanda², Dubravka Kuljiš², Maja Pavlović¹,
Ana Petrović-Gluščić¹, Toni Matić¹,
Jasminka Stepan⁴, Ljubica Rajić¹

¹Klinika za pedijatriju KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

²Klinika za pedijatriju KBC Split i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu

³Klinika za pedijatriju KBC Rijeka i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci

⁴Klinika za pedijatriju Klinika za dječje bolesti Zagreb
E-pošta:ernest.bilic@zg.t-com.hr

UVOD

Akutna limfoblastična leukemija (ALL) najučestalija je zloćudna bolest dječje dobi te čini 30% do 35% svih zloćudnih bolesti dječje dobi. U liječenju djece oboljele od ALL-a koriste se polikemoterapijski protokoli, svi centri u Hrvatskoj koriste protokole BFM skupine.

L-asparaginaza je lijek koji je postao jedan od ključnih sastavnica za liječenje ALL-a od svog uvođenja 1970-ih godina. Učinak postiže hidrolizom l-asparagina u aspartičnu kiselinu i amonijak Asparagin je limfoblastima esencijalna aminokiselina, dok ga zdrave stanice mogu same sintetizirati. Manjak l-asparagina inhibira sintezu proteina, smanjuje razinu serumskog asparagina te dovodi do smrti leukemijskih stanica. Iako je to lijek koji većina pacijenata dobro podnosi, neželjeni štetni učinci koji ograničavaju daljnju upotrebu lijeka javljaju se kod 30-40% pacijenata. Glavni neželjeni štetni učinak je preosjetljivost, koja se očituje crvenilom uški i obraza, urtikarijom, vrućicom, tresavicom, mučninom, povraćanjem, a u težim slučajevima bonhospazmom, hipotenzijom i anafilaktičkim šokom. Danas su dostupni pripravci l-asparaginaze dobiveni iz dva izvora; iz *E. coli* dobivaju se nativna l-asparaginaza i PEG – l-asparaginaza, a iz *Erwinie chrysanthemi* dobiva se *Erwinia* l-asparaginaza. U ovom radu prikazujemo naše rezultate u liječenju ALL-a kod djece, te prikazujemo usporedbu u ishodu liječenja između djece koja su razvila alergijsku reakciju na l-asparaginazu, naspram onih koji nisu.

ISPITANICI I METODE

Cilj rada je utvrditi ukupno preživljenje djece oboljele od ALL-a te uspješnost liječenja djece različitih skupina rizika liječenih u Zavodu za hematologiju i onkologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb, Klinici za pedijatriju KBC Split, Klinici za pedijatriju KBC Rijeka i Klinici za dječje bolesti Zagreb, u razdoblju od 1. studenog 2002. do 31. listopada 2011. godine. Osnovni cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj razvoja alergijske reakcije na lijek l-asparaginazu na preživljenje oboljele djece te je li razlika u preživljenju djece koja su razvila alergijsku reakciju na lijek l-asparaginazu statistički značajna u usporedbi s djecom koja nisu razvila alergijsku reakciju na l-asparaginazu. U istraživanje je uključeno 123 djece, od toga 42 djevojčice i 81 dječak. Sva djece liječena su prema protokolu ALL IC - BFM 2002.

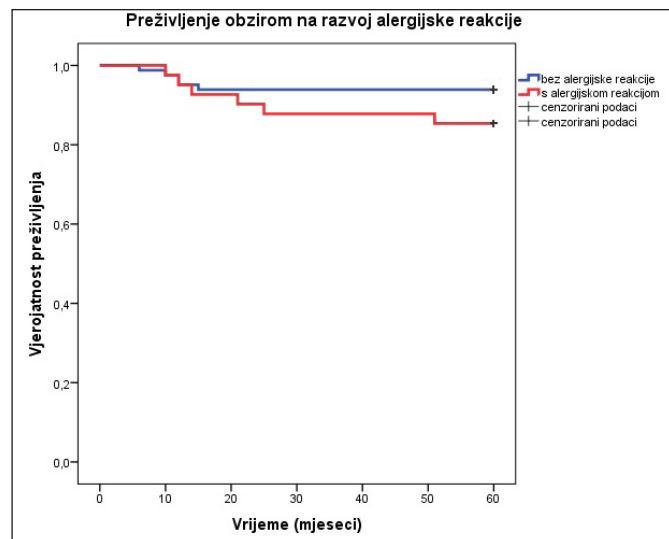
REZULTATI

U ovom istraživanju praćeno je 123 djece oboljele od ALL-a. Preživjelo je 112 djece što znači da ukupno preživljenje iznosi 91,1%. Alergijsku reakciju razvilo je 41 dijete (33,3%). Navedeni podaci prikazani su u Tablici 1.

Tablica 1. Razlika u preživljenju djece koja su razvila alergijsku reakciju na l-asparaginazu naspram onih koji nisu.

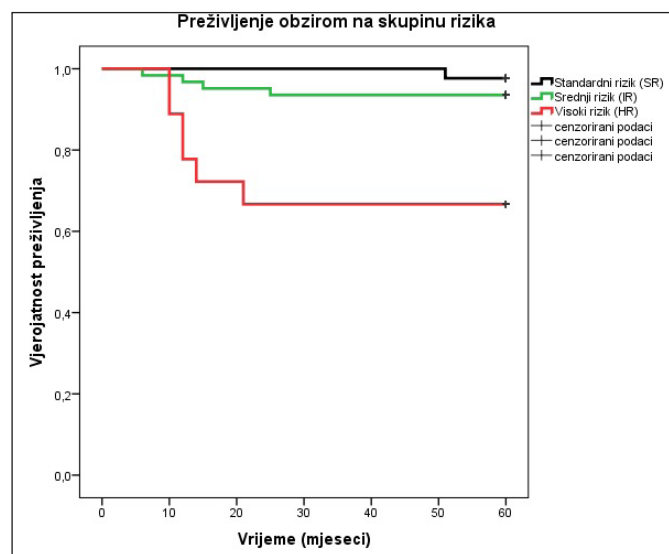
Alergija	Djeca (n)	Broj preživjele djece	Preživljenje (%)
Ne	82	77	93,9%
Da	41	35	85,4%
Ukupno	123	112	91,1%

Usporedbom preživljenja djece oboljele od ALL-a s obzirom na razvoj alergijske reakcije na l-asparaginazu utvrđeno je bolje preživljenje djece koja nisu razvila alergijsku reakciju – 93,9% naspram onih koji su razvili alergijsku reakciju – 85,4%, ali ta razlika nije statistički značajna ($p = 0,129$). To je prikazano Slikom 1.



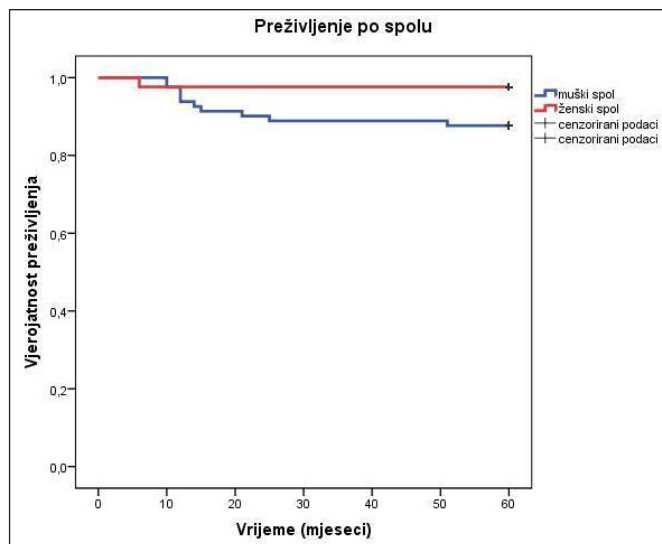
Slika 1. Preživljenje djece s obzirom na razvoj alergijske reakcije.

Rezultati preživljenja sukladno skupini rizika pokazuju da skupina standardnog rizika ima najbolje preživljenje – 97,7%, skupina srednjeg rizika 93,5% dok skupina visokog rizika ima najlošije preživljenje – 66,7%. Razlika u preživljenju djece različitih skupina rizika je statistički značajna ($p = 0,001$). Raspodjelu preživljenja djece prema skupinama rizika prikazuje Slika 2.



Slika 2. Preživljenje djece s obzirom na skupinu rizika.

Usporedbom preživljenja djece oboljele od ALL-a prema spolu utvrđeno je bolje preživljenje ženskog spola – 97,6% naspram muškog – 87,7%, ali ta razlika nije statistički značajna ($p = 0,073$). To je prikazano Slikom 3.



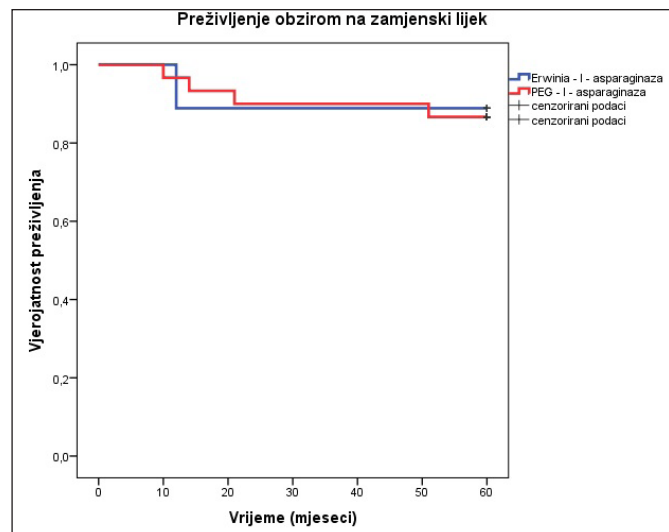
Slika 3. Preživljene djece po spolu.

Rezultati preživljenja djece koja jesu, odnosno nisu, razvila alergijsku reakciju na l-asparaginazu, prema spolu, pokazuje da najbolje preživljenje imaju djevojčice koje su razvile alergijsku reakciju na l-asparaginazu (100%), dok najslabije preživljenje imaju dječaci s alergijskom reakcijom (79,3%), što je prikazano u Tablici 2. Razlika u preživljenju alergičnih djevojčica naspram alergičnih dječaka nije statistički značajna ($p = 0,099$).

Tablica 2. Tablica prikazuje razliku u preživljenju djece koja su razvila alergijsku reakciju naspram onih koji nisu prema spolu (Ž=ženski spol, M=muški spol).

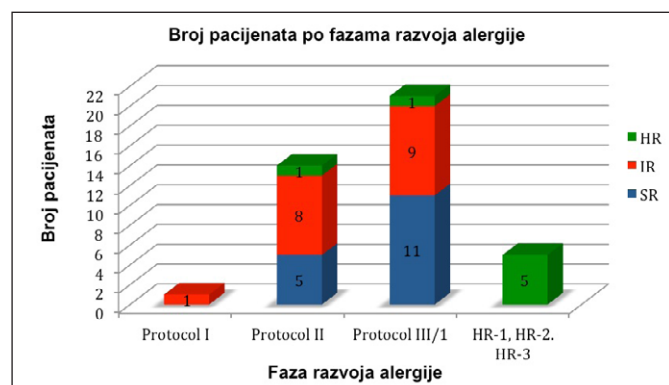
Alergija	Spol	Djeca (n)	Preživljenje (%)
Ne	Ž	30	96,7%
	M	52	92,3%
Ukupno		82	93,9%
Da	Ž	12	100%
	M	29	79,3%
Ukupno		41	85,4%

Rezultati su pokazali da djeca koja su kao zamjensku terapiju primala Erwinia l-asparaginazu imaju bolje preživljenje od djece koja su kao zamjenu primala PEG – l-asparaginazu i to 88,9% naspram 86,7%, ali ta razlika nije dostigla statističku značajnost. To je prikazano na Slici 4.



Slika 4. Preživljenje djece s obzirom na zamjenski lijek.

Najviše pacijenata razvilo je alergiju u fazi liječenja Protocol III/1 (21 pacijent), zatim u fazi Protocol II (14 pacijenata). U fazi Protocol HR – 1 alergiju su razvila 3 HR pacijenta te po jedan pacijent u fazama Protocol I, Protocol HR – 2 i Protocol HR – 3. Petoro pacijenata su u kasnijim fazama liječenja razvili alergijsku reakciju i na zamjenski lijek, svih 5 su primali PEG – 1 - asparaginazu. Nakon razvoja alergije 2 pacijenta su kao zamjenu primala *Erwinia* l - asparaginazu, a 3 nisu primala zamjenski lijek. Navedeni podaci prikazani su na Slici 5.



Slika 5. Raspodjela pacijenata po fazama razvoja alergijske reakcije.

RASPRAVA

Sveukupno petogodišnje preživljenje djece oboljele od ALL-a u našoj seriji bolesnika iznosilo je 91,1%. Prema podacima iz literature petogodišnje preživljenje djece oboljele od ALL-a iznosi preko 85% u što se uklapaju i rezultati dobiveni u našem istraživanju (1,2,3). Rezultati naše skupine bolesni-

ka pokazali su da je alergijsku reakciju na l-asparaginazu razvilo 33,3% djece, što je sukladno s podacima iz literature (4,5,6). Raščlambom pacijenata u dvije skupine vidljivo je da djeca koja nisu razvila alergijsku reakciju na l-asparaginazu imaju preživljenje 93,9%, a oni koji su imali alergiju imaju preživljenje od 85,4%. Iako je navedena razlika očita, statističkim metodama nismo uspjeli dokazati jasnu statističku razliku između te dvije skupine bolesnika. Druge studije provedene na *Pediatric Oncology Group, St. Jude Children's Research Hospital* i *Dana-Farber Cancer Institute* dokazale su da razvoj alergijske reakcije ne utječe na preživljenje djece oboljele od ALL-a (7,8,9). Kod prikaza preživljenja ovisno o skupini rizika dobiveni su očekivani rezultati. Skupina standardnog rizika ima najbolje preživljenje od 97,7%, skupina srednjeg rizika ima preživljenje 93,5%, što je značajno bolje od preživljenja visokorizične skupine koje iznosi samo 66,7%. Vidljivo je da su potrebni napor i inovacije protokola liječenja kojim bismo poboljšali preživljenje visokorizične skupine. U našoj skupini ispitanika prevladavaju dječaci, koji čine 65,85% ispitanika, dok djevojčice čine 34,15%. Iako je preživljenje djevojčica bolje, 97,6% naspram 87,7% kod dječaka, ne nalazimo statistički značajnu razliku što objašnjavamo premalim brojem djece u ispitivanju. Razliku u preživljenju dječaka i djevojčica dokazali su Schuster i sur. sa studijskom grupom *Pediatric Oncology Group* (10) te istaknuli potrebu intenzivnijeg liječenja dječaka. Alergijska reakcija gledajući prema spolu češće se javljala kod dječaka te je preživljenje dječaka s alergijom iznosilo 79,3%, dok su sve djevojčice s alergijom preživjele. Zbog malog broja pacijenata ta razlika nije statistički značajna. U našoj ispitivanoj skupini bolesnika kada bi se javila alergijska reakcija na l-asparaginazu zamjenski lijekovi bili su PEG - l-asparaginaza i *Erwinia* l-asparaginaza. Preživljenje djece koja su primala PEG – l-asparaginazu iznosi 86,7%, a one koja su primala *Erwinia* l-asparaginazu 88,9%. Ta razlika je diskretna i nije statistički značajna. Analizom podataka došli smo do zaključka da je najviše pacijenata razvilo alergijsku reakciju u fazi liječenja Protocol III/1, zatim nešto manji broj pacijenata tijekom Protocola II, dok su ostali razvili alergiju na l-asparaginazu tijekom HR ciklusa polikemoterapije. Samo je jedan pacijent razvio alergijsku reakciju tijekom indukcijske terapije, odnosno tijekom Protocola I.

U konačnici možemo zaključiti da je l-asparaginaza nedvojbeno neophodan lijek za liječenje ALL-a, ali zbog velikog broja nuspojava, prven-

stveno u vidu alergijske reakcije, neophodno je u tom slučaju taj lijek zamijeniti drugim. Kako bismo nedvojbeno utvrdili utječe li zamjensko liječenje na konačno preživljenje potrebna je puno veća skupina pacijenata.

ZAKLJUČCI

Zaključno, ukupno preživljenje djece oboljele o ALL-a u ispitivanoj skupini bolesnika iznosi 91,9%. Utvrđena je razlika u preživljenju djece oboljele od ALL-a između spolova koja pokazuje prednost ženskom spolu, ali ta razlika nije statistički značajna. Analizom preživljenja dječaka i djevojčica s alergijskom reakcijom dobiven je rezultat na granici značajnosti, odnosno da dječaci s alergijskom reakcijom imaju lošije petogodišnje preživljenje od djevojčica. Podjelom pacijenata prema skupinama rizika dobiveni su očekivani rezultati prema kojima je bolje preživljenje djece manjih skupina rizika. Ta razlika je statistički značajna. Djeca koja nisu razvila alergijsku reakciju na l-asparaginazu imaju bolje preživljenje (93,9%), nego ona koja su razvila alergijsku reakciju na l-asparaginazu (85,4%), ali nije postignuta statistička značajnost. Statistički značajna razlika u preživljenju nije dokazana ni s obzirom na primjenu zamjenskih lijekova PEG – l-asparaginaze i *Erwinia* l-asparaginaze.

Potrebna su daljnja istraživanja da bi se utvrdilo međudjelovanje razine aktivnosti l-asparaginaze, njezinih neželjenih štetnih djelovanja i ishoda liječenja ALL-a kod djece. Nužno je utvrditi djelotvornost zamjenskih pripravaka l-asparaginaze i njihov utjecaj na ishod liječenja ALL-a, kao i moguće prednosti liječenja pacijenata visokog rizika pripravcima l-asparaginaze.

Literatura:

1. Billet A, et al. (1992). Allergic reaction to *Erwinia* asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia who had previous allergic reactions to *Escherichia coli* asparaginase. *Cancer*, 70 (1), 201-206.
2. Hunger SP, et al. (2012). Improved survival for children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia from 1990-2005: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol*, 30 (14), 1663-1669.
3. Moricke A, et al. (2010). Long-term results of five consecutive trials in childhood acute lymphoblastic leukemia performed by the ALL-BFM study group from 1981 to 2000. *Leukemia*, 24 (2), 265/284.
4. Muller H, et al. (2001). Pharmacokinetics of native *Escherichia coli* asparaginase (Asparaginase medac) and hypersensitivity reactions in ALL-BFM 95 reinduction treatment. *Br J Haematol*, 114 (4), 794-799.
5. Pui CH, et al. (2009). Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *N Engl J Med*, 360 (26), 2730-2741.
6. Schuster J, et al. (1998). Prognostic significance of sex in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *J Clin oncol*, 16 (8), 2854-2863.
7. Silverman L, et al. (2001). Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01. *Blood*, 97 (5), 1211-1218.
8. Wacker P, et al. (2007). Allergic reaction to *E. coli* L-Asparaginase do not affect outcome in childhood B-precursor Acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol*, 29 (9), 627-632.
9. Woo M, et al. (2000). Hypersensitivity or development of antibodies to asparaginase does not impact treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*, 18 (7), 1525-1532.
10. Woo M, et al. (1999). Anti-asparaginase (ASP) antibodies do not impact event free survival (EFS) in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *J Clin Oncol*, 18, 567a.

Hemofilija u dječjoj dobi

Prof. dr. sc. Ernest Bilić, dr. med.

Klinika za pedijatriju KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: ernest.bilic@zg.t-com.hr

Hemofilija je nasljedna bolest, kod koje nedostaje neki od faktora zgrušavanja krvi. Najčešći je nedostatak faktora VIII i javlja se u oko 1:10 000 poroda. Rjeđe se javlja nedostatak faktora IX i to u 1:50-60 000 poroda. Hemofilija se najprije liječila transfuzijama pune krvi, početkom XX. stoljeća je primijećeno da zmijski otrov izaziva pojačano zgrušavanje, pa je bilo bezuspješnih pokušaja liječenje hemofilije sa malim količinama tog otrova. Kasnije je s nešto boljim kliničkim uspjehom davana krvna plazma, ali tek otkrićem kriprecipitata sredinom šezdesetih godina prošlog stoljeća došlo je do značajnog iskoraka u terapiji hemofilije A. Sedamdesetih godina otkriveni su pročišćeni koncentracije faktora IX i VIII, a početkom devedesetih u kliničku uporabu su ušli i rekombinantni preparati

Gen za faktor VIII nalazi se na dugom kraku X kromosoma. Najveći dio faktora VIII sintetizira se u endotelnim stanicama jetre. Neposredno nakon sinteze veže se za von Willebrandov faktor koji mu služi kao nosač i štiti ga od prerane enzimske degradacije. Osobe koje nemaju dostatnu količinu faktora VIII pojačano krvare jer ne dolazi do pravilnog zgrušavanja krvi.

Faktor IX ovisan je o vitaminu K i sintetizira se u jetri, a gen za taj protein također se nalazi na dugom kraku kromosoma X. Zbog toga pri teškom obliku nedostatka vitamina K produljeno je i aktivirano parcijalno tromboplastinsko vrijeme, a ne samo protrombinsko vrijeme zgrušavanja krvi.

Oko 20-30% hemofilija A posljedice su novonastale mutacije.

Klinička slika

Klinički znaci bolesti ovisni su o postotku aktivnosti faktora zgrušavanja. U najtežim slučajevima, I stupnju hemofilije, aktivnost faktora je ispod 1% i takvi bolesnici često imaju spontana krvarenja. Već pri porodu, ako je otežan, mogu nastati opsežna krvarenja u vitalne organe, a najopasnije je intrakranijsko krvarenje. Oboljela novorođenčad produljeno krvare iz pupčanog bataljka ili iz mjesta gdje im se

vadi krv za pretrage. Naredno razdoblje kada dijete oboljelo od hemofilije krvari je u drugoj polovici dojenačke dobi kada dijete puži, počinje hodati i često pada. Tada se pojavljuju krvarenja u mišiće i zglobove, koje je tipično mjesto krvarenja u hemofilicaru. Djeca koje imaju hemofiliju II stupnja (aktivnost faktora 2-5%), krvare tek nakon traume, vađenja zuba i sl, a vrlo rijetko spontano. U djece s III stupnjem hemofilije (aktivnost faktora 6-30%) krvarenje nastaje tek nakon operacijskih zahvata ili opsežnih trauma. Kod tih osoba često se dijagnoza postavlja iza 10 godine života ili prilikom rutinskih preoperativnih obrada.

Hemofilicari najčešće krvare u skočne zglobove, koljena i laktove. Zahvaćeni zglob je ispunjen krvlju, natečen, bolan, pokreti u njemu ograničeni. Ako se na vrijeme ne da supstitucijska terapija faktorima VIII ili IX dolazi do oštećenja hrskavice i posljedičnih kroničnih promjena u zglobovima. Kada protekne manje od dva sata od trenutka ozljede do trenutka davanja faktora zgrušavanja, obično nema oštećenja zglobne hrskavice. Posebice je nezgodno krvarenje u mišić ili psoas u koji može stati dosta krvi prije nego dođe do boli u području kuka i trbuha.

Liječenje

Danas se uglavnom koriste rekombinantni F VIII dobiveni pomoću genetskog inženjeringa na kultura stanica bubrega ili ovarija kineskog hrčka, te najnovije i bubrega humanog embrija. Poluvrijeme F VIII u plazmi djece je 8-12 sati, pa je pri manjim krvarenjima dostatno 1x dnevno davati F VIII i to 20-50 i.j./kgTT, dok se pri vitalno ugrožavajućim krvarenjima F VIII daje 2x u dozi 50 i.j./kg. Duljina davanja supstitucijske terapije ovisi o težini krvarenja. Za manje krvarenje u zglob obično je dostatno davanje od par dana, dok perioperativno krvarenje ili krvarenja nakon većih trauma treba danima liječiti dok posve ne prestane. Neki radovi, poput najnovije SIPPET studije upozoravaju da je pri uporabi rekombinantnih faktora veća opasnost od razvoja inhibitora na F VIII nego kod davanja pripravaka iz humane plazme. To je vjerojatno zbog prisustva nekih antigenih determinanti iz animalnih kultura stanica na kojima je dobiven rekombinantni faktor koje ljudski organizam prepoznaje kao strane.

Hemofilija B liječi se preparatima F IX. Preparat F IX zbog značajno duljeg poluvijeka u cirku-

laciji od F VIII možemo davati svaki drugi dan. Količina lijeka se računa slično kao i kod hemofilije A (potrebne su za 10-15% veće doze). Pri porodu većina novorođenčadi ima niske vrijednosti F IX, pa je ponekad za konačnu dijagnozu blagog oblika hemofilije B potrebno pričekati sredinu dojenačke dobi djeteta. Ako se pojave inhibitori na F IX gotovo redovito se uz to javlja i alergijska reakcija na pripravke F IX. Učestalost inhibitora na FIX se javlja u oko 3-5% slučajeva.

Komplikacije liječenja sastoje se u pojavi inhibitora, te nastanku teških kroničnih promjena zglobnih hrskavica koje mogu dovesti do nepokretnosti oboljelog. Do prije dvadesetak godina prijenos virusa putem pripravaka dobivenih iz humane plazme bio je veliki problem i još uvijek je zdravstveni problem hemofilicara starijih od četrdesetak godina. Nakon unaprjeđenja inaktivacije virusa iz plazme, te poboljšanjem mjera sigurnosti u procesu proizvodnje faktora zgrušavanja, prijenos virusa putem pripravaka faktora zgrušavanja sada je vrlo rijedak. Inhibitori se češće javljaju kod osoba koje su genetski sklone stvaranju inhibitora. Neki stečeni čimbenici također povećavaju rizik nastanka inhibitora; davanje faktora kada dijete već krvari (a ne profilaktički), davanje odjednom veće količine faktora, kirurški zahvati, davanje faktora dok je dijete u akutnom infektu, te cijepljenje intramuskularno (a ne kako je preporučeno supkutano). Inhibitori se razvijaju u oko 10-40% oboljelih od hemofilije A i oko 3-5% oboljelih od hemofilije B. Inhibitori se uglavnom javljaju u prvih 20-30 davanja faktora, te nakon 250 davanja faktora i starijih od 65 godina. Osim u početku liječenja, inhibitore treba svakako provjeriti prije operativnih zahvata, te ako terapija u uobičajenim dozama faktora ne dovodi do kliničkog poboljšanja.

Kućno liječenje

Kućno liječenje djece oboljele od hemofilije postalo je moguće pronalaskom pripravaka faktora zgrušavanja koji se ne moraju više čuvati na niskim temperaturama, nego ih je dostatno pohraniti u običnim kućnim hladnjacima, ili čak na sobnoj temperaturi. U Hrvatskoj je najveći napredak ostvaren uvođenjem kućnog liječenja i mogućnosti podizanja lijeka u najbližoj ljekarni, što uvelike olakšava dostupnost lijeka. Proizvođači lijekova za hemofiliju u istom pakiranju daju otopinu i pribor za razrjeđivanje lijeka. Kućno liječenje započinje tek nakon prethod-

ne edukacije roditelja u nadležnom centru za hemofiliju. Osoblje iz nadležnog centra za hemofiliju zaduženo je za kontrolu skladištenja preparata kod kuće i provođenje aseptičkih tehnika i postupaka prilikom venepunkcija ili davanja preparata preko središnjih venskih katetera. Ohrabrivanje, podrška i nadzor roditelja nad provođenjem kućne terapije su neophodni, kao i povremeno provjeravanje tehnika i postupaka davanja u nadležnom centru za hemofiliju. Sve postupke u kućnom liječenju roditelji trebaju dokumentirati i to predložiti liječnicima u centru za hemofiliju kada dolaze na kontrolne preglede. Jedino tako je moguće odrediti ispravnu dozu lijeka, planirati potrošnju i preduhitriti moguće komplikacije.

U početku kućnog liječenja lijek daje roditelj, obično majka oboljelog djeteta. Oko desete godine života dječaci obično počinju i sami sudjelovati najprije u pripravljanju otopine lijeka, zatim samostalnom davanju lijeka, te na konačno i samostalno raditi venepunkcije. Davanje lijeka preko središnjih venskih katetera je jednostavnije, ali je takav način davanja povezan s povećanom učestalošću infekcija, tromboza, te izgleda i većim rizikom za nastanak inhibitora na čimbenike zgrušavanja.

Profilaktičko liječenje sastoji se u davanju manjih količina F VIII svaka 2 dana ili F IX 2x tjedno, da bi se kod hemofilicara I stupnja s aktivnošću faktora zgrušavanja <1% uspjelo održavati aktivnost faktora iznad 2-3%, što je dostatno da nemaju teža ni spontana krvarenja. To dugoročno smanjuje oštećenje hrskavice zglobova što značajno podiže kvalitetu života hemofilicara. Primarnu profilaksu treba započeti prije oštećenja zgloba, tj. prije krvarenja u zglobove. Profilaktičko liječenje djece oboljele od hemofilije često je otežano zbog neprikladnog venskog pristupa. Kod manje djece, pogotovu one se izraženijim potkožnim masnim tkivom teško je pronaći venski put. Sekundarna profilaksa koristi se u starije djece i odraslih nakon učestalih krvarenja u isti zglob. Tada se i nakon sanacije krvarenja nastavlja kroz 4-8 tjedana davati profilaktički F VIII ili IX, da se spriječi ponovno krvarenje u isti zglob i uništavanje zglobne hrskavice. Sekundarna profilaksa se koristi i u slučaju provedbe intenzivne fizikalne terapije. Profilaktički se faktori zgrušavanja mogu davati prije putovanja ili prije aktivnosti koje bi mogle dovesti do oštećenja zgloba (npr. dječji izleti i sl.). U slučaju profilaktičke primjene faktora zgrušavanja, daje se manja doza lijeka i to 20-40 i.j./kgTT.

Novi preparati FIX i FVIII

Poluvrijeme faktora VIII u plazmi djece iznosi oko 8-12 sati, a faktora IX oko 24 sata. Farmaceutske kompanije pokušavaju različitim postupcima produljiti djelotvornost faktora zgrušavanja u plazmi oboljelih. Pegiliranje se vrši sa sijaličnom kiselinom, liposomima, fuzijom albumina i Fc fuzijom. Trenutno više uspjeha ponovno imaju sa pegiliranjem F IX, pa su tako u kliničkim istraživanjima pripravci F IX koji su učinkoviti i 2 do 3 tjedna nakon intravenske injekcije. S druge strane produljivanje poluživota faktora VIII ide ali uz manje uspjehe, tako da se uspjelo produljiti poluživot svega za 50%. U kliničkoj uporabi je i 4. generacija faktora zgrušavanja, dobivena rekombinantnim putem na kulturi stanica bubrega humanog embrija, koja za sada pokazuje najmanju učestalost inhibitora.

Prijelaz na nove preparate ne dovodi do veće učestalosti nastanka inhibitora. Čak je u nekim radovima nađen i manji titar inhibitora, nakon što je u liječenje uveden novi pripravak lijeka. Unatoč navedenom prijelaz na nove faktore treba biti praćen redovitom kontrolom inhibitora

Cijena liječenja hemofiličara je visoka. Međutim dugoročno gledano profilaktičko liječenje je isplativije nakon 10-15 godina liječenja, jer je invaliditet znatno manji, kao i potreba za ortopedskim zahvatima i fizijatrijskom rehabilitacijom.

Zaključak

Do početka sedamdesetih godina prošlog stoljeća oboljeli od hemofilije su umirali oko 40-te godine života. Nakon pronalaska pripravaka pojedinih faktora zgrušavanja, sigurnije obrade preparata od infekcija koje se prenose plazmom, te pronalaskom rekombinantnih faktora zgrušavanja hemofiličari kojima se sada otkrije bolest će imati jednaku dužinu života kao i ostala populacija. Uvođenjem profilaktičkog davanja preparata kod kuće i podizanja lijekova u najbližoj ljekarni, hemofiličarima je značajno poboljšana kvaliteta svakodnevnog života.

Nakon objave rezultata najnovijih istraživanja s genskom terapijom i pegiliranim faktorima zgrušavanja možemo s pravom očekivati da će u bliskoj budućnosti kvaliteta života oboljelih od hemofilije biti mjerljiva s kvalitetom života zdravih ljudi.

Literatura:

1. Zupančić Šalek S. i suradnici: „Smjernice za dijagnostiku i liječenje hemofilije“, 2013. FotoSoft, Krohem, Zagreb
2. Milošević D, Bilić E, Batinić D, Poropat M, Štern-Padovan R, Galić S, Turudić D Renal thromboembolism during treatment with recombinant activated FVII (rFVII) in a child with hemophilia B with factor IX inhibitors *BMC Pediatr.* 2014;17:14:315-7.
3. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I et al. Inhibitor development in relation to treatment duration in severe hemophilia A in previously untreated patients: The Multicenter Randomized Sippet Study. Presented at American Society of Hematology. December, 2015. <https://ash.confex.com/ash/2015/webprogram/Paper82866.html>
4. Grizelj R, Vuković J, Bilić E, Stern-Padovan R. Massive retroperitoneal haemorrhage in a neonate with severe haemophilia „A“. *Haemophilia* 2011, 17;(3):547-8.
5. Gouw SC, van der Born JG, van den Berg MH. Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study. *Blood* 2007; 109: 4648-54.
6. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, Riske B, Hacker MR, Kilcoyne R et al. Prophylaxis versus Episodic Treatment to Prevent Joint Disease in Boys with Severe Hemophilia. *N Engl J Med* 2007;357: 535-44.

Laparoskopska splenektomija u liječenju imunotrombocitopenije - prikaz vlastitih iskustava

**Zdravko Mitrović¹, Željko Jonjić¹, Višnja Hariš¹,
Radmila Ajduković-Stojisavljević¹, Ozren Jakšić¹,
Mario Piršić¹, Josip Baković², Igor Stipančić²,
Vlatko Pejša¹**

¹Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti i

²Zavod za abdominalnu kirurgiju Klinike za kirurgiju,
Kliničke bolnice Dubrava i Medicinskog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

Adresa autora za dopisivanje:

Dr. sc. Zdravko Mitrović, dr. med.

*Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KB
Dubrava i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
E-pošta: zdravmitrovic@gmail.com*

Uvod

Splenektomija predstavlja drugu liniju liječenja imunotrombocitopenije (ITP) koja u oko 70% slučajeva dovodi do izlječenja. U novije vrijeme, splenektomija se radi laparoskopski što omogućava brži oporavak bolesnika uz manje neposrednih komplikacija (1). Samim time, čak ni visoka životna dob nije kontraindikacija za zahvat (2). S druge strane, agonisti trombopoetinskih receptora, koji se primjenjuju unazad nekoliko godina, smanjuju broj laparoskopskih splenektomija u zapadnom svijetu u ovoj indikaciji (3). Ovdje smo željeli pokazati vlastite rezultate liječenja ITP-a laparoskopskom splenektomijom.

Značajke bolesnika

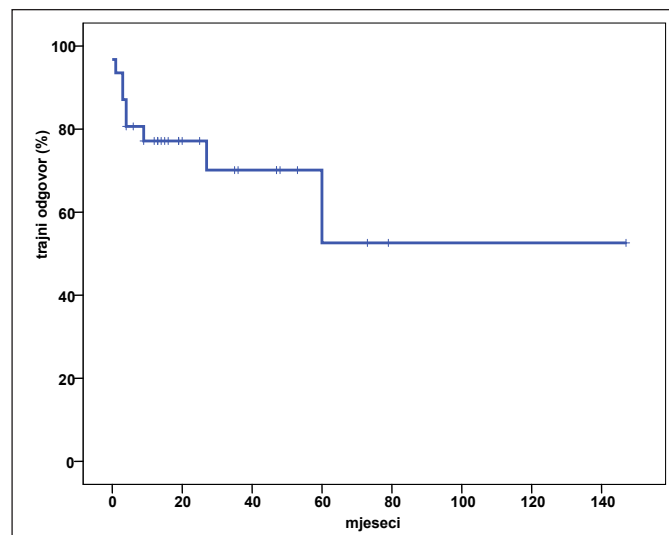
U razdoblju od travnja 2003. do svibnja 2015. godine laparoskopskoj splenektomiji podvrgnut je 31 bolesnik s ITP-om, od čega su 23 žene i 8 muškaraca. Medijan dobi je 50 godina (u rasponu od 19 do 78 godina). Od dijagnoze do samog zahvata, svi bolesnici su prethodno liječeni kortikosteroidima: kao jedina terapija u 7 bolesnika, s imunoglobulinima (IVIG) u 18 bolesnika, s rituksimabom u 2 bolesnika, s rituksimabom i IVIG-om u 4 bolesnika. Medijan vremena od dijagnoze do splenektomije bio je 7 mjeseci (u rasponu od 1 do 72 mjeseca): 15 bolesnika je splenektomirano od u prvih 6 mjeseci od postavljanja dijagnoze, 9 unutar drugih 6 mjeseci od dijagnoze, a preostalih 7 nakon godinu dana od postavljanja dijagnoze.

Rezultati

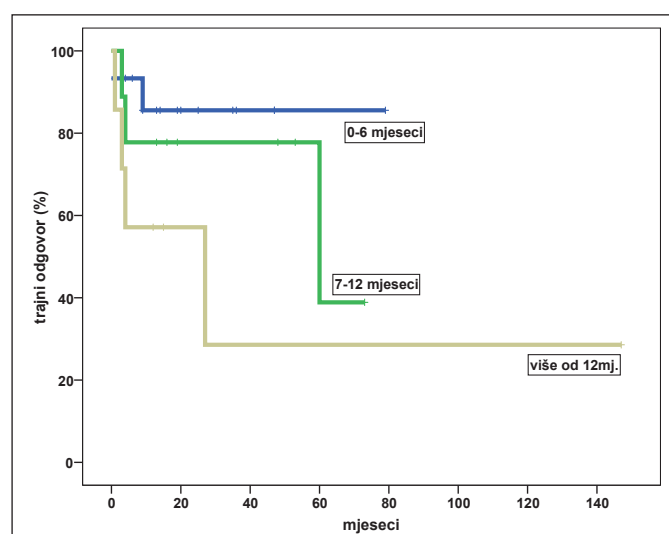
Medijan broja trombocita prije operacije bio je $100 \times 10^9/L$ (raspon od 15 do $334 \times 10^9/L$). Svi bolesnici su prije zahvata primili anti-pneumokokno cjepivo.

Od ozbiljnih neposrednih komplikacija splenektomije zabilježena je tromboza portalne vene u jedne bolesnice, a u jednog bolesnika je došlo do ozbiljnijeg krvarenja koje je zahtijevalo kiruršku reviziju. Nije bilo smrtnih ishoda. Kod jedne bolesnice se zbog priraslica nije mogao učiniti laparoskopski zahvat nego je učinjena klasična operacija. Od kasnih komplikacija zabilježen je umor (10 bolesnika), protrahirana utrnutost u nozi (dva bolesnika), a u pojedinačnih bolesnika febrilitet, otok nogu i nadutost trbuha. Nisu zabilježene ozbiljnije infekcije u kasnijem praćenju. Kod dvoje bolesnika otkrivena je maligna bolest kratko nakon zahvata (karcinom kolona, fatalni recidiv melanoma).

Medijan praćenja nakon splenektomije je 35 mjeseci (4-147 mjeseci). Tri bolesnika (10%) su bila refraktorna – zbog pada trombocita zahtijevali su primjenu druge terapije unutar 3 mjeseca od zahvata. Preostalih 28 pacijenata je postiglo vrijednost trombocita iznad 50 (parcijalna remisija) ili iznad 100 (kompletna remisija) u trajanju od više od tri mjeseca nakon zahvata. Šest bolesnika koji su postigli remisiju zahtijevalo je kasnije ponovnu terapiju. U trenutku posljednje kontrole, 22 (71%) bolesnika nije trebalo dodatno liječenje ITP-a nakon splenektomije. Kaplan-Meierova krivulja trajanja odgovora prikazana je na Slici 1. Trajanje odgovora s obzirom na vrijeme od dijagnoze do splenektomije (0-6 mjeseci [15 bolesnika] vs. 7-12 mjeseci [9 bolesnika] vs. više od 12 mjeseci [7 bolesnika]) prikazana je na Slici 2. Iako nije dostignuta razina statističke značajnosti, bolesnici koji su splenektomirani ranije u tijeku bolesti imaju trend ka boljem ishodu ($p=0.15$).



Slika 1. Trajanje odgovora nakon splenektomije.



Slika 2. Trajanje odgovora obzirom na vrijeme od dijagnoze do splenektomije.

Zaključak

Ovdje prikazani rezultati potvrđuju da je laparoscopska splenektomija sigurna i učinkovita metoda liječenja ITP-a koja u većine bolesnika dovodi do trajnog izlječenja. Čini se da ranija splenektomija kod naših bolesnika ima bolju prognozu. U vrijeme primjene agonista trombopoetinskih receptora koji u preko 80% bolesnika postižu remisiju, ali u pravilu zahtijevaju trajnu terapiju, splenektomija kao standardna druga linija liječenja ITP-a postaje predmetom rasprave (4).

Literatura:

1. Qu Y, Xu J, Jiao C, Cheng Z, Ren S. Long-term outcomes of laparoscopic splenectomy versus open splenectomy for idiopathic thrombocytopenic purpura. *Int Surg.* 2014; 99:286-90.
2. Gonzalez-Porras JR, Escalante F, Pardal E i sur. Safety and efficacy of splenectomy in over 65-yrs-old patients with immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol.* 2013; 91:236-41.
3. Palandri F, Polverelli N, Sollazzo D i sur. Have splenectomy rate and main outcomes of ITP changed after the introduction of new treatments? A monocentric study in the outpatient setting during 35 years. *Am J Hematol.* 2016; doi: 10.1002/ajh.24310. [Epub ahead of print]
4. George JN, Vesely SK, Woolf SH. Conflicts of interest and clinical recommendations: comparison of two concurrent clinical practice guidelines for primary immune thrombocytopenia developed by different methods. *Am J Med Qual.* 2014;29:53-60.

Novi antikoagulantni lijekovi - mehanizam djelovanja, indikacije, antidoti

**Marijo Vodanović¹, Dražen Pulanić^{1,2,3},
Ana Boban^{1,2}, Renata Zadro⁴,
Silva Zupančič Šalek^{1,2,3}, Damir Nemet^{1,2,3}**

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

² Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

³ *Medicinski fakultet Osijek Sveučilišta J.J.*

Strossmayera u Osijeku

⁴ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku
Klinički bolnički centar Zagreb Medicinskog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

Adresa autora za dopisivanje:

Marijo Vodanović, dr. med.

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

E-pošta: marijo.vodanovic@gmail.com

1. Uvod

Venski tromboembolizam (VTE) najčešće obuhvaća duboku vensku trombozu (DVT) i plućnu emboliju (PE), te je treći vodeći uzrok kardiovaskularnog mortaliteta. Oko 20% bolesnika umire od PE neprepoznato ili unutar 24 sata od postavljene dijagnoze (1).

Varfarin je najčešći korišteni peroralni antikoagulans - antagonist vitamina K (VKA) za liječenje i prevenciju VTE, prevenciju tromboza u bolesnika s fibrilacijom atrija, reumatskom bolesti srca i s umjetnim zaliscima. Nedostaci tog lijeka su uska terapijska širina, interakcije s drugim lijekovima i hranom, te sklonost krvarenju (2).

Novi oralni antikoagulant *nsi ili bolje reći ne-vitamin K oralni antikoagulant* *si* (NOAK) obzirom na njihovu upotrebu u kliničkoj praksi zadnjih 10-ak godina pokazali su sličan terapijski učinak kao varfarin, nešto bolji sigurnosni profil, nemaju interakcije s hranom i nema potrebe rutinske laboratorijske kontrole. Međutim njihov nedostatak je prvenstveno manjak dokaza o učinkovitosti kod pojedinih skupina bolesnika s VTE-om (bolesnici s teškom bubrežnom insuficijencijom gdje su ovi lijekovi kontraindicirani, malignim bolestima, nasljednim trombofilijama, antifosfolipidnom sindromu, te kod bolesnika s umjetnim zaliscima) (3).

NOAK-i se obzirom na mehanizam djelovanja nazivaju i ciljanim ili “target” antikoagulansima, te se stoga dijele u dvije skupine: izravni inhibitori faktora Xa – u RH su dostupni rivaroksaban i apik-

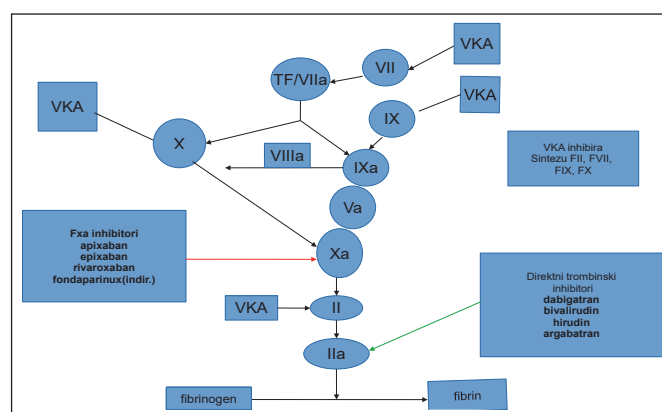
saban, te izravni inhibitori trombina - dabigatran. U ovom članku cilj je prikazati mehanizam djelovanja, učinkovitost NOAK-a, interakcije s drugim lijekovima te sigurnost primjene odnosno antidote.

2. Mehanizam djelovanja NOAK-a

Trombin je završni čimbenik koagulacijske kaskade, logičan ciljni faktor novih antikoagulantnih lijekova. Trombin pretvara fibrinogen u fibrin, ali također pojačava vlastito stvaranje povratnom aktivacijom faktora V, VIII i IX. Stoga inhibicija trombina smanjuje formiranje fibrina, ali i daljnje stvaranje trombina (4,5).

Izravni antitrombini ili *direktni inhibitori trombina* (npr. dabigatran), inhibiraju jednako slobodni trombin kao i trombin vezan s fibrinom, dok posredni inhibitori trombina (nefrakcionirani i niskomolekularni heparin) imaju ograničeni kapacitet inhibiranja trombina vezanog s fibrinom (6).

Inhibitori faktora X su sintetski lijekovi građeni od sekvencije heparina od pet šećera, te se stoga nazivaju pentasaharidi. Primarno inhibiraju aktivirani faktor X (FXa), te nemaju učinak na trombin. Dije se na izravne i neizravne. Izravni inhibitori FXa blokiraju slobodni faktor Xa i vezan za protrombinazu. Predstavници su otamixaban, apixaban, rivaroxaban, epixaban. Neizravnim inhibitorima FXa (heparin, heparini male molekulske težine i fondaparinux) potrebna je interakcija s antitrombinom kako bi ostvarili antikoagulantni učinak (7).



Slika 1. prikazuje mehanizam djelovanja antikoagulantne terapije.

3. Učinkovitost i indikacije za primjenu novih oralnih antikoagulanasa

Dabigatran etexilat (zaštićeno ime Pradaxa) prolijeak je koji se nakon resorpcije u crijevu pretvara u dabigatran. Ima oralnu biodostupnost od oko 6%.

Nakon oralne primjene, dabigatran etexilat se brzo i potpuno pretvori u dabigatran, s vršnom koncentracijom 2 sata nakon primjene. Dabigatran ima poluvrijeme ($t_{1/2}$) od 12 do 17 sati. Izlučuje se pretežno bubrezima, gdje se oko 80% lijeka izluči nepromijenjeno urinom, pa je kontraindiciran u bubrežnoj insuficijenciji s klirensom kreatinima manjim od 30 ml/min (8). Dabigatran ima predvidivu farmakokinetiku i farmakodinamiku. Europska agencija za lijekove (EMA) odobrila je primjenu dabigatrana u prevenciji tromboembolizma odraslih koji se podvrgavaju ortopedskim operacijama ugradnji proteza kuka i koljena (doza 2x110 mg, 1-4 sata po zahvatu se uzima prva doza), u prevenciji moždanog udara kod bolesnika s nevalvularnom fibrilacijom atrija (NVA) (2x150 mg), te u liječenju PE i DVT-a u dozi od 2x150 mg dnevno. Doza lijeka se smanjuje i prilagođava ovisno o bubrežnoj funkciji i dobi te lijekovima kao što su gp-inhibitori. Može produžiti protrombinsko vrijeme (PV), aktivirano parcijalno tromoplastinsko vrijeme (aPTV) i trombinsko

vrijeme (TV). Specijalni testovi za određivanje aktivnosti i razine dabigatrana su trombinsko vrijeme određeno dilucijskom metodom, ekarinsko vrijeme zgrušavanja (ECAT) (9). Interferira u metabolizmu s antifungicima (ketokonazol, itrakonazol), kalcineurinskim inhibitorima. P-gp induktori kao što su karbamazepin, rifampicin, fenobarbiton, dronedrone snižavaju dozu lijeka. Učinkovitost dabigatrana pokazana je u RE-LY studiji, uspoređivane su doze dabigatrana od 110 i 150 mg s varfarinom u bolesnika s NVA u svrhu prevencije moždanog udara. Doze od 150 mg bile su uspješnije u prevenciji moždanog udara i tromboembolizma u odnosu na varfarin. Bila je manja učestalost intrakranijskih krvarenja, ali nešto veća učestalost gastrointestinalnih krvarenja (10). Bolesnici s mehaničkim valvulama imali su veću incidenciju krvarenja nego bolesnici s varfarinom (11).

Tablica 1. pokazuje glavne karakteristike novih oralnih antikoagulanasa.

Parametar	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban
Ciljno mjesto djelovanja	Trombin (IIa)	FXa	FXa
Oralna bioraspoloživost	6,5%	80-100%	~50%
Vežanje za proteine plazme	34-35%	92-95%	87%
Prolijek	Da	Ne	Ne
Poluvijek (h)	12-14	5-13	~12
Tmax (h)	2-6	2-4	3-4
Bubrežni klirens	85%	33%	27%

Tablica 1. Pregled farmakoloških karakteristika NOAK-a.

Rivaroxaban (zaštićeno ime Xarelto) prvi je, selektivni, oralni izravni inhibitor FXa. Studije *in vitro* pokazale su da kompetitivno inhibira faktor Xa 10.000 puta jače od ostalih serinskih proteaza (6). Dobro se resorbira iz crijeva, s vršnom koncentracijom 2 do 4 sata nakon primjene uz biološku raspoloživost od 80 do 100%. U plazmi je većim dijelom vezan za albumin. Maksimalno inhibitorno djelovanje na FXa postiže 1 do 4 sata nakon uzimanja, $t_{1/2}$ lijeka je 5-9 sati. Učinak traje 8 do 12 sati, no aktivnost se aktiviranog faktora ne vraća u normalu kroz 24 sata, što omogućava primjenu lijeka jednom dnevno (7). Lijek se dijelom eliminira bubregom (1/3), te hepatobilijarnim putem (2/3), a dijelom se u nepromijenjenom obliku izlučuje bubrezima, može se primijeniti i kod bolesnika koji imaju ClCr 15-30 ml/min u sniženoj dozi, dok se ne preporučuje primjena kad je ClCr < 15 ml/min. Nisu opisane interak-

cije s nesteroidnim lijekovima niti acetilsalicilnom kiselinom te klopogrelom, iako ove kombinacije lijekova mogu povećati sklonost krvarenju. Lijekovi koji se metaboliziraju putem CYP3A4 poput ketokonazola, ritonavira, klaritromicina kontraindicirani su uz rivaroxaban, jer povisuju plazmatsku koncentraciju lijeka. EMA je odobrila Xarelto u prevenciji VTE kod ortopedskih operacija ugradnje proteza kuka i koljena (10 mg/dan, prva doza 6 sati po operaciji), prevenciji moždanog udara kod bolesnika s NVFA (20 mg/dan), u akutnom liječenju DVT i PE (2x15 mg /dan kroz 3 tjedana, zatim 1x20 mg), te prevenciji ponavljanja VTE. Rivaroxaban je jedini NOAK odobren za prevenciju aterotrombotskih događaja nakon akutnog koronarnog sindroma (2x2,5 mg). Laboratorijsko praćenje terapije nije potrebno zbog predvidljive farmakokinetike lijeka (12). Može produžiti PV, aPTV, no vrijednost nalaza ne korelira

s aktivnosti i razinom lijeka. Razina lijeka u plazmi može se odrediti mjerenjem aktivnosti anti-Xa. Nije potrebno rutinsko laboratorijsko praćenje (9). Učinkovitost rivaroxabana, u usporedbi s varfarinom, pokazana je u dvostruko slijepoj ROCKET-AF studiji (15 ili 20 mg) dnevno, gdje se pokazao jednako učinkovit u prevenciji moždanog udara sistemskog tromboembolizma, s manje fatalnih i teških krvarenja, ali više gastrointestinalnog krvarenja (12). U EINSTEIN studiji rivaroxaban se davao kao monoterapija (2x15 mg/3 tjedna, zatim 1x20 mg dnevno) i uspoređivao s varfarinom nakon prethodne primjene enoksaparina 2x1 mg/kg u akutnom tromboembolizmu. Rivaroxaban je pokazao jednaku učinkovitost s varfarinom, bolji sigurnosni profil, manje velikih krvarenja kod fragilnih bolesnika (CICr <50 ml/min, stariji >75 godina, tjelesna masa <50 kg) (13). RECORD3 studija je uspoređivala enoksaparin

1x40 mg dnevno vs rivaroxaban 10 mg kod bolesnika koji idu na totalnu artroplastiku koljena, te je pokazala sličnu učinkovitost i sigurnost primjene oba lijeka (14).

Apixaban (zaštićeno ime Eliquis) mehanizam djelovanja i interakcije s drugim lijekovima ima poput rivaroxabana. Velika studija ARISTOTLE uspoređivala je apixaban 2x5 mg dnevno s varfarinom i dokazala je superiornost apixabana u prevenciji moždanog udara i embolizma kod bolesnika s moždanim udarom i/ili NVAf, te su imali značajno manje kliničkih većih krvarenja nego bolesnici na varfarinu (15). EMA je odobrila primjenu apixabana u istim indikacijama kao i dabigatran. Apixaban se primjenjuje u akutnom VTE 2x10 mg/7 dana, zatim 2x5 mg, u prevenciji moždanog udara i NVFA 2x5 mg, a kod ortopedskih operacija 2x2,5 mg.

ATK šifra	generičko ime lijeka	proizvođač	zaštićeno ime	oblik i pakiranje	dijena s PDV-om	dijena s PDV-om koju plaća HZZO	doplata s PDV-om	grupa lijekova	lista lijekova
B01AE07 165	dabigatran eteksilat	Boehringer Ingelheim	Pradaxa	caps. tvrda 60x110 mg	529.83	264.92	264.92	B	dopunska
B01AE07 166	dabigatran eteksilat	Boehringer Ingelheim	Pradaxa	caps. tvrda 60x150 mg	529.83	264.92	264.92	B	dopunska
B01AF01 163	rivaroxaban	Bayer	Xarelto	film obl. tbl. 28x15 mg	494.51	247.25	247.25	B	dopunska
B01AF01 164	rivaroxaban	Bayer	Xarelto	film obl.tbl. 42x15 mg	741.76	370.88	370.88	B	dopunska
B01AF01 165	rivaroxaban	Bayer	Xarelto	film obl.tbl. 28x20 mg	494.51	247.25	247.25	B	dopunska
B01AF02 162	apixaban	Bristol-Myers Squibb S.r.l.	Eliquis	tbl. film obl. 60x2,5 mg	476.85	238.42	238.42	B	dopunska
B01AF02 163	apixaban	Bristol-Myers Squibb S.r.l.	Eliquis	tbl. film obl. 60x5 mg	476.85	238.42	238.42	B	dopunska

Tablica 2. Popis NOAK-a na dopunskoj listi HZZO.

4. Liječenje krvarenja uzrokovano NOAK-om i antidoti

Bolesnicima na VKA rutinski se prati INR. NOAK-i imaju predvidljivu farmakokinetiku i stoga nisu potrebne rutinske pretrage u praćenju terapijske doze. Mjerenje razine NOAK-a može se savjetovati kod bolesnika ukoliko su imali prethodno krvarenja ili su pod povećanim rizikom od krvarenja. To su bolesnici s malom ili velikom tjelesnom masom, bubrežnom insuficijencijom, stariji od 75 godina, te na antitrombotičnoj terapiji (acetilsalicilna kiselina, NSAR) (16). Navedeni lijekovi mogu mjenjati razine faktora koagulacije, proteina C, antitrombina (AT), trombinskog vremena (TV) kao i fibrinogena. Dabigatran može mjenjati aPTV, PV, TV, riva-

roxaban i apixaban produžuju dominantno PV (9). NOAK-i su se pokazali dosta sigurni za primjenu u velikim randomiziranim studijama, s manje klinički značajnih krvarenja nego VKA (10,13,15). Imaju značajno kraće poluvrijeme života (6-14h) za razliku od varfarina (40 h), pokazuje manje interakcije s drugim lijekovima, hranom, bez razlike u individualnim farmakogenetskim obilježjima. U dosadašnjim studijama (ROCKET-AF) 409 bolesnika koji su primali varfarin, imali su veliko kliničko krvarenje, ali je samo 9 bolesnika (2,2%) primalo koncentrat protrombinskog kompleksa (PCC), dok je jedan bolesnik primao aktivirani rekombinantni faktor VII (rFVIIa) (16). S druge strane 4/431 bolesnika (0,9%) s teškim krvarenjem, na rivaroxabanu primali su

PCC. Kod kliničkih značajnih, nefatalnih krvarenja se preporučaju opće mjere poput lokalne hemostaze, nadokande tekućine, infuzije, koncentracije eritrocita, trombocita ukoliko su $\text{Trc} < 60,000$, svježa smrznuta plazma, dezmozpresin, ispitivanje uzroka (npr. interakcije s drugim lijekovima, pogoršanje bubrežne funkcije) (17). Kod životno ugrožavajućeg krvarenja primjenjuje se i PCC 25 U/kg uz mogućnost ponavljanja doze za 8-12 sati. Više doze 50-80 IU/kg preporučuju se u primjenu kod bolesnika s životno ugrožavajućem krvarenju te koji se podvrgavaju hitnom kirurškom zahvatu. Nema dokaza o koristi dodatne primjene aktiviranog rekombinantnog FVII (90 ug/kg) (18,19).

Specifični antidot za poništavanje učinka dabigatrana je idarucizumab, koji je odobren od strane FDA („Food and Drug Administration“) i EMA-e. Ostali specifični antidoti za FXa inhibitore (andexanet-alfa) i univerzalni antidot aripazine su u tijeku kliničkih ispitivanja.

Idarucizumab (zaštićeno ime Praxbind) je humano monoklonsko protutijelo, koji pokazuje specifičnost vezivanja za dabigatran 350 puta jače nego trombin, neutralizirajući učinak lijeka (20). Primjena idaracizumaba sama bez prisutnosti dabigatrana ne pokazuje prokoagulantni učinak i ne utječe na parametre koagulacije (21,22). Idarucizumab je pokazao terapijski učinak u studiji REVERSE AD u varirajućoj dozi od 1-8 g nekoliko minuta nakon primjene, normalizirajući TV i ECAT. Medijan vremena za normalizaciju hemostaze kod bolesnika s teškim krvarenjima iznosio je 11,4 sati, dok je 94,3% bolesnika koji su primali idaracizumab predoperativno imalo normalnu intraoperativnu hemostazu. Dobro se tolerirao bez teških ili ozbiljnih nuspojava (23).

Andexanet alfa (PRT064445) rekombinantni oblik FXa koji je katalitički neaktivan, ali s jakim afinitetom za FXa inhibitore. U fazi II kliničkog ispitivanja snizio je anti-FXa aktivnosti u bolesnika na apiksabanu za 65%, rivaroxabanu 20-53%, i na edoxabanu 52-73%. Doza andexaneta u ispitivanjima je varirala od 90-600 mg u bolusu, ili 800 mg u bolusu i zatim u infuziji od 8 mg/min u trajanju od jednog sata. Andexanet se pokazao zasad u kliničkim ispitivanjima kao siguran i dobro podnošljiv antidot. (24,25).

Aripazine (PER977) je sintetska, kationska mala molekula s mogućnošću vezivanja za nefrakcionirani, niskomolekularni heparin, fondaparinux, direktne trombinske inhibitore (dabigatran) i FXa inhibitore. Međutim, zasad mehanizam kojim poništava

antikoagulantni učinak navedenih lijekova ostaje nejasan.

Dijaliza se nije pokazala učinkovitom metodom uklanjanja lijeka iz krvi, jer se doza dabigatrana može sniziti za oko 50-75%, dok su rivaroxaban i apixaban snažno vezani za proteine plazme (87-95%) i ne mogu se ukloniti dijalizom (26).

Idarucizumab još nije odobren u RH, kao i drugi potencijalni antidoti.

5. Dostupnost NOAK-a u RH

HZZO odobrava primjenu NOAK-a u sljedećim indikacijama; prevenciji moždanog udara i sistemske embolije u odraslih osoba s nevalvularnom atrijskom fibrilacijom s jednim ili više sljedećih čimbenika rizika: 1. prethodni moždani udar, tranzitorna ishemična ataka ili sistemska embolija, 2. ejekcijska frakcija lijevog ventrikula $< 40\%$, 3. simptomatsko zatajenje srca, stupanj ≥ 2 prema klasifikaciji NYHA, 4. dob ≥ 75 godina, 5. dob ≥ 65 godina povezana s jednim od sljedećeg: dijabetes melitus, koronarna bolest srca ili hipertenzija, a koji ne postižu s varfarinom ciljnu vrijednost INR-a (INR 2-3). HZZO plaća 50% iznosa lijeka, dok drugu polovicu snosi bolesnik.

U drugim indikacijama; liječenje VTE (DVT i/ili PE), te prevenciji VTE perioperativno, HZZO ne plaća lijek, već cijeli iznos plaća bolesnik.

6. Zaključak

Novi oralni, odnosno ne-vitamin K oralni antikoagulansi su dobra alternativna terapija i zamjena za varfarin u navedenim indikacijama s manje teških krvarenja prema studijama. U odnosu na varfarin imaju prednosti kao što su lakoća primjene, manje interakcije s hranom, veća terapijska širina, nije potrebno laboratorijsko praćenje niti prekid terapije nekoliko dana pred operativni zahvat. Dosad nisu objavljene studije koje su ispitivale i uspoređivale direktno učinkovitost te sigurnost jednog NOAK-a s drugim različitog ciljnog mehanizma djelovanja (npr. dabigatran vs. rivaroxaban). Ostaje pitanje učinkovitosti ovih lijekova u posebnih skupina bolesnika kao što su nasljedne trombofilije i recidivirajuće VTE, antifosfolipidni sindrom, VTE kod bolesnika s neoplazmom, te kod teške bubrežne insuficijencije, gdje su NOAK-i kontraindicirani. VKA ostaje i dalje lijekom izbora kod bolesnika s umjetnim zaliscima, kao i kod bolesnika s teškom bubrežnom insuficijencijom. NOAK-i su višestruko skuplji, u RH je potrebna doplata za indikacije prema HZZO.

Literatura:

1. White RH. The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 2003;107:14-8.
2. Adam SS, McDuffie JR, Ortel TL, Williams JW. Comparative effectiveness of warfarin and new oral anticoagulants for the management of atrial fibrillation and venous thromboembolism: a systemic review. *Ann Intern Med*. 2012;157(11):1414-1419.
3. Black SA, Cohen AT. Anticoagulation strategies for venous thromboembolism: moving towards a personalised approach. *Thrombosis and Haemostasis*. 2015;114(4):660-669
4. Mann KG, Brummel K, Butenas S. What is all that thrombin for? *J Thromb Haemost*. 2003;1:1504-14.
5. Stangier J, Rathgen K, Stahle H, Gansser D, Roth W. The pharmacokinetics, pharmacodynamics and tolerability of dabigatran etexilate, a new oral direct thrombin inhibitor, in healthy male subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2007;64:292-303.
6. Prezborn E, Strassburger J, Wilmen A, Pohlmann J, Roehrig S, Schlemmer KH et al. In vitro and in vivo studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939, and oral, direct Factor Xa inhibitor. *J Thromb Haemost*. 2005;3:514-21.
7. Kubitz D, Becka M, Voith B, Zuehlsdorf M, Wensing G. Safety, pharmacodynamics and pharmacokinetics of single doses of BAY 59-7939, an oral, indirect factor Xa inhibitor. *Clin Pharmacol Ther*. 78:412-21.
8. Gehrie E, Tormey C. Novel oral anticoagulants: Efficacy, Laboratory Measurement, and Approaches to Emergent reversal. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139:687-692.
9. Baglin T. The role of the laboratory in treatment with new oral anticoagulants. *J Thromb Haemost*. 2013;11 (Suppl 1):122-128.
10. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2009;361(12):1139-1151.
11. Eikelboom JW, Connolly SJ, Brueckmann M, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with mechanical heart valves. *N Engl J Med*. 2013;369(13):1206-1214.
12. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, et al. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011;365(10):883-891.
13. EINSTEIN Investigators, Bauersachs R, Berkowitz SD, et al. Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism. *N Engl J Med*. 2010; 363(26):2499-2510.
14. Lassen MR, Ageno W, Borris LC, et al. Rivaroxaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after total knee arthroplasty. *N Engl J Med*. 2008;358(26):2776-2786.
15. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, et al. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011;365(11):981-992.
16. Held C, Hylek EM, Alexander JH, Hanna M, Lopes RD, Wojdyla DM et al. Clinical outcomes and management associated with major bleeding in patients with atrial fibrillation treated with apixaban or warfarin. *Eur Heart J*. 2015;36(20):1264-1272.
17. Piccini JP, Garg J, Patel MR, Lokhnygina Y, Goodman SG, Becker RC et al. Management of major bleeding events in patients treated with rivaroxaban vs warfarin: results from the ROCKET AF trial. *Eur Heart J*. 2014;35(28):1783-1880.
18. Washman JB, Piccini JP. Why develop antidotes and reversal agents for non-vitamin K oral anticoagulants? *J Thromb Thrombolysis*. 2016;41:279-284.
19. Heidbuchel H, Verhamme P, Alings M, Antz M, Hacke W, Oldgren J et al. EHRA Practical Guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation: executive summary. *Eur Heart J*. 2013;34:2094-2106.
20. Aronis KN, Hylek EM. Who, when and how to reverse non-vitamin K oral anticoagulants. *J Thromb Thrombolysis*. 2016;41:253-272.
21. Schiele F, van Ryn J, Canada K, Newsome C, Sepulveda E, Park J, Nar H, Litzenburger T. A specific antidote for dabigatran: functional and structural characterization. *Blood*. 2013; 121(18):3554-3562.
22. Glund S, Moschetti V, Norris S, Stangier J, Schmohl M, van Ryn J, et al. A randomised study in healthy volunteers to investigate the safety, tolerability and pharmacokinetics of idarucizumab, a specific antidote to dabigatran. *Thromb Haemost*. 2015; 113(5):943-951.
23. Pollack CV Jr, Reilly PA, Eikelboom J, Glund S, Verhamme P, Bernstein RA, et al. Idarucizumab for dabigatran reversal. *N Engl J Med*. 2015;373(6):511-520.
24. Siegal DM, Curnutte JT, Connolly SJ, Lu G, Conley PB, Wiens BL. Andexanet Alfa for the Reversal of Factor Xa Inhibitor Activity. *N Engl J Med*. 2015;373:2413-2424.
25. Crowther M, Levy GG, Lu G, Leeds J, Lin J, Pratikha P, et al. A phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled trial demonstrating reversal of edoxaban-induced anticoagulation in healthy subjects by andexanet alfa (PRT064445): a universal antidote for factor Xa (fXa) inhibitors. *Blood*. 2014; 124(21):4269
26. Singh T, Maw TT, Henry BL, Pastor-Soler NM, Unruh ML, Hallows KR, Nolin TD. Extracorporeal therapy for dabigatran removal in the treatment of acute bleeding: a single center experience. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013;8(9):1533-1539.

Izražaj microRNA u mijelodisplastičnom sindromu

**Inga Mandac Rogulj, Vibor Milunović,
Marko Martinović, Goran Rinčić,
Ana Planinc-Peraica, Slobodanka Ostojić Kolonić**

*Adresa autora za dopisivanje:
Inga Mandac Rogulj, dr. med.
Zavod za hematologiju
Klinika za unutarnje bolesti
Klinička bolnica Merkur, Zagreb
E-pošta: imandac@yahoo.com*

Mijelodisplastični sindrom (MDS) je klonalni poremećaj krvotvorne matične stanice karakteriziran neučinkovitom hematopoezom i citopenijom u perifernoj krvi. Kod oko trećine bolesnika s MDS-om može doći do progresije poremećaja u akutnu mijeloidnu leukemiju (AML). U svakodnevnoj kliničkoj praksi, dijagnoza MDS-a postavlja se nakon analize periferne krvi i koštane srži, a ovisno o postotku blasta u koštanoj srži, broju citopenija te citogenetskim abnormalnostima, određuju se prognostički indeksi (IPSS, IPSS-R, WPSS) (1-3). Međunarodni prognostički indeks (IPSS) izračunava se iz postotka blasta u koštanoj srži, broja citopenija i kariotipa te bolesnike svrstava u 4 podgrupe i izdvaja i one posebno rizične za progresiju u AML (4).

WHO prognostički sustav (WPSS) uključuje i WHO klasifikaciju te ovisnost o transfuzijama eritrocita, dok revidirani IPSS (R-IPSS) uzima u obzir citogenetske abnormalnosti, broj i težinu citopenija te postotak blasta. IPSS-R i WPSS su potvrdili svoju visoku prediktivnu vrijednost. Prognostičku važnost u MDS-u pokazali su i parametri vezani uz dob bolesnika, komorbiditet, fibrozu koštane srži (>2), povišenu vrijednost LDH-a i beta2 mikroglobulina, serumskog albumina, te brojne somatske mutacije. Mijelodisplastični sindrom se najčešće pojavljuje kod starijih bolesnika (prosjeak 70 godina), dok je oko 10% bolesnika mlađe od 50 godina. Incidencija MDS-a je 4/100 000 stanovnika, dok se kod starijih od 70 godina dijagnosticira kod 40-50/100 000 stanovnika (3,4,9).

Patofiziologija MDS-a je kaskada brojnih citogenetskih promjena i mutacija gena koje uključuju i hipermetilaciju gena u uznapredovalim stadijima bolesti. Aberantna metilacija promotora tumor supresorskih gena, rekurentne somatske mutacije u genima koji kodiraju proteine uključene u metilaciju

DNA i kovalentne modifikacije histona, te utjecaj pojedinih microRNA (miRNA), unazad nekoliko godina zauzimaju sve veću dijagnostičku i prognostičku važnost (5-8).

Dosad su provedena brojna istraživanja o molekularnim mehanizmima i epigenetskim putevima u mijelodisplastičnom sindromu, te njihovom prognostičkom i terapijskom značaju, ali je malo studija o važnosti microRNA u MDS-u. U zadnjih nekoliko godina objavljeni su brojni rezultati o utjecaju aberantnog izražaja miRNA u malignim poremećajima, pri čemu su se miRNA pokazali kao tumor supresorski geni ili onkogeni. U pojedinim su tumorima miRNA prepoznate kao dijagnostički i prognostički parametri, te mogući terapijski ciljevi.

MiRNA su male jednolančane RNA približne veličine 20-ak nukleotida kodiranih od strane različitih gena. MiRNA se ne prepisuju u proteine, već reguliraju ekspresiju drugih gena režući, ili češće, smanjujući translaciju njihove glasničke RNA (mRNA). Identifikacija specifičnih miRNA i praćenje promjena u njihovom izražaju u stanicama ili tkivima je važna u razumijevanju regulacije gena, kako u fiziološkim tako i u patološkim stanjima. Ne-kodirajuće male miRNA reguliraju više od 1/3 ljudskih gena djelujući na posttranskripcijskoj razini i utječući na izražaj proteina smanjujući translaciju ili destabilizirajući ciljanu glasničku RNA (8,10-17).

Prvi rad koji je povezao izražaj miRNA u malignim poremećajima, bio je upravo iz područja hematologije. Calin i kolege su identificirali dvije miRNA (miR-15a i miR-16) koje su bile smještene u kromosomskoj regiji 13q14. Ova genomski regija je izbrisana kod većine slučajeva B-KLL, a dvije navedene miRNA su slabijeg izražaja kod oko 70% nositelja ove delecije (18).

MiRNA su grubo podijeljene u tumor supresorske gene i onkogene, a pojedina miRNA može u jednom tumoru biti tumorski supresor, a u drugom onkogen. Svaki tumor ima sebi specifične miRNA koji mogu biti različito izražene. MiRNA ima i kritičnu ulogu u reguliranju razvoja matične stanice i progenitornih stanica u zreliju mijeloidnu stanicu, a njihov pojačan ili smanjen izražaj pokazao se značajnim u onkogenezi i diferenciranju unutar pojedinih hematopoetskih odjeljaka (16,17,19-21).

Visok izražaj pojedinih miRNA u AML, KML, NHL-DLBCL te B-KLL povezan je sa lošijim preživljenjem, slabijim odgovorom na terapiju i većim

rizikom relapsa, iako su pojedini autori pokazali i da snižena razina pojedinih miRNA može pozitivno korelirati s rizikom za relaps ili neuspjehom liječenja. Također je uočeno kako izražaj miRNA u pojedinim hematološkim poremećajima može pridonijeti u određivanju tijeka bolesti, pa i kad su prognostički parametri povoljni (22-32).

Nekoliko je studija dokazalo povezanost izražaja pojedinih miRNA s podtipovima MDS-a te ostalim dosad poznatim prognostičkim parametrima.

Hussein i kolege su analiziranjem 365 miRNA kod 25 MDS-bolesnika pokazali globalno sniženu regulaciju miRNA koje su uključene u normalnu hematopoezu, ukazujući na sličnost sa smanjenim izražajem miRNA u ostalim malignim bolestima (33).

Izražaji miRNA-10a i miRNA-34a mogu diferencirati MDS nižeg u odnosu na visoki rizik. Tako je profil izražaja miRNA u RAEB-1 bio sličan izražajima kod IPSS niskog rizika, dok su u MDS RAEB-2 pokazali sličnost sa miRNA profilom kod AML bolesnika (34-36).

Jedna od studija koja je pokušala povezati izražaj različitih miRNA s poznatim prognostičkim parametrima, uključila je 44 MDS bolesnika te definirala 68 miRNA koje su bile različitog izražaja među MDS bolesnicima visokog i niskog rizika. Izdvojena je miRNA-181b koja je bila pojačano izražena u obje grupe, ali je njen pojačan izražaj u MDS grupi niskog rizika bio povezan s kraćim preživljenjem (37).

Povišen izražaj miR-126 kod bolesnika s MDS povezan je s lošijim preživljenjem, većom učestalošću relapsa i pojačanim izražajem onkogenih (38).

MiR-125b ima više ciljnih molekula preko kojih paralelno kontrolira pro-proliferativne i pro-apop-

totske signalne puteve, a koji moraju biti usko regulirani u fiziološkim uvjetima. Ako se tijekom karcinogeneze izgube mehanizmi regulacije, dolazi do aktiviranja ili blokiranja onkogenih ili tumor supresornih puteva.

Ako je miR-125b smanjenog izražaja, izgubljena je njegova funkcija tumorskog supresora, te dolazi do aktiviranja onkogenih puteva, zaustavljanja pro-apoptotske kaskade te maligne transformacije. Ukoliko je miR-125b pojačano izražen zbog kromosomskih translokacija ili transkripcijskih aktivacija, potaknuti su onkogeni signalni putevi koji smanjuju aktivnost p53 ili ostalih apoptotskih mehanizama. Analizom izražaja miRNA u multiplim hematopoetskim subpopulacijama, uočeno je kako je miR-125b među najviše zastupljenim miRNA u matičnim stanicama i sudjeluje kao regulator hematopoeze na razini matične stanice (39-41).

MiR-125a inhibira eritroidnu diferencijaciju u staničnim linijama leukemije i MDS-a, ali utječe i na granulocitno/monocitnu te megakariocitnu lozu (42-44). Gomez i suradnici su pokazali da razina izražaja miR-125a obrnuto proporcionalno korelira sa preživljenjem bolesnika s MDS-om, a slično vrijedi i za cirkulirajuće miR-99b i let-7e (45).

Navedene su miRNA potencijalni prognostički parametri koji bi se mogli koristiti u kliničkoj praksi s obzirom da cirkuliraju stabilni u perifernoj krvi. Neke od microRNA i pretpostavljeni mehanizam njihovog djelovanja, navedene su u Tablici 1.

Područje istraživanja miRNA je ogromno i raste iz dana u dan donoseći nam nove spoznaje o važnosti ovih malih ne-kodirajućih miRNA u patogenezi različitih tumora.

Pojačan izražaj microRNA		
Tip miRNA	Mjesto djelovanja	Posljedica
miRNA-125	Hematopoetska matična st.	Zatajenje košt.srži, progresija u ak. leukemiju
miRNA-155	Hematopoetska matična st.	Zatajenje košt.srži, progresija u ak. leukemiju
miRNA-222	Leukociti	Neutropenija
miRNA-342	Leukociti	Neutropenija
Smanjen izražaj microRNAs		
Tip miRNA	Mjesto djelovanja	Posljedica
miRNA-146	Hematopoetska matična st. Megakariociti, leukociti	Zatajenje košt. srži, progresija u ak. leukemiju trombocitopenija, neutropenija
miRNA-150	Megakariociti	Trombocitoza (MDS del5q)
miRNA-145	Megakariociti	Trombocitopenija

Tablica 1. Pretpostavljeni model djelovanja različitih microRNA u patogenezi MDS-a (prilagođeno iz Milunović, Mandac Rogulj, Planinc-Peraica i dr. The role of microRNA in myelodysplastic syndromes: beyond DNA methylation and histone modification. European Journal of Haematology; 2016-10 - (2776))

Literatura:

1. Brunning RD, Orazi A, Germing U. Myelodysplastic syndromes/ neoplasms, overview. In: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al., editors. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC press; 2008. Chapter in the book
2. Ma X, Does M, Raza A, Mayne ST. Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. *Cancer*. 2007; 109:1536-42.
3. Ades L., Itzykson R., Fenaux P. Myelodysplastic syndromes. *Lancet* 2014;2239-2252
4. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, Garcia-Manero G, Solé F, Bennett JM, Bowen D, Fenaux P, Dreyfus F, Kantarjian H, Kuendgen A, Levis A, Malcovati L, Cazzola M, Cermak J, Fonatsch C, Le Beau MM, Slovak ML, Krieger O, Luebbert M, Maciejewski J, Magalhaes SM, Miyazaki Y, Pfeilstöcker M, Sekeres M, Sperr WR, Stauder R, Tauro S, Valent P, Vallespi T, van de Loosdrecht AA, Germing U, Haase D. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012; 120:2454-65.
5. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, Tauro S, Gundem G, Van Loo P, Yoon CJ, Ellis P, Wedge DC, Pellagatti A, Shlien A, Groves MJ, Forbes SA, Raine K, Hinton J, Mudie LJ, McLaren S, Hardy C, Latimer C, Della Porta MG, O'Meara S, Ambaglio I, Galli A, Butler AP, Walldin G, Teague JW, Quek L, Sternberg A, Gambacorti-Passerini C, Cross NC, Green AR, Boultonwood J, Vyas P, Hellstrom-Lindberg E, Bowen D, Cazzola M, Stratton MR, Campbell PJ; Chronic Myeloid Disorders Working Group of the International Cancer Genome Consortium. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2013; 122:3616-27.
6. Visconte V, Tiu RV, Rogers HJ. Pathogenesis of myelodysplastic syndromes: an overview of molecular and non-molecular aspects of the disease. *Blood Res*. 2014; 49:216-27.
7. Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L. The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. *Blood*. 2013; 122:4021-34.
8. Chevillet JR, Lee I, Briggs HA, He Y, Wang K. Issues and prospects of microRNA-based biomarkers in blood and other body fluids. *Molecules*. 2014; 19:6080-105.
9. Bejar R, Steensma DP. Recent developments in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2014; 124:2793-803.
10. Vasilatou D, Papageorgiou SG, Dimitriadis G, Pappa V. Epigenetic alterations and microRNAs: new players in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes. *Epigenetics*. 2013; 8:561-70.
11. Acunzo M, Romano G, Wernicke D, Croce CM. MicroRNA and cancer – A brief overview. *Adv Biol Regul* 57 (2015) 1–9
12. Allegra A, Alonci A, Campo S, Penna G, Petrungaro A, Gerace D, Musolino C. Circulating microRNAs: new biomarkers in diagnosis, prognosis and treatment of cancer. *Int J Oncol*. 2012 Dec;41(6):1897-912.
13. Vasilatou D, Papageorgiou SG, Dimitriadis G, Pappa V. Epigenetic alterations and microRNAs: new players in the pathogenesis of myelodysplastic syndromes. *Epigenetics*. 2013; 8:561-70.
14. Issa JP. The myelodysplastic syndrome as a prototypical epigenetic disease. *Blood*. 2013; 121:3811-7
15. Haferlach T, Nagata Y, Grossmann V, Okuno Y, Bacher U, Nagae G, Schnittger S, Sanada M, Kon A, Alpermann T, Yoshida K, Roller A, Nadarajah N, Shiraishi Y, Shiozawa Y, Chiba K, Tanaka H, Koefler HP, Klein HU, Dugas M, Aburatani H, Kohlmann A, Miyano S, Haferlach C, Kern W, Ogawa S. Landscape of genetic lesions in 944 patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2014; 28:241-7.
16. Rhyasen GW, Starczynowski DT. Deregulation of microRNAs in myelodysplastic syndrome. *Leukemia*. 2012; 26:13-22.
17. Chen C. MicroRNAs in myelodysplastic syndromes: how much do we know and not know? *Leuk Res*. 2013; 37:241-2.
18. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, Aldler H, Rattan S, Keating M, Rai K, Rassenti L, Kipps T, Negrini M, Bullrich F, Croce CM. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002; 99:15524-9.
19. Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:287-314.
20. Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: Biogenesis, Function and Role in Cancer. *Curr Genomics*. 2010 Nov;11(7):537-61.
21. Berindan-Neagoe I, Monroig Pdel C, Pasculli B, Calin GA. MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin*. 2014; 64: 311-36.
22. Vasilatou D, Papageorgiou S, Pappa V, Papageorgiou E, Dervenoulas J. The role of microRNAs in normal and malignant hematopoiesis. *Eur J Haematol*. 2010 Jan 1;84(1):1-16.
23. Tagawa H. MicroRNA in Malignant Lymphoma. *Adv Exp Med Biol*. 2015;889:41-50.
24. Wang Y, Sun D, Wang J, Dou A, Zheng C. Predictive value of microRNAs as novel biomarkers in detection of lymphoma. *Int J Clin Exp Med*. 2015 Aug 15;8(8):14479-89. eCollection 2015.
25. Wang G, Zhao R, Zhao X, Chen XI, Wang D, Jin Y, Liu XI, Zhao CI, Zhu Y, Ren C, Li M, Jin X, Zhang F, Zhong Z, Wang T, Li X. MicroRNA-181a enhances the chemotherapeutic sensitivity of chronic myeloid leukemia to imatinib. *Oncol Lett*. 2015 Nov;10(5):2835-2841
26. Jurkovicova D, Lukackova R, Magyerkova M, Kulcsar L, Krivjanska M, Krivjansky V, Chovanec M. MicroRNA expression profiling as supportive diagnostic and therapy prediction tool in chronic myeloid leukemia. *Neoplasma*. 2015;62(6):949-58. doi: 10.4149/neo_2015_115.
27. Rossi M, Tagliaferri P, Tassone P. MicroRNAs in multiple myeloma and related bone disease. *Ann Transl Med*. 2015 Dec;3(21):334.
28. Zhang J, Xiao X, Liu J. The role of circulating miRNAs in multiple myeloma. *Sci China Life Sci*. 2015 Dec;58(12):1262-9.
29. Giza DE, Calin GA. MicroRNA and Chronic Lymphocytic Leukemia. *Adv Exp Med Biol*. 2015;889:23-40.
30. Balatti V, Pekarky Y, Croce CM. Role of microRNA in chronic lymphocytic leukemia onset and progression. *J Hematol Oncol*. 2015 ;8:12.
31. Liu L, Chen R, Zhang Y, Fan W, Xiao F, Yan X. Low expression of circulating microRNA-328 is associated with poor prognosis in patients with acute myeloid leukemia. *Diagn Pathol*. 2015;10:109
32. Shibayama Y, Kondo T, Ohya H, Fujisawa S, Teshima T, Iseki K. Upregulation of microRNA-126-5p is associated with drug resistance to cytarabine and poor prognosis in AML patients. *Oncol Rep*. 2015 ;33(5):2176-82

33. Hussein K, Theophile K, Büsche G, Schlegelberger B, Göhring G, Kreipe H, Bock O. Aberrant microRNA expression pattern in myelodysplastic bone marrow cells. *Leuk Res.* 2010; 34:1169-74.
34. Pons A, Nomdedeu B, Navarro A, Gaya A, Gel B, Diaz T, Valera S, Rozman M, Belkaid M, Montserrat E, Monzo M. Hematopoiesis-related microRNA expression in myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma.* 2009; 50:1854-9.
35. Dostalova Merkerova M, Krejcik Z, Votavova H, Belickova M, Vasikova A, Cermak J. Distinctive microRNA expression profiles in CD34+ bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2011; 19:313-9.
36. Erdogan B, Facey C, Qualtieri J, Tedesco J, Rinker E, Isett RB, Tobias J, Baldwin DA, Thompson JE, Carroll M, Kim AS. Diagnostic microRNAs in myelodysplastic syndrome. *Exp Hematol.* 2011; 39:915-926.
37. Sokol L, Caceres G, Volinia S, Alder H, Nuovo GJ, Liu CG, McGraw K, Clark JA, Sigua CA, Chen DT, Moscinski L, Croce CM, List AF. Identification of a risk dependent microRNA expression signature in myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol.* 2011; 153:24-32.
38. de Leeuw DC, Denkers F, Olthof MC, Rutten AP, Pouwels W, Schuurhuis GJ, Ossenkoppele GJ, Smit L. Attenuation of microRNA-126 expression that drives CD34+38- stem/progenitor cells in acute myeloid leukemia leads to tumor eradication. *Cancer Res.* 2014 Apr 1; 74(7):2094-105.
39. Liao R, Xu Y, Chen M, Chen X, Zhan X, Sun J. Molecular mechanism of microRNA involvement in genesis of myelodysplastic syndrome and its transformation to acute myeloid leukemia. *Hematology.* 2013; 18:191-7.
40. Banzhaf-Strathmann J, Edbauer D. Good guy or bad guy: the opposing roles of microRNA 125b in cancer. *Cell Communication and Signaling.* 2014.12:30
41. Bhagat TD, Zhou L, Sokol L, Kessel R, Caceres G, Gundabolu K, Tamari R, Gordon S, Mantzaris I, Jodlowski T, Yu Y, Jing X, Polineni R, Bhatia K, Pellagatti A, Boultonwood J, Kambhampati S, Steidl U, Stein C, Ju W, Liu G, Kenny P, List A, Bitzer M, Verma A. miR-21 mediates hematopoietic suppression in MDS by activating TGF- β signaling. *Blood.* 2013; 121:2875-81.
42. Zuo Z, Calin GA, de Paula HM, Medeiros LJ, Fernandez MH, Shimizu M, Garcia-Manero G, Bueso-Ramos CE. Circulating microRNAs let-7a and miR-16 predict progression-free survival and overall survival in patients with myelodysplastic syndrome. *Blood.* 2011; 118:413-5.
43. Di Leva G, Garofalo M, Croce CM. MicroRNAs in cancer. *Annual review of pathology.* 2014; 9:287-314.
44. Erdogan B, Facey C, Qualtieri J, Tedesco J, Rinker E, Isett RB, Tobias J, Baldwin DA, Thompson JE, Carroll M, Kim AS. Diagnostic microRNAs in myelodysplastic syndrome. *Exp Hematol.* 2011; 39:915-926.
45. Gañán-Gómez I, Wei Y, Yang H, Pierce S, Bueso-Ramos C, Calin G, et al. (2014) Overexpression of miR-125a in Myelodysplastic Syndrome CD34+ Cells Modulates NF- κ B Activation and Enhances Erythroid Differentiation Arrest. *PLoS ONE* 9(4): e93404.
46. Milunović V, Mandac Rogulj I, Planinc-Peraica A, Bulychева E, Ostojic Kolonic S. The role of microRNA in myelodysplastic syndromes: beyond DNA methylation and histone modification. *European Journal of Haematology;* 2016-10 - (2776)

JACIE akreditacija programa transplantacije krvotvornih matičnih stanica u KBC Zagreb

Doc. dr. sc. Nadira Duraković, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb i Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

E-pošta: nadira.durakovic@gmail.com

Program alogenične transplantacije krvotvornih matičnih stanica (KMS) u KBC Zagreb u posljednjih je 5 godina doživio veliki rast. Razlog tome je dijelom i razvoj nacionalnog Registra dobrovoljnih darivatelja krvotvornih matičnih stanica što je dovelo do veće dostupnosti nesrodnih HLA-podudarnih darivatelja, a dijelom širenjem indikacija za transplantaciju na populaciju starije životne dobi usavršavanjem pristupa kondicioniranjem reduciranog intenziteta. Uz rast programa neminovno je raditi na razvoju kvalitete kako se uspješnost programa ne bi narušila njegovom ekspanzijom. U Zavodu za hematologiju KBC Zagreb smo tako odlučili započeti rad na prijavi za JACIE akreditaciju. Akronim JACIE (Joint Accreditation Committee ISCT EBMT) označava organizaciju za akreditaciju osnovanu od strane Europskog društva za transplantaciju koštane srži i KMS (EBMT) i Međunarodnog društva za staničnu terapiju (ISCT). Međunarodna je to organizacija za postavljanje standarda i akreditaciju, fokusirana na staničnu terapiju, a važno je naglasiti da je neovisna o nadležnim tijelima. Ona je ustanovljena od strane samih liječnika i osoba koje se bave staničnom terapijom i njezin rad uglavnom počiva na radu više od 300 dobrovoljaca koji čine bazu JACIE inspektora. JACIE akreditacija je kompatibilna s EU regulativama (2004/23/EC itd.) i regulativama Sjedinjenih Američkih Država (FDA). JACIE organizacija je osnovana 1997. godine, dok je prvo izdanje standarda za prikupljanje krvotvornih matičnih stanica, obradu i transplantaciju odobreno 1998. godine. Od tada su obavljene 319 prve inspekcije i 163 inspekcije za re-akreditaciju. Trenutno su 44 inspekcije u pripremi, a u vrijeme pisanja ovog članka 185 ustanova u 26 zemalja, uglavnom europskih, ima važeću JACIE akreditaciju. Zašto aplicirati za akreditaciju? U nekim zemljama je akreditacija propisana zakonom odnosno pravilnikom. I Republika Hrvatska je jedna od tih zemalja, no Pravilnik o uvjetima u pogledu prostora, stručnih radnika, medicinsko-tehničke opreme i sustava kvalitete za obavljanje djelatnosti

prikupljanja, uzimanja, testiranja, obrade, očuvanja, pohrane i raspodjele ljudskih tkiva i stanica iz 2013. u članku 35, stavak 2 propisuje da "Banka krvotvornih matičnih stanica mora biti akreditirana prema standardu The Joint Accreditation Committee-ISCT (Europe) and EBMT (JACIE)", a stavak 3 propisuje da "Banka krvi iz pupkovine mora biti akreditirana prema standardu Foundation for Accreditation of Cellular Therapy (FACT-NetCord Accreditation)" dok se za samu transplantaciju odnosno klinički dio programa ne zahtijeva akreditacija. U drugim državama JACIE akreditaciju zahtijevaju pojedina privatna osiguravajuća društva, odnosno nacionalna (kao npr. u Švicarskoj), kao uvjet za pokrivanje troškova transplantacije. Zašto je to tako? Svakako je glavni razlog tome činjenica da je pokazano da je sama priprema za JACIE akreditaciju a svakako dobivanje JACIE akreditacije nedvojbeno povezano s boljim preživljenjem transplantiranih bolesnika u odnosu na centre koji nisu niti planiraju biti akreditirani (1,2).

Pitanje je što točno znači priprema za akreditaciju i koliko je to posla? JACIE akreditacija izdaje Standard koji je podijeljen u 4 dijela: klinički dio, prikupljanje koštane srži, prikupljanje KMS-a iz periferne krvi te obrada odnosno pohranjivanje KMS-a. Svaki dio Standarda propisuje detalje u procesu koji moraju biti zadovoljeni a odnose se na prostor, osoblje, kvalifikacije i edukaciju, poslovne procese, kontrolu kvalitete, praćenje i evaluaciju postignutoga. Priprema za aplikaciju ustanove traje između 12 do 24 mjeseca, nekada i duže, ovisno o veličini i opsegu programa. Uobičajeno je da veći centri odrede osobu koja će isključivo raditi na pripremi aplikacije centra, a tijekom perioda pripreme se svi procesi pregledavaju i razmatraju, definiraju se i pišu standardni operativni postupci. To je jedinstveno vrijeme kada ustvari većina centara prvi put postavlja pitanje: "Zašto ovo radimo ovako?" Najčešći je odgovor pritom: "Zato što smo to uvijek tako radili." Vrijeme pripreme predstavlja jedinstvenu priliku da se ti procesi analiziraju, prouči literatura, konzultiraju stručnjaci iz drugih centara i da se prilagode i promijene postupnici te tako unaprijedi učinkovitost. Bitno je naglasiti da je trud i predanost cijelog tima uvjet za postizanje cilja i implementaciju novih procesa. Standard stavlja poseban naglasak na ne-

koliko važnih dijelova, edukacija je svakako jedan od njih. Niti za jednu aktivnost u okviru Standarda ne postoji formalna edukacija, te Standard definira uvjete specifične edukacije koje članovi tima moraju moći pokazati kao i uvjete za održavanje kompetencija. Standard ujedno nudi i odličan okvir za edukaciju i savladavanje novih vještina, a bavi se ne samo edukacijom liječnika već i sestara i drugog osoblja nužnog u procesu transplantacije, kao što su npr. farmaceuti. Također je naglasak stavljen na procjenu uspješnosti aktivnosti. Jedini način da se aktivnost procijeni učinkovitom odnosno neučinkovitom je da se na neki način kvantificira. Standard zahtijeva definiranje indikatora upravljanja kvalitetom, što je komplicirani naziv za postavljanje mjerljivih ciljeva. Mjerljiv cilj može biti bilo što: mortalitet povezan s transplantacijom, postotak primarnog odbacivanja, broj edukativnih aktivnosti u centru itd. Potrebno je činiti redovitu analizu ishoda u odnosu na definirane indikatore, čime se prepoznaju dijelovi procesa u kojima postoji problem te se može raditi na njihovom ispravljanju. Tako je za klinički program propisana i obavezna analiza najmanje jednom godišnje sljedećih parametara: vremena do prihvatanja transplantata nakon primjene, ukupnog morbiditeta i mortaliteta te morbiditeta i mortaliteta povezanog s transplantacijom nakon 100 i 365 dana od transplantacije, incidencije akutnog GVHD-a stotinu dana nakon alogenične transplantacije, incidencije kroničnog GVHD-a godinu dana nakon alogenične transplantacije te incidencije infekcija centralnog katetera. Tako prikupljeni i analizirani podaci se dijele sa svima uključenima u proces prikupljanja, obrade i distribucije transplantata, a ako nije dostignuto očekivano jednogodišnje preživljenje program mora predložiti korektivne mjere.

Standard veliku pažnju posvećuje darivateljima. Naime, poznato je da darivanje KMS nosi svoje rizike, a do sada su u literature opisani i smrtni ishodi u vremenu neposredno nakon darivanja (3). Također je poznato da su osobito za srodne darivatelje liječnici u stanju prihvatiti darivatelje koji imaju relativne kontraindikacije (nekada i apsolutne), te starije darivatelje u usporedbi s nesrodnim darivateljima (4). Stariji darivatelji su posebno skloni neželjenim događajima vezanim uz darivanje (4,5). Stoga je JACIE Standard od 5-tog izdanja 2012. godine propisao da podobnost srodnih darivatelja ne smiju procjenjivati liječnici koji se inače brinu za bolesnika koji će biti transplantiran odnosno liječnici koji će se brinuti za bolesnika tijekom transplantacije. Tako smo mi u našem centru dogovorili da će srodne da-

rivatelje obraditi i procjenjivati liječnici Registra dobrovoljnih darivatelja KMS-a kako bi osigurali čim veću neutralnost u procjeni podobnosti i osigurali bolju zaštitu darivatelja.

Aplikacija za JACIE akreditaciju svakako nije jeftina. Sama prijava cijelog centra, sve 4 aktivnosti košta oko 13.000 eura. Troškovi pripreme odnose se prije svega na troškove ljudskog rada, odnosno radne sate koje treba uložiti. Jedan je centar kvantificirao broj sati rada koje su njegovi zaposlenici uložili u pripremu centra za aplikaciju te objavio analizu. Riječ je bila o bolnici s 1000 kreveta koja je obavljala oko 40 autolognih transplantacija godišnje. Implementacija programa kontrole kvalitete trajala je 12 mjeseci tijekom kojih su liječnici, medicinske sestre i tehničari uložili ukupno 946.5 radnih sati, što je preračunato u trošak plaća od 150.000 Eura (6). U našem centru priprema teče uz neprekinuti rad na izvršavanju drugih obaveza, te je samim time sporija, ali svakako osim troškova same pripreme neće zahtijevati druga ulaganja, barem ne financijska. No mišljenja smo da će taj trud, i akreditacija kada je jednom dobijemo, značiti bolju skrb našim bolesnicima, i bolje dugoročno preživljenje.

Literatura:

1. Gratwohl A, Brand R, Niederwieser D, Baldomero H, Chabannon C, Cornelissen J et al. Introduction of a quality management system and outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2011;29(15):1980-6.
2. Gratwohl A, Brand R, McGrath E, van Biezen A, Sureda A, Ljungman P et al. Use of the quality management system "JACIE" and outcome after hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*. 2014;99(5):908-15.
3. Halter J, Kadera Y, Ispizua AU, Greinix HT, Schmitz N, Favre G et al. Severe events in donors after allogeneic hematopoietic stem cell donation. *Haematologica*. 2009; 94: 94-101
4. Kadera Y, Yamamoto K, Harada M, Morishima Y, Dohy H, Asano S et al. PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(2):195-200.
5. Anthias C, Ethell ME, Potter MN, Madrigal A, Shaw BE. The impact of improved JACIE standards on the care of related BM and PBSC donors. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(2):244-7.
6. Zahnd D, Leibundgut K, Zenhäusern R, Pabst T, Fontana S, Schneider R et al. Implementation of the JACIE standards for a haematopoietic progenitor cell transplantation programme: a cost analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2004;34: 847-853.

Kronična bolest presatka protiv primatelja u KBC Zagreb – stručni i znanstveno-istraživački izazovi

Dražen Pulanić¹, Lana Desnica², Ranka Serventi-Seiwerth², Marinka Mravak-Stipetić³, Ervina Bilić⁴, Romana Čeović⁵, Nikolina Matić², Nadira Duraković², Zinaida Perić², Ljubica Rajić⁶, Ernest Bilić⁶, Tajana Klepac Pulanić⁷, Igor Petriček⁸, Dina Ljubas⁹, Tamara Vukić¹⁰, Ivan Alerić¹¹, Davorka Dušek¹², Toni Matić⁶, Ines Bojanić¹³, Sanja Mazić¹³, Ema Prenc¹⁴, Iva Ozana Prah², Magdalena Grce¹⁵, Drago Batinić¹⁶, Renata Zadro¹⁶, Radovan Vrhovac², Steven Živko Pavletić¹⁷, Damir Nemet¹

¹Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC Zagreb, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Medicinski fakultet Osijek Sveučilište J.J. Strossmayera u Osijeku, ²Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ³Zavod za oralnu patologiju, Klinika za stomatologiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ⁴Klinika za neurologiju KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ⁵Klinika za kožne i spolne bolesti KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ⁶Klinika za pedijatriju, Zavod za hematologiju i onkologiju KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ⁷Dom zdravlja istok, Zagreb, ⁸Klinika za oftalmologiju KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ⁹Zavod za gastroenterologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ¹⁰Klinički zavod za rehabilitaciju i ortopedsku pomagala KBC Zagreb, ¹¹Klinika za plućne bolesti Jordanovac KBC Zagreb, Medicinski fakultet Osijek Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku, ¹²Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", ¹³Zavod za transfuziologiju KBC Zagreb, ¹⁴Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti Krohem, ¹⁵Institut Ruđer Bošković, ¹⁶Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku KBC Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, ¹⁷Center for Cancer Research, National Cancer Institute, National Institutes of Health, Bethesda, SAD

Adresa autora za kontaktiranje:

Doc. dr. sc. Dražen Pulanić, dr. med.

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Medicinski fakultet Osijek Sveučilište J.J. Strossmayer u Osijeku

E-pošta: dpulanic@yahoo.com

Kronična bolest presatka protiv primatelja (eng. *Chronic Graft versus Host Disease - cGVHD*) najvažnija je kasna komplikacija nakon transplantacije alogeničnih krvotvornih matičnih stanica (aloT-KMS) i vodeći uzrok morbiditeta i mortaliteta koji nije povezan s relapsom osnovne bolesti u osoba nakon aloTKMS-a. Incidencija cGVHD-a je od 40 do 70% ovisno o pojedinim studijama, u porastu je zbog starije životne dobi transplantiranih bolesnika, sve manjeg peritransplantacijskog mortaliteta, upotrebe perifernih krvotvornih matičnih stanica i sve većeg broja transplantacija od nesrodnog darivatelja. Kronični GVHD zahvaća brojne organe, zahtijeva multidisciplinarni pristup s različitim subspecijalistima i dugotrajnu imunosupresivnu terapiju. Godine 2005. National Institutes of Health (NIH) konsenzus o cGVHD-u značajno je promijenio tadašnje standarde za postavljanje dijagnoze, klasifikacije i stupnjevanja bolesti, kao i mjerenje odgovora na terapiju rezultirajući sa šest konsenzus publikacija u časopisu *Biology of Blood and Marrow*

Transplantation (BBMT). U lipnju 2014. godine održan je u SAD-u novi NIH konsenzus o cGVHD-u koji je modificirao navedene standarde dopunivši ih novim saznanjima o cGVHD-u, što je rezultiralo s novih šest konsenzus publikacija u BBMT časopisu.

U prethodnim brojevima Biltena Krohema izvijestili smo da je u KBC Zagreb u 2013. godini formiran multidisciplinarni tim za liječenje cGVHD-a i dugotrajnih komplikacija nakon aloTKMS u suradnji s National Cancer Institute (NCI), NIH, SAD uz projektnu potporu fonda „Jedinstvo uz pomoć znanja“ (eng. *Unity Through Knowledge Fund, UKF*) financiran od Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta RH i Svjetske banke. Riječ je o međunarodnom projektu „*Clinical and biological factors determining severity and activity of chronic Graft-versus-Host Disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*“, čiji su voditelji prof. dr. Steven Živko Pavletić iz NCI/NIH, SAD, i prof. dr. Damir Nemet iz Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i KBC Zagreb. Taj UKF-ov projekt

istraživanja kroničnog GVHD-a trajao je pune dvije godine uz sudjelovanje osam institucija (NCI/NIH iz SAD, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb, Stomatološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Institut Ruđer Bošković, Klinika za infektivne bolesti “Dr. Fran Mihaljević”, Dom zdravlja Zagreb – istok, Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti KROHEM), uz suradnju niza kliničara i laboratorijskih istraživača različitih specijalnosti (Slika 1. i Slika 2.). Projekt je završio s pozitivnim recenzijama a uspostavljeni multidisciplinarni tim za kronični GVHD KBC Zagreb nastavlja dalje s radom.



Slika 1.



Slika 2

Koristeći detaljni multidisciplinarni pristup do sada je u KBC Zagreb sustavno analizirano 96 bolesnika nakon aloTKMS-a, od kojih je u 53 dokazan cGVHD a 43 nisu imali kriterije za postavljanje dijagnoze cGVHD-a, te su kontrolna skupina ispitanika. Većina oboljelih je imala klasični kronični GVHD, najčešće zahvaćeni organi bili su koža i oči, a većina bolesnika imala je težak oblik bolesti (NIH

cGVHD skor 3). Nakon detaljne multidisciplinarne analize niza subspecijalista korištenjem najsuvermenijih svjetskih NIH cGVHD standarda i kriterija, bolesnici su ekstenzivno prikazani i raspravljeni na sastancima tima za cGVHD uz daljnje preporuke liječenja i praćenja.

Osim formiranja multidisciplinarnog tima za cGVHD i stručne aktivnosti, projekt o kroničnom GVHD-u rezultirao je razvojem niza kliničkih i laboratorijskih znanstveno-istraživačkih potprojekata, razvojem originalne baze podataka, nabavkom opreme, izradom web stranice projekta, te znanstvenoj produkciji. Znanstvena produkcija se očitovala u aktivnom sudjelovanju članova tima s posterima ili usmenim prezentacijama na nizu međunarodnih i domaćih znanstvenih kongresa i sastanaka (6. kongres Hrvatskog društva hematologa i transfuziologa s međunarodnim sudjelovanjem, Rovinj, ožujak 2014.; međunarodni kongres European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT), Milano, Italija, travanj 2014.; međunarodni kongres European Federation for Neurological Societies - Joint Congress of European Neurology, Istanbul, Turska, svibanj, 2014.; redovni polugodišnji sastanak KROHEM-a u Osijeku, studeni 2014.; međunarodni kongres EBMT u Istanbulu, Turska, ožujak 2015.; međunarodni kongres Leukemia and Lymphoma u Dubrovniku, rujan 2015.; redovni polugodišnji sastanak KROHEM-a u Zadru, studeni 2015.; međunarodni kongres EBMT u Valenciji, Španjolska, travanj 2016.), te publikacijama. Do sada su objavljena tri rada naše skupine u časopisima indeksiranim u CC/SCI, a još četiri su tijekom pisanja ovog teksta u postupku recenzije u indeksiranim časopisima. U suradnji s uredništvom časopisa Croatian Medical Journal (CMJ) ostvaren je tematski broj tog časopisa o kroničnom GVHD, gdje su sudjelovali i autori iz SAD, Njemačke, Austrije, Poljske i Španjolske, uz domaće autore. Doktorandica Ema Prenc, zaposlena na UKF projektu, uspješno je prijavila i obranila temu svog doktorata iz područja cGVHD na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (mentori prof. dr. Steven Živko Pavletić i doc. dr. Dražen Pulanić). U ožujku 2016. je članica našeg tima za cGVHD dr. Lana Desnica uspješno obranila doktorsku disertaciju s temom iz područja cGVHD na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu (mentori prof. dr. Steven Živko Pavletić i prof. dr. Boris Labar). Nekoliko članova našeg tima za cGVHD je sudjelovalo na međunarodnim sastancima o cGVHD u Europi i SAD razvijajući suradnju s kolegama koji se bave kroničnim GVHD. Također, nekoliko čla-

nova tima bilo je tijekom trajanja UKF projekta na kraćim stručno-znanstvenim boravcima u NCI/NIH u SAD-u (doktorandica Ema Prenc, poslijedoktorandica dr. sc. Iva Ozana Prah, članovi tima prof. dr. Marinka Mravak-Stipetić, dr. sc. Tamara Vukić, dr. sc. Lana Desnica, doc. dr. Dražen Pulanić).

Tijekom razdoblja UKF projekta aplicirali smo s prijedlozima novih cGVHD projekata na dva natječaja Europske Unije Horizon 2020, gdje je institucija iz Republike Hrvatske bila koordinator predloženih projekata a suradne ustanove iz različitih zapadnoeuropskih država. Iako smo u prvom projektnom prijedlogu prošli prvi stupanj izuzetno rigorozne međunarodne recenzije, a u drugom projektnom prijedlogu dobili vrlo dobre ocjene, u konačnici nisu odobreni navedeni novi projekti. Također, aplicirali smo s novim projektom i na natječaj Hrvatske akademije znanosti i umjetnosti (HAZU), gdje još očekujemo ishod.

Međunarodna aktivnost u području kroničnog GVHD-a rezultirala je i organizacijom dva vrlo uspješna međunarodna simpozija o kroničnom GVHD održana u Zagrebu u studenom 2013. i svibnju 2015. (organizatori prof. dr. Damir Nemet i prof.

dr. Steven Živko Pavletić) gdje je sudjelovalo niz vrhunskih međunarodnih stručnjaka iz područja kroničnog GVHD-a (primjerice, prof. dr. Steven Živko Pavletić, SAD, prof. dr. Daniel Wolff, Njemačka, prof. dr. Hildegard Greinix i dr. Anita Lawitschka, Austrija, prof. dr. Rafael Duarte, Španjolska, prof. dr. Grzegorz Basak, Poljska, dr. Edward Cowen, SAD, prof. dr. Anne Dickinson, UK) kao i članovi cGVHD tima iz Zagreba. Ove godine, od 19. do 21. rujna 2016., u Zagrebu organiziramo 3. međunarodni simpozij o kroničnom GVHD-u, ovog puta i s naprednim poslijediplomskim edukacijskim tečajem gdje očekujemo 14 najuglednijih međunarodnih predavača iz SAD, Kanade i Europe, uz domaće stručnjake (Slika 3.).

U zaključku, rad multidisciplinarnog tima za kronični GVHD KBC Zagreb omogućio je najsuvremenije svjetske NIH standarde evaluacije i liječenja naših bolesnika s cGVHD, te produktivnu međunarodnu znanstveno-stručnu suradnju našeg centra s inozemnim institucijama i skupinama koje se bave cGVHD-om, pozicionirajući KBC Zagreb i hrvatsku hematologiju na jedno od vodećih mjesta u Europi u ovom važnom biomedicinskom području.

SAVE THE DATE AND REGISTER!
3rd International Symposium and Advanced Postgraduate Course in CHRONIC GRAFT-VERSUS-HOST DISEASE: CLINICAL PRACTICE AND RESEARCH

Zagreb, Croatia
September 19 – 21, 2016

Course directors:
S.Pavletic, S.Lee, H.Greinix, D. Pulanic, D. Nemet

<https://eventyco.com/e/12179>

KBC
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET
NATIONAL CANCER INSTITUTE
Krolem

Slika 3.

Kalendar predstojećih hematoloških skupova

Priredila: Vlatka Periša, dr. med.

- **Proljetni sastanak KROHEMA** od 21.04 do 23.04.2016 (Osijek, Hrvatska)
- **24th EMLTD Biennial International Congress on Thrombosis**
od 04.05 do 07.05.2016 u Istanbulu (Turska)
- **European Focus on Myeloproliferative Neoplasms and Myelodysplastic Syndromes**
od 06.05 do 08.05.2016 u Zagrebu (Hrvatska)
- **ESH-EBMT 20th Training Course on Haemopoietic Stem Cell Transplantation -**
od 11.05 do 14.05.2016 u Budimpešti (Mađarska)
- **ISCL Scientific & Annual General Meeting Cutaneous T Cell Lymphoma Symposium @ SID Annual Meeting** 12.05.2016 Scottsdale (SAD)
- **8th Symposium on Hemostasis** od 12.05 do 14.05.2016 u Chapel Hill (SAD)
- **2016 ASH Meeting on Lymphoma Biology** od 18.06 do 21.06.2016 Broadmoor (SAD)
- **Anti-Thrombosis Masterclass (8th Edition)** od 20.05 do 22.05.2016 u Vilnius (Litva)
- **SSC 2016: 62nd Annual Meeting of the SSC of the ISTH**
od 25.05 do 28.05.2016 u Montpellier (Francuska)
- **21st Congress of the European Hematology Association (EHA)**
od 09.06 do 12.06. 2016 u Kopenhagenu (Danska)
- **SVM 27th Annual Meeting** od 15.06 do 18.06.2016 u Long Beach (SAD)
- **3rd Thrombin Summer School** od 16.06. do 17.06.2016 u Maastricht (Nizozemska)
- **EHA-ROHS-RSH Hematology Tutorial on Managing complications in patients with hematologic malignancies in the era of the new drugs**
od 01.07 do 03.07.2016 u Moskvi (Rusija)
- **World Federation of Hemophilia World Congress**
od 24.07 do 28.07.2016 u Orlandu (SAD)
- **Gordon Research Conference on Hemostasis**
od 24.07 do 29.07.2016 u Stowe, Vermont (SAD)
- **EHA-SAH Hematology Tutorial on Thrombosis, Hemostasis & Myeloid Malignancies** od 27.08 do 28.08.2016 u Buenos Aires (Argentina)
- **34th International Congress of the ISBT, Dubai, UAE**
od 04.09 do 08.09.2016 u Dubaiju (UAE)
- **ISTH Advanced Training Course in Thrombosis and Hemostasis**
od 06.09 do 09.09.2016 u Oxfordu (Velika Britanija)
- **2nd International Conference on New Concepts in B-Cell Malignancies**
od 09.09 do 11.09.2016 u Estorilu (Portugal)
- **EHA Scientific Conference on Bleeding Disorders**
od 14.09. do 17.09.2016 u Barceloni (Španjolska)
- **18th Annual John Goldman Conference on Chronic Myeloid Leukemia: Biology and Therapy** od 15.09 do 18.09.2016 u Houstonu (SAD)

- **Platelets 2016: 9th International Symposium**
od 16.09 do 20.09.2016 u Wellesley, Massachusetts (SAD)
- **3rd International Symposium and Advanced Postgraduate Course in Chronic Graft-versus-Host Disease: Clinical Practice and Research**
od 19.09. do 21.09.2016 u Zagrebu (Hrvatska)
- **2016 European Congress on Thrombosis and Haemostasis (ECTH)**
od 28.09 do 30.09.2016 u Hagu (Nizozemska)
- **3rd International Conference on Multiple Myeloma**
od 07.10 do 09.10.2016 u Milanu (Italija)
- **23rd International Congress on Fibrinolysis & Proteolysis**
od 17.10 do 21.10.2016 u Shizuoka (Japan)
- **3rd Congress on Controversies in Thrombosis and Hemostasis (CiTH)**
od 20.10 do 22.10.2016 u Moskvi (Rusija)
- **Turkish Society of Hematology - EHA-TSH Joint Symposium**
21.10.2016 u Antalya Turska
- **3rd World Congress of Cutaneous Lymphomas (3WCCL)**
od 26.10 do 28.10.2016 u New York (SAD)
- **ROHS International Conference on Malignant Lymphoma – EHA-ROHS Joint Symposium** od 27.10 do 28.10.2016 u Moskvi (Rusija)
- **7th International Conference on Myeloproliferative Neoplasms**
od 27.10 do 29.10.2016 u Estorilu (Portugal)
- **Best Clinical Practice with LMWH** 29.10.2016 u Seville (Španjolska)
- **EHA-ISHBT Haematocon 2016 - Joint Symposium**
od 10.11 do 13.11.2016 u Jaipur (Indija)
- **KSH 57th Fall Meeting - EHA-KSH Joint Symposium**
od 11.11 do 12.11.2016 Dae-Jioun (Južna Koreja)
- **HSANZ Annual Meeting – EHA-HSANZ Joint Symposium**
od 13.11 do 16.11.2016 u Melbourne (Australija)

Izbori za upravljačka tijela KROHEM-a u Zadru

Dijana Perčin, bacc. oecc.

Izborna skupština na kojoj su birana nova upravljačka tijela KROHEM-a održana je 7. studenog 2015., tijekom redovitog jesenskog sastanka KROHEM-a u Zadru.

Radno predsjedništvo sačinjavali su:

Prof. dr. Slavko Gašparov, predsjednik, prim. dr. Velka Gverić Krečak,
prim. dr. Jasminka Sinčić Petričević.

Zapisničar: Dijana Perčin, bacc. oecc.

Izborno i verifikacijsko povjerenstvo: Prof. dr. Ozren Jakšić, doc. dr. Dražen Pulanić,
dr. sc. Marko Martinović.

Ovjerovitelji zapisnika: Prof. dr. Antica Duletić-Naćinović, prof. dr. Ljubica Rajić.

Upravni odbor KROHEM-a je na svojoj sjednici održanoj 02.10.2015. godine ustanovio sljedeće prijedloge i liste kandidata za upravljačka tijela KROHEM-a:

Predsjednik: Prof. dr. Damir Nemet

Dopredsjednik: Prof. dr. Slobodanka Ostojić-Kolonić

Predsjednik u idućem mandatnom razdoblju: Prof. dr. Igor Aurer

Upravni odbor:

Prof. dr. Ernest Bilić

Prim. dr. Dubravka Čaržavec

Dr. sc. Njetočka Gredelj-Šimec

Prim. dr. Marinka Jakić Bubalo

Prof. dr. Vlatko Pejša

Prim. dr. Jasminka Sinčić Petričević

Prim. dr. Dubravka Sertić

Prof. dr. Toni Valković

Nadzorni odbor:

Prim. dr. Božena Coha

Prof. dr. Slavko Gašparov

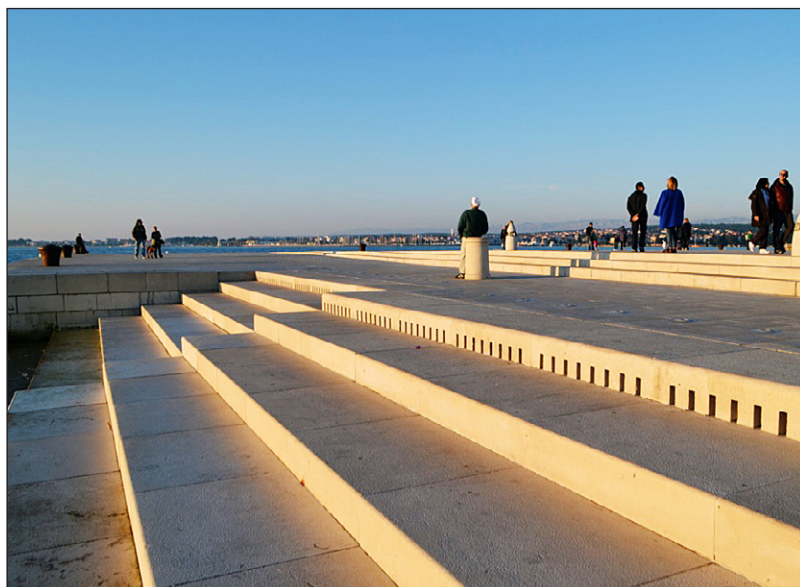
Prim. dr. Ranka Serventi-Seiwerth

Skupština KROHEM-a je tajnim glasovanjem izabrala predložene kandidate za sva tijela KROHEM-a. Mandat Predsjednika, Dopredsjednika, Upravnog i Nadzornog odbora trajat će četiri godine.



Fotografije s posljednjeg sastanka KROHEM-a u Zadru u studenome 2015. godine

Prim. Dubravka Sertić, dr. med.



This image shows a single page from a notebook or ledger. The page is white and features approximately 28 evenly spaced, thin grey horizontal lines running across its entire width. There are no vertical margin lines, headers, footers, or any other markings present on the page.

[illegible]

[illegible]

