

Bilten Krohema

Glasilno Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem

U ovom broju izdvajamo:

Hematologija u doba COVID-19 pandemije
Prvo liječenje CAR-T stanicama u KBC Zagreb
Prve hrvatske smjernice za aplastičnu anemiju
Dopunjene hrvatske smjernice za KLL
Endovaskularno liječenje posttrombotskog sindroma

Volumen 12., Broj 1.

Krohema

Impresum

Bilten Krohema
Glasilo Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem
Volumen 12., Broj 1., Svibanj 2020.

ISSN 1847-2273 (tiskana inačica)
ISSN 2584-7244 (mrežna inačica, on-line)

Nakladnik:

Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti KroHem

Za nakladnika:

Igor Aurer

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:

Igor Aurer	Hrvoje Holik	Steven Živko Pavletić
Sandra Bašić Kinda	Ida Hude	Vlatko Pejša
Ernest Bilić	Marinka Jakić-Bubalo	Dražen Perkov
Ana Boban	Branko Jakšić	Zinaida Perić
Martina Bogeljić Patekar	Ozren Jakšić	Vlatka Periša
Marija Burek Kamenarić	Rajko Kušec	Dražen Pulanić
Božena Coha	Antonela Lelas	Maria Radman
Srđana Čulić	Inga Mandac Rogulj	Mirela Raos
Dajana Deak	Marko Martinović	Jelena Roganović
Lana Desnica	Vibor Milunović	Dubravka Sertić
Barbara Dreta	Karla Mišura-Jakubac	Ranka Serventi Seiwert
Nadira Duraković	Zdravko Mitrović	Jasminka Sinčić-Petričević
Davorka Dušek	Marinka Mravak Stipetić	Toni Valković
Petar Gaćina	Stefan Mrđenović	Marijo Vodanović
Davor Galušić	Damir Nemet	Radovan Vrhovac
Aron Grubešić	Karlo Novačić	Silva Zupančić Šalek
Zorana Grubić	Sabina Novaković Coha	Renata Žunec
Velka Gverić-Krečak	Slobodanka Ostojić-Kolonić	Dubravka Županić Krmek

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.

Svi dosadašnji brojevi Biltena Krohema u potpunosti su dostupni su na web stranicama KroHema: www.krohema.hr

Sadržaj

Igor Aurer: Uvodnik	3
Rajko Kušec, Toni Valković, Igor Aurer, Ranka Serventi Seiwert, Inga Mandac Rogulj: Liječenje hematoloških bolesnika u uvjetima COVID-19 pandemije	4
Inga Mandac Rogulj: Hematološke zloćudne bolesti u doba COVID-19	6
Jelena Roganović: Izazovi pedijatrijske onkologije u COVID-19 pandemiji	8
Davorka Dušek: COVID-19 kod imunokompromitiranih bolesnika	11
Srdana Čulić: Djelovanje vitamina D na virusne infekcije i utjecaj njegovog nedostatka na virus gripe i SARS-CoV-2	13
Igor Aurer, Ernest Bilić: Liječenje <i>CAR-T</i> stanicama u Hrvatskoj u KBC Zagreb – Rebro	20
Igor Aurer, Karla Mišura-Jakubac, Jasminka Sinčić-Petričević, Dajana Deak, Marijo Vodanović, Marinka Jakić-Bubalo, Zdravko Mitrović, Aron Grubešić, Barbara Dreta, Dubravka Županić Krmek, Božena Coha: Poboljšanja u ishodu limfoma plaštenih stanica su uglavnom posljedica bolje uvodne terapije i transplantacije autolognih matičnih krvotvornih stanica	22
Igor Aurer, Ozren Jakšić, Sandra Bašić-Kinda, Karla Mišura Jakobac, Jasminka Sinčić-Petričević, Sabina Novaković Coha, Davor Galušić, Hrvoje Holik, Toni Valković, Dubravka Županić-Krmek, Ida Hude, Vibor Milunović, Vlatko Pejša: Podnošljivost kombinacija obinutuzumaba i viših doza klorambucila u prvoj liniji liječenja kronične limfocitne leukemije	23
Vlatko Pejša, Branko Jakšić, Slobodanka Ostojić-Kolonić, Sandra Bašić Kinda, Božena Coha, Velka Gverić-Krečak, Ozren Jakšić, Jasminka Sinčić-Petričević, Martina Bogeljić Patekar, Petar Gaćina, Igor Aurer: Smjernice za liječenje kronične limfocitne leukemije – veljača 2020.	24
Stefan Mrdenović: Djelovanje konjugata blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske fluorescentne boje i cisplatinu na staničnim i animalnim modelima hematoloških tumora	29
Marko Martinović: Plućna toksičnost ciljanih lijekova	33
Marinka Mravak Stipetić, Maria Radman, Dražen Pulanić: Oralne manifestacije nemalighnih hematoloških bolesti	38
Dražen Pulanić, Lana Desnica, Ana Boban, Slobodanka Ostojić Kolonić, Toni Valković, Velka Gverić-Krečak, Ranka Serventi Seiwert, Radovan Vrhovac, Silva Zupančić Šalek, Rajko Kušec, Igor Aurer: Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje stečene aplastične anemije u odraslih	42

Mirela Raos, Dražen Pulanić: Definicije bolesti i kriteriji za praćenje terapijskog odgovora autoimunskih hemolitičkih anemija	48
Karlo Novačić, Dražen Perkov: Endovaskularno liječenje posttrombotskog sindroma	50
Marija Burek Kamenarić, Zorana Grubić, Renata Žunec: Geni KIR u transplantaciji krvotvornih matičnih stanica	55
Dražen Pulanić, Lana Desnica, Antonela Lelas, Zinaida Perić, Nadira Duraković, Ranka Serventi Seiwerth, Radovan Vrhovac, Steven Živko Pavletić: Sedam godina Multidisciplinarnog tima za liječenje kronične bolesti presatka protiv primatelja u KBC-u Zagreb	58
Damir Nemet: Aktivnosti Zaklade KroHem-a u poticanju edukacije, istraživanja i izvrsnosti u hematologiji	59

Uvodnik

Drage kolegice i kolege, članice i članovi KroHema!

Ponovno me zapala teška dužnost pisanja uvodnika za Bilten KroHema, no ovaj put su okolnosti drugačije što mi ipak olakšava posao.

Na žalost, nećemo se ove godine vidjeti u Novom Vinodolskom. Pandemija COVID-19 je i nama pomrsila planove, uspjeli smo još u zadnji čas održati sastanak Radne skupine za multipli mijelom u Medulinu. Nikoga od nas nisu mimoišle promjene koje je ova bolest donijela. Neki su privremeno prestali biti hematolozi i prekomandirani su u infektologe ili intenziviste. Neki su prisilno poslani kući na čekanje, a neki su to jedva dočekali. Neki su morali savladati korištenje elektronskih načina komunikacije, što su do sada uporno izbjegavali. Prekinute su specijalizacije i nastava, pojedini odjeli su iseljeni iz svojih i preseljeni u druge, manje i neadekvatnije prostore. Među razmjerno malom broju umrlih u Hrvatskoj, koliko znamo nema ni jednog člana KroHema, a nismo imali niti jedan slučaj jatrogenog širenja zaraze na bolesnike. To nije samo sreća, već i potvrda odlične organiziranosti i obučenosti naših članova koji su uspjeli postići da i u ovim okolnostima hematologija u Hrvatskoj funkcionira. Vrlo brzo smo objavili smjernice za postupanje tijekom epidemije (možete ih pročitati i u ovom broju Biltena), nastavili liječiti naše bolesnike manje-više kao do sada, štoviše uspješno smo izveli i prve infuzije CAR-T stanica u ovom dijelu svijeta.

Iako je sastanak u Novom Vinodolskom otkazan, zapravo odgođen do svibnja 2021, aktivnosti

KroHema nisu zamrle. Radne skupine rade na osuvremenjavanju postojećih i stvaranju novih smjernica. Nekoliko sažetaka nam je prihvaćeno za ovogodišnji kongres Europskog hematološkog društva koji će nažalost biti virtualan, a nastavljamo s prikupljanjem i analizom podataka za buduće radove. Neprilike koje je COVID-19 pandemija uzrokovala su nam čak olakšale neke od tih aktivnosti jer se pojedini, pogotovo mlađi članovi, dosađuju dok su u pripravnosti i imaju više vremena i volje baviti se znanošću.

Što nosi budućnost, teško je reći. Hrvatski hematološki kongres, koji bi se trebao održati u rujnu u Splitu, još nije otkazan niti prebačen u svijet virtualne egzistencije u očekivanju drugog vala epidemije. Ako kongresa ne bude, nastojat ćemo najesen organizirati sastanak KroHema, bilo stvarni, virtualni ili možda kombinirani. Veliko je pitanje kakve će dugoročne posljedice na dostupnost skrbi o hematološkim bolesnicima imati ekonomska i ljudska kriza koja će nastupiti zbog epidemije i mjera uvedenih za njeno usporavanje. Kako god bilo, treba imati na umu da je smrtnost zloćudnih i po život opasnih hematoloških bolesti znatno veća od smrtnosti infekcije COVID-19 virusom, a mi smo do sada smo već puno puta dokazali kako smo spretni i snalažljivi i ne sumnjam da ćemo i dalje nastaviti održavati hrvatsku hematologiju na zavidnoj razini na korist bolesnicima i zadovoljstvo nama!

Vaš predsjednik
Prof. dr. Igor Aurer

Liječenje hematoloških bolesnika u uvjetima COVID-19 pandemije



Hrvatska kooperativna grupa za hematološke bolesti

Za Upravni odbor HRDH:

Prof. dr. sc. Rajko Kušec, predsjednik

Prof. dr. sc. Toni Valković, dopredsjednik HRDH

Prof. dr. sc. Igor Aurer, predsjednik KroHem-a

Prim. Ranka Serventi Seiwert, dr. med.

Inga Mandac Rogulj, dr. med.

Ove preporuke se odnose na bolesnike s aktivnim zloćudnim i po život opasnim hematološkim bolestima, bolesnike u fazi aktivnog liječenja i one koji su zbog naravi svoje bolesti i/ili liječenje značajno imunokompromitirani.

Smrtnost neodgovarajuće liječenih zloćudnih i po život opasnih hematoloških bolesti je općenito veća, nego smrtnost infekcije COVID-19 pa i u fazi epidemije sve bolesnike treba nastojati liječiti optimalno, na isti način kao i inače.

Većina izvješća u literaturi sugerira da je smrtnost infekcije u hematoloških bolesnika veća nego u općoj populaciji, no postoje i suprotni primjeri. U nedostatku dokazano učinkovitog liječenja, treba nastojati smanjiti rizik infekcije kako u bolesnika, tako i u zdravstvenih djelatnika koji liječe hematološke bolesti.

Pod povećanim rizikom od komplikacija COVID-19 infekcije su hematološki bolesnici s težom imunodeficijencijom (IgG < 4g/L); limfopenijom (limfociti manji od $0,20 \times 10^9/L$); produljenom neutropenijom; starije životne dobi.

Zbog toga preporučujemo sljedeće:

Bolesnici

- 1) Bolesnici se trebaju strogo pridržavati mjera samoizolacije, održavanja socijalne distance, higijenskih i ostalih mjera u skladu s preporukama nadležnih službi.
- 2) Bolesnike treba savjetovati o važnosti pridržavanja zdravih navika: prestati pušiti, smanjiti tjelesnu težinu, pridržavati se raznovrsne prehrane (posebno bogate vitaminom C).
- 3) Hematološki bolesnici koji nisu u samoizolaciji i kod kojih nema kliničke sumnje da su inficirani COVID-19 trebaju u stacionarne i polikliničke hematološke odjele ulaziti putem koji je odvojen od puteva kojima dolaze febrilni bolesnici ili oni kod kojih postoji sumnja na infekciju.
- 4) Bolesnici, koje je zbog vrućice potrebno hitno hospitalizirati, a postoji klinička sumnja na infekciju COVID-19, potrebno je testirati na infekciju i zbrinuti u zasebnom bolničkom odjelu gdje će biti izolirani jedni od drugih i gdje će primati antimikrobno i drugo liječenje po preporuci hematologa do pristizanja nalaza testa. U bolesnika sa simptomima od strane donjeg respiratornog trakta uputno je napraviti CT pluća. Ako je nalaz testa negativan, a radiološki nalaz nije tipičan za pneumonitis povezan s COVID-19, treba ih premjestiti na hematološki odjel. Ako je nalaz pozitivan ili CT govori za infekciju, treba ih hospitalizirati na odjelu za zbrinjavanje bolesnika inficiranih COVID-19 uz terapiju po preporuci hematologa vodeći računa da su u bolesnika hospitaliziranih zbog COVID-19 infekcije donjeg respiratornog trakta često javljaju sekundarne bakterijske i gljivične pneumonije.
- 5) Liječenje bolesnika u samoizolaciji i onih s dokazanom infekcijom treba, ako je moguće, odgoditi do završetka razdoblja samoizolacije,

odnosno izlječenja infekcije. Ako to nije moguće, treba ih početi liječiti po preporukama hematologa u odjelu za suspektne bolesnike, izolirane od drugih bolesnika, odnosno u odjelu za COVID-19 inficirane bolesnike. U asimptomatskih bolesnika negativan nalaz brisa ne isključuje infekciju u fazi inkubacije.

- 6) Nije opravdano dodavati dodatnu antimikrobnu terapiju/profilaksu kod hematoloških bolesnika, uz standardnu profilaksu koju bolesnik od ranije uzima (vezanu uz pojedine imunokemoterapijske protokole), ako bolesnik nema znakova infekcije.
- 7) Bolesnike s aktivnom bolesti koja ne reagira na uobičajeno liječenje i one koji su zbog dobi ili komorbiditeta nedostupni liječenju, a koji su inficirani COVID-19, ne treba primati u jedinice intenzivne skrbi i stavljati na respirator, već im treba pružiti optimalnu palijativnu skrb.
- 8) Prije početka kondicioniranja za transplantaciju autolognih (aTKS) ili alogeničnih matičnih krvotvornih stanica (aloTKS) bolesnike treba testirati na COVID-19. Bolesnike treba testirati i prije prikupljanja transplantata za aTKS.
- 9) Darivatelje transplantata za aloTKS treba testirati prije prikupljanja. Prije početka kondicioniranja transplantat treba biti prikupljen i zamrznut u centru u kojem će se liječiti primatelj.

Kronična terapija

Preporuke za bolesnike inficirane COVID-19 na kroničnoj hematološkoj terapiji:

- 1) Visoke doze steroida ($> 1\text{mg/kg/dan}$ prednizona ili ekvivalent) treba smanjiti na dozu $< 1\text{mg/kg}$. Manje doze steroida ($< 1\text{mg/kg/dan}$ prednizona ili ekvivalent) treba nastaviti.
- 2) Ruksolitinib, inhibitore ABL, anagrelid i agoniste TPO-R treba nastaviti.
- 3) Liječenje citotoksičnim lijekovima (uključujući inhibitore proteasoma), monoklonskim protutijelima, inhibitorima BCR puta, imunomodulatorima i inhibitorima BCL2 treba privremeno prekinuti. U slučaju egzacerbacije hematološke bolesti treba individualno procijeniti moguću korist i štetu od ponovnog uvođenja terapije.

- 4) Visoke doze IVIg (1 g/kg ili više po aplikaciji) treba obustaviti. Nadomjesne doze IVIg (0,4-0,5 g/kg/aplikacija) treba nastaviti (osobito ako je IgG $< 4\text{g/L}$).

Zdravstveni djelatnici

Radi sprječavanja širenja infekcije među hematološkim bolesnicima važno je kohortirati zdravstvene djelatnike.

- 1) Zdravstveni djelatnici koji pregledavaju ili liječe bolesnike sa suspektom ili dokazanom COVID-19 infekcijom ne bi smjeli 14 dana raditi s hematološkim bolesnicima, a prije povratka na hematološki odjel bi ih bilo dobro testirati (napomena: neke zdravstvene ustanove to obvezno provode).
- 2) Kako bi se izbjeglo da zbog infekcije jednog djelatnika velik broj drugih mora u samoizolaciju, rad treba organizirati u fiksnim timovima koji rade ili odlaze u pričuvu zajedno. S obzirom na trajanje inkubacije poželjno je da se timovi mijenjaju u ritmu od 14 dana.
- 3) Rad liječnika izvan radnog vremena treba organizirati u skladu s točkom 1).

Hematološke zloćudne bolesti u doba COVID-19

Inga Mandac Rogulj

KB Merkur

Od pojave prvih bolesnika s infekcijom COVID-19, napisane su brojne preporuke o načinu dijagnostike i liječenja bolesnika s hematološkim zloćudnim bolestima.

Neke od preporuka su navedene u nastavku teksta.

Akutna limfoblastična leukemija (ALL)

Prije započinjanja intenzivne kemoterapije za ALL, bez obzira na simptome i kliničku sliku kod bolesnika, potrebno je napraviti testiranje na SARS-COV-2. Ako je bolesnik pozitivan, potrebno je odgoditi sistemsku terapiju, iako se može primijeniti intratekalna terapija.

Ako se radi o Ph negativnoj ALL, većina hematoloških centara ne odgađa terapiju s obzirom na lošiji ishod kod bolesnika kod kojih se terapija odgađa.

S obzirom na to da se u liječenju ALL-a u uvodnoj fazi liječenja koriste kortikosteroidi, preporuka je da se njihova doza smanji, koliko god je moguće. Pojedini hematolozi u SAD-u su kod bolesnika visokorizičnih za COVID-19 komplikacije smanjivali dozu daunorubicina za 50%, ili nižu dozu pegilirane asparaginaze (1000 IU/m²). Kod Ph⁺ ALL, primjenjuje se TKI s nižom dozom kortikosteroida, uz standardnu indukcijsku kemoterapiju.

Kod primjene rituksimaba, potrebno je paziti na razinu imunoglobulina u serumu. Pojedini autori savjetuju održavati broj neutrofilnih granulocita iznad 1x10⁹/L, a kad se počne terapija održavanja, smanjiti doze deksametazona (prednizona).

Akutna mijeloična leukemija (AML)

Novodijagnosticiranog bolesnika s AML-om treba liječiti indukcijskom kemoterapijom bez odgode, uz prethodno testiranje na COVID-19. Ako se radi o bolesnicima koji zbog dobi ili komorbiditeta nisu kandidati za indukcijsku kemoterapiju, preporuka je liječenje hipometilirajućim lijekom ili venetoklaksonom, uz prethodno testiranje na COVID-19.

Profilaktički antimikrobni lijekovi za bolesnike s produljenom neutropenijom trebaju uključivati levofloksacin, posakonazol i aciklovir.

Terapija konsolidacije nakon remisije visokim dozama citarabina treba biti primijenjena, ali se može broj ciklusa smanjiti na 3, umjesto 4, ili se

doza citarabina može smanjiti na 1,5 g/m².

Kod svakog neutropeničnog bolesnika, tijekom ili nakon kemoterapije, treba provesti testiranje na COVID-19.

Kod bolesnika s refraktornom ili relapsnom AML, treba procijeniti je li bolesnik kandidat za re-indukciju s obzirom na rizik od dodatnih infektivnih komplikacija COVID-19.

Što se tiče transfuzijskog liječenja, potrebno je primjenjivati tzv restriktivni model i primijeniti transfuziju eritrocita kod simptomatskog bolesnika s razinom hemoglobina ispod 70 g/L, odnosno trombocita ispod 10x10⁹/L.

Limfomi

U preporukama za liječenje bolesnika s agresivnim ne-Hodgkinovim limfomom, nema značajnijih razlika u odnosu na vrijeme prije epidemije COVID-19.

Kod bolesnika kod kojih odgoda liječenjem autolognom transplantacijom matičnih stanica neće negativno utjecati na ishod liječenja, može se nastaviti liječenje nekim od odabranih (imuno)kemoterapijskih protokola, a autolognu transplantaciju se može odgoditi.

Također su preporuke o odgodi CAR-T stanične terapije.

Preporuka je da se odgodi terapija održavanja indolentnih NHL rituksimabom.

Iako postoje određene bojazni o tome da filgrastim može pogoršati respiratorne tegobe kod COVID-19 pozitivnih hematoloških bolesnika, nije preporučljivo preskočiti primjenu čimbenika rasta neutrofilnih granulocita kad je opravdana.

U liječenju bolesnika s Hodgkinovim limfomom, preporuke su, ako se nakon 2 ciklusa ABVD-a postigne PET-CT zadovoljavajući terapijski odgovor, može se ukinuti bleomicin. Navedeno nije samo preporuka u eri COVID-19 (s obzirom na pogoršanje bleomicin induciranog pneumonitisa), nego je poznato i u ranijim preporukama (osobito kod pušača, ili uz korištenje G-CSF).

Multipli mijelom

Kod bolesnika kod kojih je nakon uvodne terapije postignuta KR ili VGPR, te je indiciran nastavak

liječenja autolognom transplantacijom perifernih matičnih stanica, transplantacija se može odgoditi i nastaviti liječenje uvodnom terapijom.

Ako je provedena autologna transplantacija, može se očekivati 20% viši rizik za infekcije tijekom 2 do 3 tjedna nakon transplantacije. Ako je bolesnik u tijeku liječenja daratumumabom, a postignut je zadovoljavajući terapijski odgovor, pojedini hematološki centri su zaustavili cikluse daratumumaba s obzirom na to da lijek nosi veći rizik za infekcije gornjeg dišnog sustava.

Postoje oprečna mišljenja oko primjene intravenskih imunoglobulina kod bolesnika kod kojih je razina IgG niža od 4 g/L. Ukoliko se i primjene intravenski imunoglobulini, terapija ne mora biti protektivna s obzirom da se u populaciji još nisu razvila SARS-CoV-2 protutijela.

Preporuke vezane uz potporno liječenje

Po NCCN preporukama, savjetuje se proširiti indikacije primjene čimbenika rasta neutrofilnih granulocita koji bi se trebali primjenjivati i kod protokola visokog rizika za febrilne neutropenije, ali i onih s intermedijarnim rizikom. Kako je ranije u tekstu navedeno, postoji određeni hipotetski rizik za izraženije respiratorne tegobe kod bolesnika s COVID-19 infekcijom, ako primaju G-CSF (porast upalnih citokina).

Potrebno je primijeniti restriktivni transfuzijski pristup. Transfuziju eritrocita primijeniti kod razine hemoglobina 70 g/L (viša razina kod bolesnika s komorbiditetima, osobito kardiovaskularnim). Za trombocite se preporučuje održavati vrijednost iznad 10×10^9 , odnosno $20 \times 10^9/L$.

Literatura:

1. Stephanie J. Lee i grupa autora. COVID-19 Resources; travanj 2020. (preuzeto s <https://www.hematology.org/covid-19#faq>)
2. Percival, M., Lynch, R., Halpern, A., et al: Considerations for Managing Hematologic Malignancy Patients During the COVID-19 Pandemic: The Seattle Strategy JCO Oncol Pract. DOI: 10.1200/OP.20.00241

Izazovi pedijatrijske onkologije u COVID-19 pandemiji

Jelena Roganović

KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

COVID-19 pandemija, uzrokovana SARS-CoV-2 virusom, predstavlja do sada nezabilježen izazov za medicinsku zajednicu. Svjedočimo vremenu u kojem ova pandemija utječe i na zbrinjavanje djece s malignim bolestima diljem svijeta. Cilj rada je prikazati dosadašnja saznanja o učincima COVID-19 infekcije na pedijatrijsku onkološku praksu.

Učinci SARS-CoV-2 virusa na pedijatrijsku populaciju, posebice pedijatrijske onkološke bolesnike, su nejasni i slabo dokumentirani. Dong i suradnici su u prvoj publiciranoj studiji opisali epidemiologiju infekcije u 2143 sumnjiva ili potvrđena slučaja kod kineske djece u dobi do 18 godina (srednja dob 7 godina). Samo 4,4% djece je bilo bez simptoma, većina (89,7%) se prezentirala blagim ili umjerenim simptomima, a 10,1% je imalo težak ili kritičan tijek bolesti, većinom djeca mlađa od 1 godine. Zabilježen je jedan smrtni ishod. Nije opisana udruženost s podležecim bolestima, uključujući onkološke¹. Wei i suradnici su opisali tijek COVID-19 infekcije u 9 dojenčadi dobi od 1 do 11 mjeseci. Četvero je imalo povišenu temperaturu, dvoje blage simptome gornjeg respiratornog trakta, jedno je bilo bez simptoma, a za dvoje nema podataka. Nijedno dojenče nije zahtijevalo intenzivnu njegu ili mehaničku ventilaciju niti imalo ozbiljne komplikacije². Sustavni pregled literature potvrđuje da djeca čine manje od 5% dijagnosticiranih COVID-19 slučajeva i da često imaju blaže simptome od odraslih. Ovo najvjerojatnije nije rezultat veće rezistencije djece na infekcije, nego manje ekspozicije i nedovoljnog dijagnosticiranja zbog blage ili asimptomatske bolesti.

Chen i suradnici su opisali slučaj 8-godišnjeg dječaka s akutnom limfatičnom leukemijom visokog rizika na terapiji održavanja, koji je imao febrilnu neutropeniju i kašalj 8 dana nakon ciklusa srednjih doza ciklofosfamida i citarabina. Bolesnik je bio pozitivan na Influenzu A, a kompjuterizirani tomogram (CT) je pokazao bilateralnu pneumoniju s manjim bilateralnim pleuralnim izljevom. Provedena je poliantimikrobna terapija uz oseltamivir, bez poboljšanja. Kontrolni CT učinjen 11 dana od početka simptoma je potvrdio progresiju, a 2019-nCoV test je bio pozitivan. Liječen je ribavirinom i inhalacijama interferona α -1b, uz metilprednizolon,

imunoglobuline i oksigenoterapiju na nazalni kate-ter. Nakon 7 dana 2019-nCoV test je bio negativan, ali bez kliničkog poboljšanja, a četiri dana iza toga ponovno pozitivan i dijete je zbog progresivne hipoksije premješteno u jedinicu intenzivnog liječenja. Daljnji tijek nije dokumentiran³.

Unatoč rastućoj epidemiji, vrlo je malo drugih radova o COVID-19 infekciji u djece s malignim bolestima. Ohrabrujuće je talijansko iskustvo glavnog centra za pedijatrijsku onkologiju u Lombardiji s 5 pozitivnih pedijatrijskih onkoloških bolesnika od kojih je troje liječeno kod kuće a dvoje u bolnici, i svi su imali blagi tijek bolesti⁴.

Zajednička inicijativa Svjetske udruge pedijatrijskih onkologa i St. Jude bolnice za stvaranjem sustava za otvoreno prijavljivanje bolesnika i razmjenu iskustava u liječenju proširit će naše znanje o tijeku COVID-19 infekcije u djece s neoplazmama.

Preporuke za prevenciju i liječenje COVID-19 infekcije u djece s malignim bolestima

Detaljne preporuke nisu publicirane. Za sve pedijatrijske bolesnike s neoplazmom važe sljedeći principi:

- Primijeniti mjere izolacije za svu djecu koja primaju antitumorsku terapiju, a koje uključuju izolaciju kod kuće između liječenja i boravak u zasebnoj sobi tijekom hospitalizacije kad god je moguće. Posjete trebaju biti ograničene, a prednost imaju drugi načini komunikacije (telefon, digitalna i video komunikacija).
- Testirati pacijente koji se prezentiraju sa sumnjivim simptomima, neovisno o strukturi ustanove (pedijatrijske / opće bolnice ili onkološki centri)
- Ograničiti pristup pedijatrijskim odjelima samo jednom roditelju
- Na pedijatrijskim odjelima poštivati pravila socijalnog distanciranja u razmaku od najmanje 2 metra i izbjegavati okupljanja
- Formirati COVID-19 slobodnu zonu za neometan prijem onkoloških bolesnika i ne odgađati neopravdano kemoterapiju. Strogo kontrolirati pristup ovoj zoni
- Omogućiti savjetovanje „na daljinu“ u

- zbrinjavaju pacijenata koji su kod kuće
- Općenito slijediti osnovne principe kontrole infekcija da se izbjegne rizik širenja infekcije
 - Korištenje osobne zaštitne opreme osoblja u njezi je ključno za sigurnu skrb bolesnika na pedijatrijskim onkološkim odjelima i za smanjenje rizika transmisije. Korištenje osobne zaštitne opreme kod pacijenata, članova obitelji i bolničkog osoblja još uvijek je predmet rasprava⁴.

Nove smjernice britanskog Nacionalnog instituta za kliničku izvrsnost (National Institute of Clinical Excellence, NICE) objavljene 1. travnja ove godine, smatraju *posebno ranjivom skupinom* svu djecu i adolescente koji:

- primaju aktivnu kemoterapiju zbog bilo koje dijagnoze
- liječe se zbog leukemije ili limfoma
- liječeni su alogenom transplantacijom krvotvornih matičnih stanica u posljednja 24 mjeseca
- liječeni su autolognom transplantacijom u posljednjih 12 mjeseci
- primaju imunoterapiju (uključujući CAR-T)
- primaju ciljanu terapiju.

U *ranjivu skupinu* NICE ubraja djecu i adolescente:

- do 6 mjeseci nakon završetka standardne kemoterapije
- koji su primili radioterapiju nad cijelim abdomenom ili slezenom
- koji su liječeni transplantacijom krvotvornih matičnih stanica prije više od 24 mjeseca i u kojih je provedeno zračenje cijelog tijela
- koji su na terapiji održavanja steroidima
- koji su završili liječenje tumora, ali imaju kronične plućne, srčane, bubrežne ili neurološke bolesti⁵.

Iako je zabrinutost za bolesnike opravdana, na pedijatrijskim onkološkim odjelima nema razloga za prekidom dnevnih aktivnosti ili za odgodom obrade djece sa sumnjom na malignu bolest. Nije poznato da li treba mijenjati protokole liječenja za bolesnike koji primaju kemoterapiju, iako se čini razboritim odgoditi visokodozažnu terapiju ako je moguće. Chen i suradnici preporučuju izbjegavanje intenzivne kemoterapije kod djece s leukemijom u remisiji, međutim mali broj dokumentiranih slučajeva priječi donošenje jasnih smjernica za kemoterapiju³. Više prikupljenih informacija omogućit će formiranje

međunarodne radne skupine za sastavljanje preporuka temeljenih na dokazima.

Za kontinuitet zbrinjavanja bolesnika je potrebno predvidjeti i manjak medicinskog osoblja zbog bolesti, potrebe za brigom o bolesnim bliskim srodnicima ili potrebe za samoizolacijom ako su u bliskom kontaktu s osobom sa sumnjom na COVID-19 infekciju. Važno je redovito i iscrpno informirati osoblje.

Preporuke za obitelji djeteta s malignom bolesti

Izuzetno su značajne informacije i preporuke obiteljima djece s malignim bolestima. One uključuju za bolesno dijete: strogo izbjegavanje kontakta s bilo kojom osobom koja pokazuje simptome COVID-19 infekcije, boravak u kući osim nužnih posjeta bolnici radi liječenja prema savjetu medicinskog tima, izbjegavanje bilo kakvih kućnih okupljanja i komunikaciju na daljinu kad god je moguće. Braća i sestre te drugi članovi kućanstva ne trebaju sami provoditi navedene mjere zaštite, ali se trebaju pridržavati strogih pravila o boravku kod kuće. Važno ih je educirati o učestalom pranju ruku sapunom i vodom, korištenju sredstava za dezinfekciju na bazi alkohola, nedodirivanju očiju, nosa i usta rukama te čišćenju i dezinfekciji predmeta kojima se često koriste.

Roditeljima treba objasniti da trenutno ne postoji cjepivo koje bi spriječilo bolest i da je najbolji način sprečavanja infekcije izbjegavanje izlaganja virusu. Antivirusni lijekovi još nisu pokazali djelotvornost protiv SARS-CoV-2 virusa.

Preporuke za osobe koje su liječene od maligne bolesti u djetinjstvu

Međunarodna grupa za usklađivanje smjernica za praćenje kasnih učinaka liječenja pedijatrijske neoplazme (The International Late Effects of Childhood Cancer Guideline Harmonization Group, IGHG) publicirala je smjernice o riziku i dodatnim preventivnim mjerama za COVID-19 infekciju za sve osobe kojima je rak dijagnosticiran prije 25 godina života i kojima je od završetka liječenja primarnog tumora prošlo više od 1 godine⁶.

Rizik za COVID-19 infekciju za osobe koje su liječene od pedijatrijske neoplazme trenutno nije poznat. Na osnovu medicinskih informacija o COVID-19 infekciji u općoj populaciji, preživjele osobe sa specifičnim zdravstvenim stanjima mogu imati povišen rizik za ozbiljan tijek COVID-19 infekcije (Tablica 1.).

Tablica 1. Stanja udružena s rizikom razvoja teškog oblika COVID-19 infekcije

Zdravstvena stanja koja su prema javnozdravstvenim službama i Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji češće udružena s razvojem teškog oblika COVID-19 bolesti	Primjeri stanja povezanih s liječenjem raka, a koja mogu povećati rizik za razvoj teškog oblika COVID-19 bolesti u osoba koje su preživjele neoplazmu u dječjoj, adolescentnoj ili mladoj odrasloj dobi
Bolesti srca , uključivo, ali ne i ograničeno na: <ul style="list-style-type: none"> • Srčano zatajenje koje zahtjeva medikamentno liječenje • Infarkt miokarda (srčani udar) u anamnezi 	Bolesti srca , uključivo, ali ne i ograničeno na: <ul style="list-style-type: none"> • Kardiomiopatija nakon terapije antraciklinima • Ishemijska bolest srca nakon zračenja prsnog koša
Kronične plućne bolesti , uključivo, ali ne i ograničeno na: <ul style="list-style-type: none"> • Kronična opstruktivna plućna bolest (KOPB) • Teška astma • Bilo koja plućna bolest koja uzrokuje kroničnu zaduhu, dispneju ili zahtjeva oksigenoterapiju 	Kronične plućne bolesti , uključivo, ali ne i ograničeno na: <ul style="list-style-type: none"> • Fibroza pluća nakon terapije bleomicinom ili zračenja prsnog koša • Kronične plućne bolesti nakon transplantacije koštane srži
Dijabetes	Dijabetes nakon zračenja abdomena ili gušterače
Zdravstvena stanja i/ili lijekovi koji utječu na funkcioniranje imunološkog sustava , uključivo, ali ne i ograničeno na: <ul style="list-style-type: none"> • Antitumorska terapija • Transplantacija organa • Imunološka terapija 	Zdravstvena stanja i/ili lijekovi koji utječu na funkcioniranje imunološkog sustava , uključivo, ali ne i ograničeno na: <ul style="list-style-type: none"> • Aktivna terapija novodijagnosticiranog raka ili recidiva • Transplantacija organa zbog neoplazme ili oštećenja organa nakon liječenja (srce, bubreg ili jetra) • Kronična reakcija odbacivanja transplantata

Uz opće, dodatne mjere koje IGHG preporučuje osobama liječenim od pedijatrijske neoplazme su sljedeće:

- kućna izolacija i samo nužan kontakt s ukućanima
- premještanje na radno mjesto s većom socijalnom distancom za osobe zaposlene na javnim mjestima (isto se preporučuje i ukućanima)
- poticanje članova domaćinstva na pojačan oprez te izbjegavanje i transmisiju SARS-CoV-2 virusa
- pojačan oprez i izbjegavanje kontakta s ukućanima koji imaju simptome bolesti ili su pozitivni
- izolacija bolesnih ukućana ili preseljenje na drugu lokaciju ako je moguće
- ako izolacija nije moguća preporučuje se da bolesni ukućani nose zaštitnu masku
- učestalo pranje ruku i čišćenje površina dezinfekcijskim sredstvima
- čišćenje sanitarnih površina nakon svake uporabe.

Literatura:

1. Dong Y, Mo X, Hu Y, Qi X, Jiang F, Jiang Z, Tong S. Epidemiology of COVID-19 Among Children in China. *Pediatrics*. 2020 Mar 16. doi: 10.1542/peds.2020-0702.
2. Wei M, Yuan J, Liu Y, Fu T, Yu X, Zhang ZJ. Novel Coronavirus Infection in Hospitalized Infants Under 1 Year of Age in China. *JAMA*. 2020 Feb 14. doi: 10.1001/jama.2020.2131.
3. Chen Z, Xiong H, Li JX, et al. COVID-19 with post-chemotherapy agranulocytosis in childhood acute leukemia: a case report. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2020 Mar 9;41(0):E004. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.0004.
4. Bouffet E, Challinor J, Sullivan M, Biondi A, Rodriguez-Galindo C, Pritchard-Jones K. Early advice on managing children with cancer during the COVID-19 pandemic and a call for sharing experiences. *Pediatr Blood Cancer*. 2020 Apr 2:e28327. doi: 10.1002/pbc.28327.
5. <https://www.cclg.org.uk/Coronavirus-advice>
6. <https://www.ighg.org/wp-content/uploads/2020/04/ENGLISH-2020-04-17-IGHG-statement-for-COVID-19-Final-v2.0.pdf>

COVID-19 kod imunokompromitiranih bolesnika

Davora Dušek

Klinika za infektivne bolesti Fran Mihaljević

COVID-19 (eng. Coronavirus Disease 2019) je bolest koja se prvi put pojavila tijekom prosinca 2019. u Kini. Uzročnik ove bolesti je novi betakoronavirus, koji je dobio naziv SARS-CoV-2. Bolest se tijekom nekoliko mjeseci proširila na sve kontinente i predstavlja izazov za zdravstvene sustave svih zemalja svijeta. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) proglasila je globalnu pandemiju 11. ožujka 2020. Prema podacima SZO-a¹ početkom svibnja 2020. u svijetu je dijagnosticirano preko 3 500 000 osoba, uz preko 250 000 preminulih osoba. U Hrvatskoj je prvi slučaj COVID-19 dijagnosticiran 25. veljače 2020., a do početka svibnja 2020. broj bolesnika s COVID-19 je bio veći od 2100.

S obzirom na proširenost COVID-19 bolesti te veliku heterogenost imunokompromitiranih bolesnika (bolesnici sa zloćudnim bolestima, stanjem nakon transplantacije solidnih organa i krvotvornih matičnih stanica, bolesnici s reumatološkim bolestima i upalnim bolestima crijeva na biološkoj terapiji i sl.), za očekivati je veliki utjecaj COVID-19 pandemije na ovu skupinu bolesnika.

Kliničko zbrinjavanje imunokompromitiranih bolesnika u eri COVID-19 pandemije izrazito je kompleksno, i to ne samo kod bolesnika s dokazanom SARS-CoV-2 infekcijom. Također se postavlja pitanje nastavka kronične immunosupresivne terapije, utjecaju COVID-19 pandemije na transplantacijski program, kao i dostupnost zdravstvenog sustava bolesnicima koji nemaju COVID-19.

U samom početku COVID-19 epidemije nametnulo se pitanje imaju li imunokompromitirani bolesnici teži oblik COVID-19 bolesti, tj. možemo li dosadašnja iskustva s virusnim respiratornim infekcijama (npr. influenza) koje imaju teži klinički tijek kod imunokompromitiranih bolesnika primijeniti i na COVID-19.

Prema podacima SZO-a očekuje se da će oko 80% oboljelih imati blagu ili nekomplikiranu bolest bez potrebe za hospitalizacijom, u 15% bolesnika razvit će se potreba za hospitalizacijom i oksigenoterapijom, dok će 5% oboljelih biti liječeno u jedinicama intenzivne medicine². Prema do sada objavljenim kliničkim studijama rizični čimbenici za težak oblik bolesti su kardiovaskularne bolesti,

dijabetes melitus, hipertenzija, KOPB, renalna insuficijencija, pretilost, pušenje i zloćudne bolesti, a od laboratorijskih nalaza koji su povezani s lošim ishodom izdvaja se limfopenija, povišene vrijednosti D-dimera, LDH-a i feritina³. Međutim, nije posve jasno je li immunosupresija *per se* rizični čimbenik za teži tijek bolesti. Američki *Centers for Disease Control and Prevention* ubraja immunosupresiju u rizične čimbenike za težak oblik bolesti. S druge strane, u recentnom sustavnom pregledu literature kod imunokompromitiranih adultnih i pedijatrijskih bolesnika s COVID-19⁴, autori nisu našli veću prevalenciju niti lošiji ishod COVID-19 bolesti nego kod opće populacije, s izuzetkom bolesnika s karcinomom. Bolesnici sa zloćudnim bolestima imaju veći letalitet nego opća populacija, pri čemu je smrtnost od hematoloških zloćudnih bolesti veća nego kod solidnih tumora (37% vs 25%)⁵.

Uvid u do sada poznate podatke o patogenezi COVID-19 može dijelom pružiti odgovor na pitanje o tome imaju li imunokompromitirani bolesnici teži oblik bolesti. Patogeneza COVID-19 karakterizirana je interakcijom između direktnog, virusom posredovanog oštećenja i imunološkog odgovora domaćina koji u slučaju nereguliranog odgovora može dovesti do teškog COVID-19. Za razliku od drugih virusnih respiratornih bolesti poput influence, kod određenog broja bolesnika s COVID-19 može se javiti sustavna hiperinflamacija i citokinska oluja koje rezultiraju teškim oblikom bolesti⁶.

U prvoj fazi bolesti, nakon ulaska SARS-CoV-2 u organizam dolazi do vezanja virusa za ACE2 (engl. angiotensin-converting enzyme 2) receptore koji se dominantno nalaze u plućima, ali i u bubrezima, srcu, crijevima te endotelu. Klinički se bolesnici prezentiraju febrilitetom, suhim kašljem i osjećajem slabosti. U drugoj fazi uslijed virusne replikacije nastaje virusna pneumonija karakterizirana kašljem, dispnejom, hipoksijom, a radiološki se verificiraju bilateralni infiltrati⁷. Budući da je u prvim fazama bolesti prisutna virusna replikacija, inicijalna terapija COVID-19 treba biti usmjerena na antivirusne lijekove.

Kod određenog broja bolesnika bolest progredira do teškog oblika, rezultirajući ARDS-om, šokom,

multiorganskim zatajenjem i smrtnim ishodom. Bolesnici s težim oblikom COVID-19 imaju povišene koncentracije IL-2, IL-6, IL7, GCSF, TNF- α , MCP-1, MIP-1, IP-10. Sličan citokinski profil nalazimo kod bolesnika sa sekundarnom hemofagocitnom limfocitocitozom. Također je nađeno da se tijekom SARS-CoV-2 infekcije javljaju snižene vrijednosti pomoćničkih, regulacijskih i supresorskih T-limfocita. Rezultati kliničkih istraživanja također govore u prilog sustavne hiperinflamacije i nepovoljnog ishoda pri čemu je jedan od prediktora mortaliteta povišena koncentracija feritina i IL-6⁸. S obzirom na navedeno Mehta i sur. sugeriraju da bi primjena imunosupresivne terapije u ovom stadiju bolesti mogla povoljno utjecati na klinički ishod. Osim IL-6 inhibitora (tocilizumab) također se spominje JAK inhibitor baricitinib koji bi osim protuupalnog djelovanja mogao inhibirati i endocitozu virusa⁹.

Također je zanimljiv problem primjene kronične imunosupresivne terapije u eri COVID-19 pandemije. U recentnom sustavnom pregledu literature o povezanosti imunosupresivne terapije i COVID-19¹⁰ nađeno je da bi niske doze kortikosteroida i takrolimus mogli imati povoljni učinak kod COVID-19, a nema definitivnih dokaza da bi primjena citotoksičnih lijekova, niskih doza metotreksata, JAK inhibitori, anti-TNF α i NSAIL trebala biti kontraindicirana. Većina reumatologa/imunologa te gastroenterologa preporučuje nastavak diferentne imunosupresivne/immunomodulatorne terapije, budući da egzacerbacija osnovne bolesti može biti faktor težeg COVID-19^{11,12,13} a u slučaju dokazane COVID-19 bolesti preporučuje se redukcija imunosupresije. Pri modificiranju imunosupresivne terapije kod bolesnika s transplantiranim solidnim organima i COVID-19 bolesti treba uzeti u obzir moguće interakcije imunosupresivne i antivirusne terapije, kao i mogućnost akutnog odbacivanja organa u slučaju redukcije imunosupresije. U principu se preporučuje ukidanje terapije antimetabolitima (mikofenolat mofetil), dok se nastavlja terapija kalcineurinskim inhibitorima i mTOR inhibitorima.

Usprkos mnogim otvorenim pitanjima možemo zaključiti da kliničko zbrinjavanje imunokompromitiranih bolesnika tijekom COVID-19 pandemije zahtijeva pomno praćenje i ranu dijagnozu potencijalne SARS-CoV-2 infekcije, a u slučaju dijagnosticirane COVID-19 bolesti pravovremenu primjenu antivirusne terapije. COVID-19 pandemija još jednom je dokazala koliko je zahtjevno zbrinjavanje ove vulnerabilne skupine i istaknula potrebu za multidisciplinarnim pristupom - hematologa, onko-

loga, imunologa, gastroenterologa, liječnika koji se bave transplantacijskom medicinom i infektologa.

Literatura:

1. WHO. Global surveillance for COVID-19 caused by human infection with COVID-19 virus. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/global-surveillancefor-covid-v-19-final200321-rev.pdf>
2. WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection when COVID-19 is suspected – Interim guidance. Available from: [https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected](https://www.who.int/publications-detail/clinical-management-of-severe-acute-respiratory-infection-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected)
3. McIntosh K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Epidemiology, virology, clinical features, diagnosis, and prevention. In: UpToDate, Bloom A (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accessed on May 5, 2020)
4. Minotti C, Tirelli F, Barbieri E, Giaquinto C, Donà D. How is immunosuppressive status affecting children and adults in SARS-CoV-2 infection? A systematic review. *J Infect.* 2020 Apr 23:S0163-4453(20)30237-1.
5. Mehta V, Goel S, Kabarriti R, Cole D, Goldfinger M, et al. Case Fatality Rate of Cancer Patients with COVID-19 in a New York Hospital System. *Cancer Discov.* 2020 May 1:CD-20-0516.
6. Mehta PM, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020 doi: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.
7. Siddiqi HK, Mehra MR. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *J Heart Lung Transplant.* 2020 May;39(5):405-407.
8. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med* 2020; published online March 3. DOI:10.1007/s00134-020-05991
9. Stebbing J, Phelan A, Griffin I et al. COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20: 400-402
10. Russell B, Moss C, George G, Santaolalla A, Cope A, et al. Associations between immune-suppressive and stimulating drugs and novel COVID-19-a systematic review of current evidence. *Ecancermedalscience.* 2020 Mar 27;14:1022.
11. Bezzio C, Saibeni S, Variola A, Allocca M, Massari A, et al. Outcomes of COVID-19 in 79 Patients With IBD in Italy: An IG-IBD Study. *Gut.* 2020 Apr 30;gutjnl-2020-321411.
12. Neurath MF. Covid-19 and immunomodulation in IBD. *Gut.* 2020 Apr 17.
13. Sarzi-Puttini P, Marotto D, Antivalle M, Salaffi F, Atzeni F, et al. How to handle patients with autoimmune rheumatic and inflammatory bowel diseases in the COVID-19 era: An expert opinion. *Autoimmun Rev.* 2020 May 5:102574.
14. Limaye AP, Kardinger K. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Issues related to solid organ transplantation. In: UpToDate, Lam AQ, Bond S (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Accessed on May 5, 2020)

Djelovanje vitamina D na virusne infekcije i utjecaj njegovog nedostatka na virus gripe i SARS-CoV-2

Srđana Čulić

Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Uvod

Vitamin D (VD) iz povijesnih razloga svrstava se u vitamine iako se zapravo radi o hormonu iz skupine sekosteroida (steroidi s otvorenim B prstenom). Do nedavno, a u nekim krugovima još i danas se utjecaj ovog vitamina najviše veže uz homeostazu kalcija i fosfata u plazmi naročito u djece u koje zbog nedostatka nastaje rahitis, a u odraslih osteopenija i osteoporoza. Međutim novija istraživanja sve više otkrivaju važnost VD-a za pravilno funkcioniranje imunskog sustava. Ovaj vitamin/hormon ima esencijalnu ulogu u funkcioniranju imunskog sustava, tako da utječe na staničnu proliferaciju, diferencijaciju, apoptozu te modulira imunski odgovor. Djelovanje VD-a je posredovano VD receptorom (VDR) kojeg na površini imaju brojne stanice imunskog sustava kao što su limfociti T i B, dendritične stanice, monociti i makrofazi. VD modulira aktivaciju i proliferaciju limfocita, inducira diferencijaciju promijelocita u monocite, inhibira sekreciju citokina u limfocitima T, smanjuje sintezu interferona- γ (IFN- γ) i interleukina-2 (IL-2) u limfocitima periferne krvi i limfocitima T. Zbog nedostatka VD-a imunski sustav gubi sposobnost imunostolerancije pa je organizam podložan nastanku autoimunskih i malignih bolesti.^{1,2,3,4}

Poznato je da VD potiče diferencijaciju tumorskih stanica, suprimira staničnu proliferaciju i inhibira angiogenezu te može sniziti rizik od maligne bolesti što dokazuju brojne najnovije eksperimentalne studije.⁵

Utječe na urođeni i stečeni imunski odgovor. Umanjuje nastanak opasne citokinske oluje time i težinu kliničke slike kod teških oblika gripe. Zbog nedostatka VD-a imunski sustav gubi sposobnost obrane od infekcija naročito virusnih što osobito dolazi do izražaja u zimskim mjesecima kada se pojavljuju virusne infekcije dišnih puteva.

Činjenica je da suvremena medicina teško izlazi na kraj s bolestima koje su vezane uz loše ili nepravilno funkcioniranje imunskog sustava, a to su uz autoimunske i zloćudne bolesti i epidemije sezonskih bolesti kao što je gripa, a u najnovije vri-

jeme i s pandemijom bolesti novog korona virusa (engl. *Corona Virus Disease* - COVID-19).

Brojni istraživači, određivanjem serumske koncentracije ovog vitamina, dokazali su evidentnu epidemiju nedostatka VD-a svugdje u svijetu.^{6,7,8} Dokazano je da oko jedna milijarda ljudi u svijetu boluje od nedostatka ovog vitamina. Rizične skupine za hipovitaminozu su trudnice, djeca i starije osobe naročito one smještene u domovima za starije. Ali ovdje nisu ugrožene samo ove rizične skupine nego i odrasle osobe diljem svijeta posebno u zemljama srednjeg istoka i Azije gdje je nedostatak u odraslih osoba vrlo često zastupljen.⁹

To se može objasniti načinom života suvremenog čovjeka koji više boravi u zatvorenom prostoru i sve više se udaljuje od prirode. Debljina također doprinosi nastanku hipovitaminoze D jer se on pohranjuje u masnom tkivu te ga ima manje u cirkulaciji. Najbolji izvor VD-a su UV zrake koje su nam manje dostupne u zimskim mjesecima, a ljeti zbog straha od nastanka malignih bolesti kože bojimo se izlagati suncu i branimo se kremama visokog zaštitnog faktora. Izvori ovog vitamina iz hrane nisu dovoljni. Loša osunčanost u velikim gradovima gdje je zagađenost zraka jako izražena pogoduje, a sve to skupa rezultira pandemijom hipovitaminoze D prisutnom u cijelom svijetu u svim etničkim i dobnim skupinama naročito u starije populacije pogotovo u onih koji borave u staračkim domovima. Stariji ljudi su manje izloženi suncu, borave u zatvorenim prostorima, njihova koža je stara i slabije prerađuje VD, a crijeva također slabije resorbiraju. Sve to pogoduje visokom postotku nedostatka VD-a u starih ljudi. Kod pandemije COVID-19 najteže su pogođene osobe koje borave u staračkim domovima u kojih je smrtnost od ove infekcije najveća. Od 1970 godine do 2010 godine uočljiv je značajan pad VD-a u svjetskoj populaciji i to se stanje iz godine u godinu pogoršava što se odnosi na sve dobne skupine. Održavanje urednog statusa VD-a bez izloženosti suncu je vrlo teško bez nadoknade. U Tablici 1. definirani su stupnjevi hipovitaminoze D.

Tablica 1. Definicija stupnja hipovitaminoze D.

insuficijencija od 50 - 75 nmol/L
deficijencija < 50,0 nmol/L
Stupnjevi deficijencije su definirani kao:
ekstremna < 20 nmol/L
značajna od 20 - 30 nmol/L
jaka od 30 - 50 nmol/L

Ovakva stanja lošeg imuniteta su eldorado za virusne infekcije osobito respiratornih puteva u zimskim mjesecima u koje spadaju influenza i COVID-19. Najnovija klinička ispitivanja ukazuju da hipovitaminoza D podržava i druge virusne infekcije kao što su infekcija humanim papiloma virusom (HPV), virusom hepatitisa B (HBV) i C (HCV), virusom humane imunodeficijencije (HIV), virusom mononukleoze Epstein-Barr virusom (EBV) i recidive herpetičnih infekcija na usnama ili nastanak aftoznih promjena u usnoj šupljini.

EBV i HHV-6

EBV je humani γ -herpesvirus koji inficira i latentno perzistira u limfocitima B, a većina populacije (90%) je serološki pozitivna na ovaj virus. Povezanost između EBV infekcije i malignih limfoproliferativnih bolesti je dobro poznata posebno Hodgkinovog i Burkittovog limfoma. EBV ostaje u mirujućem stanju u organizmu i može se reaktivirati kasnije u životu u slučaju pada imuniteta te potaknuti nastanak limfoma. To se najčešće događa tijekom zimskih mjeseci. Jedan od načina da se takve komplikacije izbjegnu je održavanje VD-a u serumu iznad 75 nmol/L, a oko 100 nmol/L.^{10,11}

Interesantna su ispitivanja reaktivacije EBV infekcije u ljudi koji su sudjelovali u ekspedicijama na Antarktici, koja su dokazala reaktivaciju EBV-a nakon slabljenja staničnog imunskog odgovora.¹²

Ispitanici nisu bili izloženi sunčanom svjetlu mjesecima i ovaj poremećaj možemo povezati s nedostatkom VD-a. Daljnja ispitivanja u ovoj populaciji bila su bazirana na nadoknadi VD-a i dokazala su da su davane doze podigle vrijednosti VD-a u serumu ispitanika koji nisu bili izloženi suncu 6 mjeseci, a efikasnost je bila ovisna o bazalnim vrijednostima VD-a i indeksu tjelesne mase (engl. *Body Mass Indeks* – BMI). Dokazana je i interakcija VD-a sa stresom tako da je reduciran rizik reaktivacije latentne EBV infekcije tijekom zime na Antarktici.¹³

Pérez-Pérez je analizirao povezanost vrijednosti VD-a i virusa EBV i HHV-6 u 482 bolesnika s mul-

tiplom sklerozom i otkrio je da je opterećenje virusom bilo značajno veće kad su nivoi VD-a bili niski.¹⁴ Nova istraživanja će nam otkriti ovu povezanost.

Humani papiloma virus

Vrlo je malo kliničkih studija o utjecaju nedostatka VD-a na infekciju HPV-om. Samo su dva autora pisala o tome. Ozgu je pokazao da nedostatak VD-a može biti uzrokom perzistiranja HPV infekcije u cervikalnim premalignim lezijama što onda može pogodovati nastanku cervikalne intra epitelijalne neoplazije.¹⁵

Druga grupa autora je ispitivala povezanost između dovoljnih vrijednosti VD-a s cervikovaginalnom HPV infekcijom uzrokovanom visoko rizičnim ili vakcina-tipom HPV-a i dokazala da je infekcija učestalija u žena u kojih je nedostatak VD-a bio teži.¹⁶

Ove studije mogu dati dobre smjernice za daljnja istraživanja o benefitu VD-a u borbi protiv HPV-a.

Herpes simplex virus

Studije o prevenciji reaktivacije herpes virus infekcije također nisu brojne. Kumar je istraživao da li nadoknada VD-a u stanicama herpes labialis prije infekcije herpes simpleks virusom (HSV)-1 može regulirati titar virusa i proučavao efekt 6,12, i 24 sata nakon infekcije. Dokazao je da nadoknada VD-a regulira titar virusa i Toll-like receptora (TLR) (imaju esencijalnu ulogu u urođenom prepoznavanju antigena) tijekom inicijalne faze infekcije.¹⁷

Na mišjem modelu ispitivano je i dokazano da VD poboljšava herpes simplex virusom induciranu bolest sličnu Behçetovoj bolesti regulirajući ekspresiju TLR i proinflammatoryh citokina.¹⁸

Öztekina s kolegama je ispitivao, u populaciji bolesnika s rekurentnom herpes labialis (RHL) infekcijom, da li postoji povezanost VD-a i RHL-a usporavajući nivo VD-a u osoba s RHL-om i zdravih volontera bez RHL-a. U više od 96% slučajeva osobe s RHL-om imale su ozbiljan nedostatak VD-a te je zaključio da postoji značajna povezanost između niskih vrijednosti VD-a i RHL-a.¹⁹

HIV virus

Poznato je da je među osobama oboljelim od HIV infekcije čest nedostatak VD-a. Visoke vrijednosti VD-a i ekspresije VDR-a su povezane s prirodnom rezistencijom na HIV-1 infekciju, dok je nedostatak povezan s upalnim reakcijama, niskim CD4+ limfocitima T, bržom progresijom bolesti i kraćim preživljenjem osoba s HIV infekcijom. Nadoknada VD-a i

vraćanje ovih vrijednosti na normalu u kombinaciji s retroviralnom terapijom može pomoći imunološkom oporavku bolesnika uz pojačan imunski odgovor prema patogenu.

Jiménez-Sousa smatra da je nedostatak VD-a povezan s patogenezi HIV infekcije i da nadoknada može poboljšati oštećenja imunog sustava. Autor također podržava profilaksu nadoknadom VD-a naročito u bolesnika s teškim nedostatkom.²⁰

Osobe s HIV infekcijom naročito su osjetljive na hipovitaminozu D i nadoknada pomaže u jačanju imunskog sustava i imunskog statusa bolesnika.²¹

In vitro ispitivanja su dokazala da primjena VD-a može smanjiti transmisiju virusa pomoću specifične modulacije i aktivacije nivoa i funkcije limfocita T uz stvaranje antiviralnih faktora.²²

Hepatitis B i C virus

Nedostatak VD-a važan je u patogenezi kronične bolesti jetre uzrokovane hepatitis B i C virusom. Visoka je prevalencija ovog deficita diljem svijeta gdje su serumske vrijednosti VD-a ispod 20 nmol/L. Novija literatura prezentira utjecaj nadoknade ovog vitamina u kombinaciji s primjenom interferona (IFN) i odgovor HBV-a i HCV-a na ovu kombinaciju. Hoan smatra da je važno istražiti značaj hipovitaminoze D na ishod HBV i HCV kronične bolesti jetre.²³

Autori brojnih studija su proučavali polimorfizam VDR-a i rizik za nastanak HBV infekcije, a He je dokazao u meta-analizi tih studija da VDR FokI genotip pogoduje HBV infekciji u različitim etničkim skupinama.²⁴

Th 1 imunski odgovor nakon 12 tjedana terapije u osoba liječenih sa VD3 i pegiliranim interferonom i ribavirinom (Peg-IFN/RBV) bio je znatno bolji nego u onih liječenih samo s Peg-IFN/RBV terapijom ($p < 0.05$).²⁵

Novije studije ukazuju da primjena VD-a znatno popravljiva virusni odgovor na terapiju IFN-om. VD3 smanjuje ekstra i intra celularne nivoe HCV core antigena ovisno o koncentraciji, što dokazuje da je liječenje kombinacijom D3 i IFN efikasnije.²⁶

Respiratorni virusi

Akutna respiratorna virusna infekcija (ARVI) je vodeći uzrok pandemijskog morbiditeta i mortaliteta u cijelom svijetu i veliki globalni zdravstveni problem jer nemamo dovoljno efikasnih anti virusnih lijekova. To naravno ima značajne ekonomske posljedice i posljedičnu krizu. U kombinaciji s još jednim javnozdravstvenim globalnim problemom, a

to je nedostatak VD-a u populaciji rizik od ARVI-a je još više povećan. VD i njegovi metaboliti djeluju imunomodulatorno na površinske markere epitelnih stanica respiratornog sustava inficiranih respiratornim virusima (RV) modulirajući sekreciju IFN-1, TNF i IL-6.

VD posreduje kod ulaska virusa u epitelne stanice i stimulira ekspresiju snažnih anti mikrobnih peptida u epitelnim stanicama respiratornog sustava i tako štiti pluća od infekcije.²⁷ Genetske varijacije u VDR genu su udružene s povećanom sklonosti infekcijama gornjih dišnih puteva.²⁸

Esposito s kolegama, je analizirao studije koje su publicirane na Pub Med-u kroz 15 godina vezano uz nedostatak VD-a i nadoknadu u djece s infekcijama respiratornog sustava i zaključio je da VD značajno utječe na epidemiologiju i ishod ovih infekcija.^{29,30}

Brockman-Schneider i kolege su dokazali da VD utječe na sintezu citokina i mijenja rast i diferencijaciju stanica dišnih puteva.³¹

Influenza virus

Sezonalnost influenze korelira sa sezonskim padom nivoa VD-a u serumu i povezana je s UV zrakama koje djeluju na nastanak VD-a u koži. Učestali nedostatak VD-a ima negativan efekt na urođeni i stečeni imunitet.³²

Nadoknada VD-a pomaže da se smanji incidencija i težina influenze A limitiranjem staničnog oštećenja proautofagnim djelovanjem.³³

Kod 400 dojenčadi Zhou je ispitivao korist VD-a tijelom zime u prevenciji influenze i zaključio da je primjena visokih doza VD (1200 IU) korisna i sigurna djelujući na nestanak simptoma, nagli pad virusnog opterećenja i brz oporavak.³⁴

Isto je dokazano i u školske djece u koje će primjena VD 1200IU tijekom zimskih mjeseci smanjiti učestalost infekcija virusom influenze.^{35,36}

Profilaksa VD-om krajem listopada sve do kraja travnja je vrlo korisna. Tako možemo ublažiti sezonsko pojavljivanje epidemije influenze.³⁷

Osobama kojima je dijagnosticiran nedostatak VD-a potrebna je najprije nadoknada s 2000 IU VD-a dok se ne postignu normalne vrijednosti u serumu, a nakon toga treba nastaviti profilaksu manjom dozom. Ako je nedostatak ekstremno nizak doze moraju biti i veće.

Novi betakoronavirus SARS-CoV-2

Infekcije korona virusima su sezonske s niskom transmisijom u ljetnim mjesecima. Bolest korona virus COVID-19 uzrokovana je novim korona virusom

kojemu je ime dala Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organisation* – WHO) korona virus 2 s teškim respiratorni sindromom (engl. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* - SARS-CoV-2) tako da se ne može povezati s geografskom lokacijom ili nacionalnosti. COVID-19 je potencijalno fatalna bolest i danas je globalni pandemijski problem s brzim širenjem i visokom stopom smrtnosti.

Vrlo malo je i to najnovijih publikacija o utjecaju VD-a na COVID-19. Najčešći su to revijski članci i poneki istraživački vezani uz klinička i laboratorijska istraživanja koja ukazuju da hipovitaminoza D pogoduje nastanku teških oblika s često fatalnim ishodom naročito u starije populacije pogotovo onih koji borave u staračkim domovima i uz to imaju komorbiditet.

Nažalost svjedoci smo eksplozivnoj epidemiji u staračkim domovima i visokom stopom mortaliteta. Prevencija i liječenje značajno bi pomoglo da se ova pandemija lakše savlada diljem svijeta.

Za VD je poznato da regenerira endotel dišnih puteva i oblaganje istih puteva endotelom, što može biti korisno u smanjenju oštećenja alveola uzrokovnog ARDS-om. Na životinjskom modelu VD smanjuje propusnost pluća modulacijom aktivnosti renin-angiotenzinskog sustava i ekspresije ACE2. Ovo saznanje je važno i značajno je u pristupu COVID-19 epidemiji.³⁸ Grant preporučuje da se serumske vrijednosti VD-a održavaju na 100 – 150 nmol/L što može smanjiti rizik COVID-19 infekcije i mortaliteta.³⁹

McCullough smatra da ako želimo brzo postići navedene koncentracije potrebno je primijeniti više doze VD-a od nekoliko tisuća kroz nekoliko tjedana za vrijeme trajanja COVID-19 pandemije. Toličke doze ne bi trebale imati negativne efekte, ali u svakom slučaju treba provesti nova klinička istraživanja na većem broju bolesnika.⁴⁰

Nekoliko istraživanja posvećeno je utjecaju VD-a na intersticijalnu pneumoniju, tako je Tsujino na mišjem modelu bleomicinom inducirao pulmonalnu fibrozu i pokušao evaluirati da li se VD aktivirao u plućima i djelovao preventivno protiv intersticijalne pneumonije i dokazao da se VD aktivirao lokalno u plućnom tkivu djelujući preventivno na nastanak intersticijalne pneumonije.⁴¹

Martineau je zaključio da su najviše koristi od VD supstitucije u zaštiti protiv akutne infekcije dišnih puteva općenito imali bolesnici s vrlo teškim deficitom VD-a.⁴²

Daneshkhan je istraživao da li postoji poveza-

nost između nedostatka VD-a i teških slučajeva COVID-19 koji su manifestirali citokinsku oluju. Učestalost fatalnih slučajeva (engl. *Case Fatality Rate* – CFR) ispitivana je u starijih od 70 godina. Italija i Španjolska su imali najveći CFR 1,7 puta veći od ostalih zemalja, a najteži nedostatak VD-a dokazan je među populacijom upravo u Italiji i Španjolskoj u usporedbi s drugim zemljama. Liječenjem osoba s teškom deficijencijom mogao bi se smanjiti rizik nastanka teških i smrtonosnih oblika bolesti.⁴³

Najnovije studije vezane uz imunu trombocitopeniju (ITP) i VD su ukazale da je težina kliničke slike kod dijagnoze i kronicitet bolesti značajno povezan s težinom nedostatka VD-a.^{1,44}

Mogla bi se povući paralela s COVID-19 vezano uz težinu kliničke slike i nedostatka VD-a. Najnovija klinička ispitivanja ukazuju da je smrtnost od COVID-19 u značajnoj korelaciji sa stupnjem nedostatka VD-a, pa bolesnici s ekstremnom deficijencijom umiru u 99 % slučajeva.^{45,46}

Caccialanza je predložio ranu primjenu VD-a pogotovo u težim slučajevima kada i bolesnici koji nisu kritično bolesni odbijaju hranu.⁴⁷

Autori brojnih publiciranih radova nakon otkrića da VD ima imunomodulatorna svojstva preporučuju nadoknadu pogotovo u onih bolesnika u kojih je dokazan nedostatak.⁴⁸

Poznato je da su osobe prekomjerne težine sklonije nastanku težih oblika bolesti, a isto tako je dokazano da iste osobe boluju od značajne hipovitaminoze D, jer je VD pohranjen u masnom tkivu pa je jasno da je rizik mortaliteta u njih povećan.⁴⁹

U jedinicama intenzivnog liječenja od COVID-19 prevalencija osoba povećane tjelesne težine bila je 47,5 %.⁵⁰

Prve preliminarne studije koje je objelodanio Giancarlo Isaia iz Torina ukazuju da bolesnici koji su hospitalizirani zbog COVID-19 imaju vrlo visoku prevalenciju hipovitaminoze D. Italija je trenutačno zemlja na trećem mjestu po broju oboljelih nakon USA i Španjolske. Ako usporedimo rezultate sjeverne i južne Italije objavljene on-line od Statista Research Department lako je uočiti da južna Italija, iako je siromašnija, ima značajno manje inficiranih.⁵¹

Uočljive su varijacije u mortalitetu među različitim zemljama, tako da zemlje južne hemisfere imaju relativno manju smrtnost od zemalja sjeverne hemisfere. Razlika je između Australije 10. travnja, 2020. gdje su bila 2 smrtna slučaja na milion stanovnika i Velike Britanije 3. travnja, 2020. 68 na milion stanovnika. Ta činjenica bi mogla podržati hipotezu da je VD faktor koji određuje težinu bolesti.

Rhodes je ispitivao mortalitet od COVID-19 diljem svijeta i ustanovio da je mortalitet u zemljama ispod 35° geografske širine relativno nizak.^{52,53}

Inače a pogotovo za vrijeme COVID-19 pandemije bilo bi korisno da osobe koje imaju bolesti vezane uz loše funkcioniranje imunskog sustava provjere svoje vrijednosti VD-a u serumu i u slučaju da se dijagnosticira nedostatak da pristupe liječenju pod kontrolom liječnika, uz uzimanje viših doza ovog vitamina nego što su doze koje se primjenjuju u prevenciji. Sve ovo navedeno važi za sve dobne skupine od djece do starijih osoba. Naročito treba obratiti pažnju na osobe smještene u domovima za starije kojima bi na vrijeme trebalo provesti ispitivanja VD-a u serumu i tako otkriti osobe s nedostatkom i započeti liječenje odmah.^{54,55,56,57}

Najnovije preporuke nekih američkih znanstvenika su da se oboljelima od COVID-19 uz ostalu terapiju dodaju i povećane doze VD-a. više tisuća jedinica dnevno.

Najnovija literatura prezentirana od strane Paul Marik i grupe East Virginia Medical School (EVMS) publicirana on-line kao protokol o prevenciji i liječenju COVID-19 bolesnika sa srednje teškom infekcijom primjenom VD 1000 - 4000 IU (optimalna doza nepoznata).⁵⁸

Kako nedostatak VD-a pojačava i pogoduje nastanku citokinske oluje COVID-19 može lako završiti letalno.⁴⁵ Nedostatak VD-a je čest u ljudi koji razviju ARDS što doprinosi nastanku ovog sindroma. Neophodno ga je korigirati u bolesnika čiji je rizik nastanka ARDS-a visok.⁵⁹

Preporuke

Kako još nije sigurno da li nas na jesen ove godine ili u zimu sljedeće godine čeka nova epidemija COVID-19, ali sigurno znamo da će se kao i svake godine pojaviti gripa moramo preventivno i dobro pripremiti smjernice kako stabilizirati imunološki status u populaciji za takve događaje. Iz ljeta se polako ulazi u jesen i sunca je manje, a način života se mijenja preporuka je da se već od početka studenog započne s nadoknadom VD-a.⁶⁰

Za optimalno funkcioniranje imunskog sustava da štiti organizam od virusnih infekcija koncentracije VD bi trebale biti između 75 and 125 nmol / L. Preventivne doze za odrasle koji su u riziku od nastanka hipovitaminoze D trebale bi biti od 1200 - 2000 IU a za djecu 800 - 1200 IU (Tablica 2.).

Ako je nedostatak u odraslih dokazan bilo bi potrebno uzimati 4000 IU kroz 8 tjedana, a tada nastaviti terapiju održavanja od 1200 - 2000 IU. Djeca

bi trebala uzimati 1200 - 1400 IU što ovisi o težini deficita. Važno je u populaciji detektirati osobe sa sekundarnom imunskom deficijencijom uzrokovanom hipovitaminozom D i takve osobe treba liječiti. U djece i odraslih potrebno je dovesti vrijednosti VD-a u serumu > 75 nmol/L i održavati ih između 90 i 100 nmol / L , a u doba epidemije do 120 nmol / L. Kontrole serumskih vrijednosti trebalo bi provoditi svaka 2 mjeseca.

Koncentracije vitamina opadaju s godinama jer koža stari kao i organizam, kapacitet stvaranja vitamina je smanjen, a isti se lošije apsorbira iz crijeva. Potrebno je kod starijih osoba provesti probir početkom studenog i krajem veljače.

Populacija starijih ljudi najviše je osjetljiva na virus influence i COVID-19 i najčešće ima fatalne komplikacije i upravo ta populacija najčešće ima hipovitaminozu D što još više pogoršava funkcije imunog sustava koji stari. U 75% ove populacije dokazane su ekstremno niske vrijednosti VD-a u serumu tako da su preporučene doze do 4000 IU u starijih posebno onih smještenih u institucijama za starije.

Liječenje deficitarnih i održavanje statusa VD-a u normalnim granicama u populaciji diljem svijeta značajno bi smanjilo morbiditet i mortalitet sezonskih respiratornih infekcija. Prevenciju koja je jeftina i efikasna trebalo bi započeti najkasnije početkom studenog i nastaviti do kraja mjeseca travnja.

Krajnje je vrijeme da akademska zajednica izradi jasne smjernice za primjenu VD-a i nadoknadu pogotovo kada su ljudi iz epidemioloških razloga prisiljeni boraviti u kućama.

Tablica 2. Potrebne dnevne doze VD-a za prevenciju nedostatka u internacionalnim jedinicama (IU) obzirom na dob.

Dojenčad	Djeca	Starija djeca i odrasli	Trudnice i majke dojilje
0 - 6 mjeseci: 600 IU	1 - 3 godine: 600 IU	9 - 70 godina 800-1200 IU	800 IU
7 - 12 mjeseci: 600 IU	4 - 8 godina: 600 IU	Odrasli preko 70 godina 1200-2000 IU	

Literatura:

1. Čulić S, Markić J, Petrović D, Konjevoda D, Pavelić J. Serum Vitamin D Levels in Children With Newly Diagnosed and Chronic Immune Thrombocytopenia. *Semin in hematol* 2016;53:S67-S69.
2. Čulić S. Vitamin D and Immune Disease in Children: A Mini-Review. *Central Eur J Paed* 2018;14(2):148-53.
3. Gharbaran R, Zhang B, Valerio L, Onwumere O, Wong M, Mighty J, i sur. Effects of vitamin D3 and its chemical analogs on the growth of Hodgkin's lymphoma, in vitro. *BMC Res Notes* 2019;12(1):216.
4. Tagliabue E, Raimondi S, Gandini S. Meta-analysis of vitamin D-binding protein and cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2015;24(11):1758-65.
5. Xu J, Li W, Ma J, Liu J, Sha H, Zhou S, i sur. Vitamin D - pivotal nutraceutical in the regulation of cancer metastasis and angiogenesis. *Curr Med Chem* 2013;20(33):4109-20.
6. Ritterhouse LL, Lu R, Shah HB, Robertson JM, Fife DA, Maecker HT, i sur. Vitamin D deficiency in a multiethnic healthy control cohort and altered immune response in vitamin D deficient European-american healthy controls. *PLoS One* 2014;9(4):e94500.
7. Khare D, Godbole NM, Pawar SD, Mohan V, Pandey G, Gupta S, i sur. Calcitriol [1, 25(OH)₂D₃] Pre- And Post-Treatment Suppresses Inflammatory Response to Influenza A (H1N1) Infection in Human Lung A549 Epithelial Cells. *Eur J Nutr* 2013;52(4):1405-15.
8. Teymouri-Rad M, Shokri F, Salimi V, Marashi SM. The interplay between vitamin D and viral infections. *Rev Med Virol* 2019;29(2):e2032.
9. van Schoor NM, Lips P. Worldwide vitamin D status. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2011; 25:671-80.
10. Fugl A, Andersen CL. Epstein-Barr virus and its association with disease - a review of relevance to general practice. *BMC Fam Pract* 2019;20(1):62.
11. Maghzi H, B, Khorvash F, Yaran M, Maghzi AH. Association Between Acute Infectious Mononucleosis and Vitamin D Deficiency. *Viral Immunol* 2016;29(7):397-400.
12. Mehta SK, Pierson DL, Cooley H, Dubow R, Lugg D. Epstein-Barr virus reactivation associated with diminished cell-mediated immunity in Antarctic expeditioners. *J Med Virol* 2000;61:235-40.
13. Zwart SR, Mehta SK, Ploutz-Snyder R, Bourbeau Y, Locke JP, Pierson DL, i sur. Response to vitamin D supplementation during Antarctic winter is related to BMI, and supplementation can mitigate Epstein-Barr Virus Reactivation. *J Nutr* 2011;141(4):692-7.
14. Pérez-Pérez S, Domínguez-Mozo MI, García-Martínez MÁ, Aladro Y, Martínez-Ginés M, García-Domínguez JM, i sur. Study of the possible link of 25-hydroxyvitamin D with Epstein-Barr virus and human herpesvirus 6 in patients with multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2018;25(12):1446-53.
15. Özgü E, Yılmaz N, Başer E, Güngör T, Erkaya S, Yakut Hİ. Could 25-OH vitamin D deficiency be a reason for HPV infection persistence in cervical premalignant lesions? *J Exp Ther Oncol* 2016;11(3):177-80.
16. Shim J, Pérez A, Symanski E, Nyitray AG. Association Between Serum 25-Hydroxyvitamin D Level and Human Papillomavirus Cervicovaginal Infection in Women in the United States. *J Infect Dis* 2016;213(12):1886-92.
17. Kumar A, Singh MP, Kumar RS, Ratho RK. 25-Hydroxyvitamin D3 and 1,25 Dihydroxyvitamin D3 as an Antiviral and Immunomodulator Against Herpes Simplex Virus-1 Infection in HeLa Cells. *Viral Immunol* 2018;31(8):589-93.
18. Choi B, Lee ES, Sohn S. Vitamin D3 ameliorates herpes simplex virus-induced Behçets disease-like inflammation in a mouse model through down-regulation of Toll-like receptors. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29(4 Suppl 67):S13-9.
19. Öztekin A, Öztekin C. Vitamin D Levels in Patients with Recurrent Herpes Labialis. *Viral Immunol* 2019;32(6):258-62.
20. Jiménez-Sousa MÁ, Martínez I, Medrano LM, Fernández-Rodríguez A, Resino S. Vitamin D in human immunodeficiency virus infection: influence on immunity and disease. *Front Immunol* 2018;9:458.
21. Akimbekov NS, Ortoski RA, Razzaque MS. Effects of sunlight exposure and vitamin D supplementation on HIV patients. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2020;200:105664.
22. Gonzalez SM, Aguilar-Jimenez W, Trujillo-Gil E, Zapata W, Su RC, Ball TB, i sur. Vitamin D treatment of peripheral blood mononuclear cells modulated immune activation and reduced susceptibility to HIV-1 infection of CD4+ T lymphocytes. *PLoS One* 2019;14(9):e0222878.
23. Hoan NX, Tong HV, Song LH, Meyer CG, Velavan TP. Vitamin D deficiency and hepatitis viruses-associated liver diseases: A literature review. *World J Gastroenterol* 2018;24(4):445-60.
24. He Q, Huang Y, Zhang L, Yan Y, Liu J, Song X, i sur. Association between vitamin D receptor polymorphisms and hepatitis B virus infection susceptibility: A meta-analysis study. *Gene* 2018;645:105-12.
25. Kondo Y, Kato T, Kimura O, Iwata T, Ninomiya M, Kakazu E, i sur. 1(OH) Vitamin D3 Supplementation Improves the Sensitivity of the Immune-Response During Peg-IFN/RBV Therapy in Chronic Hepatitis C Patients-Case Controlled Trial. *PLoS On* 2013;8(5):e63672.
26. Matsumura T, Kato T, Sugiyama N, Tasaka-Fujita M, Murayama A, Masaki T, i sur. 25-Hydroxyvitamin D3 Suppresses Hepatitis C Virus Production. *Hepatology* 2012;56(4):1231-9.
27. Greiller CL, AR. Modulation of the Immune Response to Respiratory Viruses by Vitamin D. *Nutrients* 2015; 7(6): 4240-70.
28. Jolliffe DA, Greiller CL, Mein CA, Hoti M, Bakhsoiliani E, Telcian AG, i sur. Vitamin D receptor genotype influences risk of upper respiratory infection. *Br J Nutr* 2018;120:891-900.
29. Esposito S, Baggi E, Bianchini S, Marchisio P, Principi N. Role of vitamin D in children with respiratory tract infection. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2013;26(1):1-13.
30. Dancer RC, Parekh D, Lax S, D'Souza V, Zheng S, Bassford CR i sur. Vitamin D deficiency contributes directly to the acute respiratory distress syndrome (ARDS). *Thorax* 2015;70(7):617-24.
31. Brockman-Schneider RA, Pickles RJ, Gern JE. Effects of vitamin D on airway epithelial cell morphology and rhinovirus replication. *PLoS One* 2014;9(1):e86755.
32. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, Garland CF, Giovannucci E. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect* 2006;134(6):1129-40.
33. Godbole NM, Sinha RA, Tiwari S, Pawar SD, Dhole TN. Analysis of influenza virus-induced perturbation in autophagic flux and its modulation during Vitamin D3 mediated anti-apoptotic signaling. *Virus Res* 2020;282:197936.

34. Zhou J, Du J, Huang L, Wang Y, Shi Y, Lin H. Preventive Effects of Vitamin D on Seasonal Influenza A in Infants: A Multicenter, Randomized, Open, Controlled Clinical Trial. *Pediatr Infect Dis J* 2018;37(8):749-54.
35. Urashima M, Segawa T, Okazaki M, Kurihara M, Wada Y, Ida H. Randomized trial of vitamin D supplementation to prevent seasonal influenza A in schoolchildren. *Am J Clin Nutr* 2010;91(5):1255-60.
36. Kana Ram Jat . Vitamin D Deficiency and Lower Respiratory Tract Infections in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. *Trop Doct* 2017; 47(1):77-84.
37. Gruber-Bzura BM. Vitamin D and Influenza-Prevention or Therapy? *Int J Mol Sci* 2018;19(8):pii: E2419.
38. Xu J, Yang J, Chen J, Luo Q, Zhang Q, Zhang H. Vitamin D alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via regulation of the renin-angiotensin system. *Mol Med Rep* 2017;16:7432-8.
39. Grant WB, Lahore H, Sharon L McDonnell SL, CA, CB, i sur, Evidence That Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients* 2020;12(4):E988.
40. McCullough PJ, Lehrer DS, Amend J. Daily oral dosing of vitamin D3 using 5000 TO 50,000 international units a day in long-term hospitalized patients: Insights from a seven year experience. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2019;189:228-39.
41. Tsujino I, Ushikoshi-Nakayama R, Yamazaki T, Matsumoto N, Saito I. Pulmonary activation of vitamin D₃ and preventive effect against interstitial pneumonia. *J Clin Biochem Nutr* 2019;65(3):245-51.
42. Martineau AR, DA, RL, L, JF, P. Vitamin D Supplementation to Prevent Acute Respiratory Tract Infections: Systematic Review and Meta-Analysis of Individual Participant Data. *BMJ* 2017;356:0.
43. Daneshkhah A, Eshein A , Subramanian H, Roy HK, Backman V. The Role of Vitamin D in Suppressing Cytokine Storm in COVID-19 Patients and Associated Mortality. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.08.20058578>. COVID-19 SARS-CoV-2 preprints from medRxiv and bioRxiv
44. Petrovic D, Benzon B, Batinic M, Culic S, Roganovic J, Markic J. Hypovitaminosis D Influences the Clinical Presentation of Immune Thrombocytopenia in Children with Newly Diagnosed Disease. *J Clin Med* 2019;8(11):1861.
45. Marik PE, Kory P, Varon J. Does vitamin D status impact mortality from SARS-CoV-2 infection? *ed Drug Discov* 2020 Apr 29:100041.
46. <https://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-8277775/People-low-levels-Vitamin-D-likely-die-COVID-19-infection.html>
47. Caccialanza R, Laviano A, Lobascio F, Montagna E, Bruno R, Ludovisi S, i sur. Early nutritional supplementation in non-critically ill patients hospitalized for the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19): Rationale and feasibility of a shared pragmatic protocol. *Nutrition* 2020;3:110835.
48. McCartney DM, Byrne DG. Optimisation of Vitamin D Status for Enhanced Immuno-protection Against Covid-19. *Ir Med J* 2020;113(4):58.
49. Carter SJ, Baranauskas MN, Fly AD. Considerations for obesity, vitamin D, and physical activity amidst the COVID-19 pandemic. *Obesity (Silver Spring)* 2020. doi: 10.1002/oby.22838.
50. Kalligeros M, Shehadeh F, Mylona EK, Benitez G, Beckwith CG, Chan PA, i sur. Association of Obesity with Disease Severity among Patients with COVID-19. *Obesity (Silver Spring)* 2020 Apr 30. doi: 10.1002/oby.22859.
51. <https://www.statista.com/statistics/1099375/coronavirus-cases-by-region-in-italy/>
52. Rhodes J.M., Subramanian S., Laird E. Editorial: low population mortality from COVID-19 in countries south of 35 degrees North - supports vitamin D as a factor determining severity. *Aliment Pharmacol Ther* 2020 [in press] [Google Scholar]
53. Basile M, Ciardi L, Crespi I, Saliva E, Bellomo G, Vidali M. Assessing Serum Concentrations of 25-Hydroxy-Vitamin D in North-Western Italy. *J Frailty Aging* 2013;2(4):174-8.
54. Isaia G, Giorgino R, Rini GB, Bevilacqua M, Maugeri D, Adami S. Prevalence of hypovitaminosis D in elderly women in Italy: clinical consequences and risk factors. *Osteoporos Int* 2003;14:577-82.
55. Quesada JM, Jans I, Benito P, Jimenez JA, Bouillon R. Vitamin D status of elderly people in Spain. *Age Ageing* 1989;18(6):392-7.
56. Boucher BJ. The Problems of Vitamin D Insufficiency in Older People. *Aging Dis* 2012; 3(4):313-29.
57. van der Wielen RP, Löwik MR, van den Berg H, de Groot LC, Haller J, Moreiras O, i sur. Serum vitamin concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995;346(8969):207-10.
58. Marik P, (EVMS Medical Group). Coronavirus / Covid-19 Vitamin C, D, Zinc And Immune System Building Protocol – PREVENTION / TREATMENT. <https://greenbeltoutdoors.com/coronavirus-covid-19-vitamin-c-d-zinc-and-immune-system-building-protocol-prevention-treatment-dr-paul-marik-evms-medical-group/>
59. Dancer RC, Parekh D, Lax S. Vitamin D deficiency contributes directly to the acute respiratory distress syndrome (ARDS) *Thorax* 2015;70:617-24.
60. Jakovac H. COVID-19 and vitamin D-Is there a link and an opportunity for intervention? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2020;318(5):E589.

Liječenje CAR-T stanicama u Hrvatskoj u KBC Zagreb – Rebro

Igor Aurer^{1,2}, Ernest Bilić^{2,3}

¹Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

³Zavod za pedijatrijsku hematologiju i onkologiju, Klinika za pedijatriju KBC Zagreb

Imunološki sustav se razvio tijekom milijuna godina evolucije prvenstveno s ciljem zaštite životinja od infekcije. Budući da su infekcije uz traumu jedina evolucijski važna skupina bolesti, možda nas ne bi trebao čuditi stupanj preciznosti i složenosti ovog sustava kojeg je dosegao u ljudi.

Desetljećima se smatralo da imunološki sustav bolesnika može igrati ulogu u borbi protiv raka, no sa širokom primjenom imunoloških metoda liječenja u praksi se počelo tek nedavno. Transplantacija koštane srži (ili kako se danas preciznije naziva alogeničnih matičnih krvotvornih stanica) je primjer nespecifične pasivne celularne imunoterapije koja se već godinama koristi za liječenje akutnih leukemija i sličnih bolesti. Terapijska monoklonska protutijela su primjer pasivne specifične humoralne imunoterapije i koriste se za liječenje različitih vrsta karcinoma i limfoma itd.

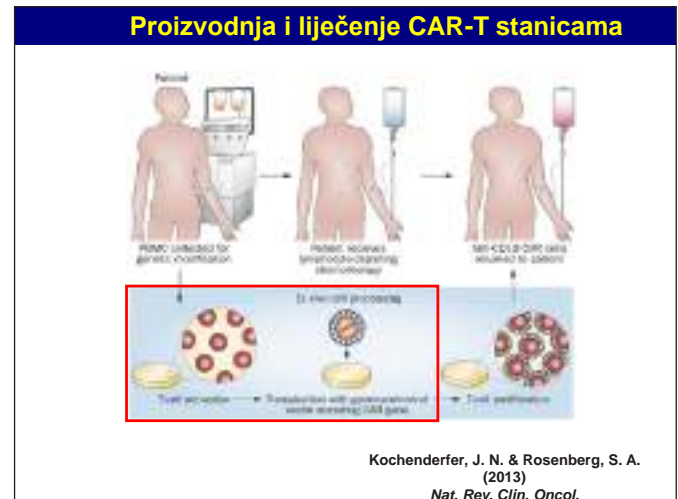
Usprkos nedvojbenom napretku koji je postignut u liječenju raka, još uvijek preveliki broj tih bolesnika naposljetku umire od svojih bolesti, tako da je svaka nova metoda liječenja znatan doprinos zdravlju pučanstva.

Još 1993. je dr. Zelig Eshhar iz Weizmannovog instituta u Izraelu objavio *ex vivo* model modifikacije T limfocita bolesnika, kojim se postiže da njegove T stanice reagiraju na tumorski antigen. Tako modificirane stanice nazivaju se CAR-T stanice, od engleskog naziva „chimeric modified antigen recognizing T-cells“ ili „chimeric antigen receptor T-cells“.

Međutim, tek je recentno započeto liječenje CAR-T stanicama u visoko specijaliziranim hematološkim centrima u svijetu, a od travnja ove godine po prvi puta i u Hrvatskoj, u KBC Zagreb-Rebro.

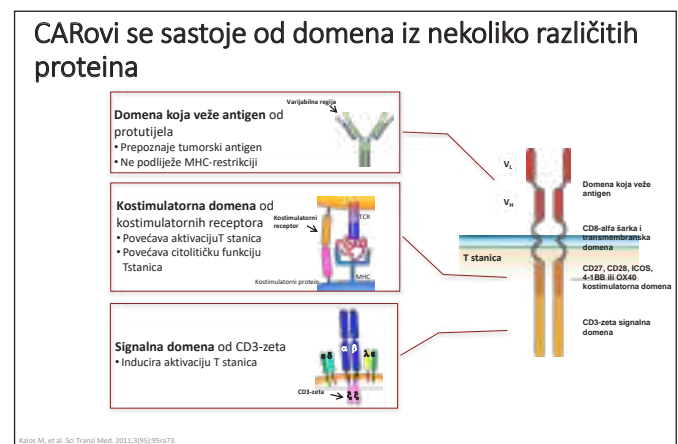
Proizvodi ih se tako da se T stanice bolesnika dobivene leukaferezom aktiviraju, zatim se aktivirane stanice transfeciraju virusnim vektorom (danas najčešće lentivirusom koji se ne može replicirati) koji sadrži kimerički antigenski receptor (CAR) (Slika 1.).

Slika 1. Proizvodnja i liječenje CAR-T stanicama.



Uspješno transfecirane stanice se *ex vivo* umnože i reinfundiraju bolesniku. CARovi koji se danas koriste u praksi se sastoje od 3 dijela (Slika 2.).

Slika 2. Domene CARova.



Vanstanična domena sadrži varijabilni dio protutijela usmjerenog na tumorski antigen što omogućuje specifično prepoznavanje tumora, a ne podliježe restrikciji vezanoj uz HLA sustav kao T stanični receptor. S unutarnje strane uz membranu se nalazi kostimulacijska domena koja pojačava aktivaciju i citolitičku funkciju T stanica, a dublje u citoplazmi se nalazi signalna domena koja inducira aktivaciju T stanica. Istraživanja su pokazala da je protutumor-

ska aktivnost CAR-T stanica bolja ako se prije infuzije značajno smanji broj primateljevih limfocita. Najčešće se to radi primjenom citostatika fludarabina i ciklofosfamida.

Danas se u praksi koriste CAR-T stanice usmjerene protiv CD19 antigena za liječenje bolesnika s B-staničnom akutnom limfoblastičnom leukemijom (ALL) i B-velikostaničnim limfomom (NHL) koji nisu odgovorili na najmanje dvije linije liječenja. Ovom metodom se izgleda može izliječiti oko 30% takvih bolesnika. T stanice se uzimaju u bolnici u kojoj se liječenje provodi, dostavljaju proizvođaču (EMA je trenutno registrirala dva proizvođača, uskoro se očekuje i treći) koji u svojim pogonima aktivira, transfecira i umnaža stanice i dostavlja ih natrag u bolnicu. Postupak proizvodnje traje najmanje 3 tjedna, a obično i značajno duže.

Neuspjeh liječenja je posljedica progresije tumora tijekom čekanja na pripravak, gubitka tumorskog antigena sa zloćudnih stanica, slaba aktivacija ili brzi nestanak CAR-T (npr. zbog jakog izražaja PD-1 liganda u tumoru), nemogućnost prikupljanja dovoljnog broja T stanica od bolesnika te nuspojave liječenja. Nuspojave liječenja su vrlo teške i česte zbog čega je bolesnika prvih nekoliko tjedana nakon primjene pripravka potrebno pažljivo nadzirati. Osim tipičnih hematoloških nuspojava, poput pancitopenije i neutropenijskih infekcija, javljaju se sindrom otpuštanja citokina (CRS) i neurološka toksičnost (ICANS). CRS se manifestira vrućicom, padom tlaka i slikom šoka, a posredovan je otpuštanjem interleukina 6 (IL-6). Zbog toga obično odgovara na primjenu tocilizumaba, monoklonskog protutijela usmjerenog protiv receptora za IL-6. ICANS uključuje različite neurološke sindrome, obično najprije smetnje viših cerebralnih funkcija s dezorijentacijom, smetnjama pisanja i govora. Etiologija nije posve jasna, a smetnje obično regrediraju na primjenu deksametazona. Usprkos napretku u liječenju komplikacija što je dovelo do toga da od posljedica liječenja umire manje od 10% bolesnika, između 1/3 i 1/4 njih bude hospitalizirano u jedinici intenzivne skrbi radi primjene vazopresora ili umjetne ventilacije. Zbog svega toga je primjena ove metode liječenja ograničena na centre izvrsnosti, u nas je to KBC Zagreb-Rebro. Prvi naš bolesnik s ALL-om dobio je pripravak 16.4.2020, a prvi bolesnik s NHL 20.4.2020.

Daljnja istraživanja ove metode liječenja, u čemu prednjači Kina, usmjerena su na lokalnu proizvodnju CAR-T stanica čime se skraćuje vrijeme čekanja

na pripravak, širenje indikacija na druge vrste B-staničnih tumora i ranije linije liječenja, korištenje drugih antigena radi liječenja drugih vrsta raka te stvaranje univerzalnih alogeničnih CAR-T ili CAR-NK stanica čime bi se posve eliminiralo čekanje na proizvodnju pripravka.

Iako je broj bolesnika koji se danas mogu liječiti ovom metodom mali, čini se da ova nova tehnologija otvara nove, još neslućene mogućnosti u liječenju različitih oblika raka. To da se ovaj oblik liječenja primjenjuje i u Hrvatskoj ukazuje na visoku razinu naše medicine, posebice hematologije. Mislimo da možemo s pravom biti ponosni na to!

Poboljšanja u ishodu limfoma plaštenih stanica su uglavnom posljedica bolje uvodne terapije i transplantacije autolognih matičnih krvotvornih stanica

Igor Aurer, Karla Mišura-Jakubac, Jasminka Sinčić-Petričević, Dajana Deak, Marijo Vodanović, Marinka Jakić-Bubalo, Zdravko Mitrović, Aron Grubešić, Barbara Dreta, Dubravka Županić Krmek, Božena Coha

Ovaj rad je prikazan kao poster na 24. godišnjem kongresu Europskog hematološkog društva (EHA) održanom u Amsterdamu u lipnju 2019. godine.

Rezultati liječenja bolesnika s novoootkrivenim limfomom plaštenih stanica (MCL) su se značajno popravili u proteklom desetljeću. To je koincidiralo s uvođenjem indukcije temeljene na visokim dozama citarabina (HD-AraC) i bendamustinu (B), transplantacije autolognih matičnih krvotvornih stanica (autoTKS) u prvoj remisiji i terapijom održavanja rituksimabom. Nije jasno koliki je doprinos svake pojedine od tih promjena. Stoga je KroHem retrospektivno prikupio podatke o bolesnicima s MCL-om koji su dijagnosticirani ili počeli liječenje između 2015. i 2017. (suvremena kohorta) godine i usporedio njihove ishode s onima bolesnika koji su počeli liječenje rituksimabom tijekom 2007. i 2008. godine (povijesna kohorta).

Identificirali smo 89 bolesnika koji su dijagnosticirani i samo opservirani ili koji su započeli liječenje između 2015. i 2017. godine. Pet bolesnika je imalo indolentni oblik bolesti, nitko nije zatrebao liječenje tijekom praćenja. Dva vrlo stara krhka bolesnika nisu liječena i umrla su, a liječeno ih je 82. Svi liječeni su u indukciji primili rituksimab (R). Medijan dobi je bio 67 godina, 67% su bili muškarci. U povijesnoj kohorti koja se sastojala od 40 liječenih bolesnika je medijan dobi bio jednak, a 70% su bili muškarci. Medijan praćenja suvremene kohorte je bio 20, a povijesne 39 mjeseci. Ukupno preživljavanje (OS) na 2 godine je naraslo s 56% na 80%, a preživljavanje bez događaja (EFS) s 40% na 58%. U suvremenoj kohorti su MIPI (visoki naprema srednji ili niski), dob i morfologija (klasični naprema blastoidni oblik) su bili statistički značajni prognostički čimbenici za OS i EFS. U usporedbi s povijesnom kohortom ishod bolesnika mlađih od 65 godina se značajno popravio (EFS na 2 godine 47% naprema 75%, $p=0.004$; OS na 2 godine 54% naprema 92%, $p=0.005$), dok je razlika u onih starijih od 65 godina bila puno manja (EFS na 2 godine 36% naprema 41%, $p=0.674$; OS na 2 godine 57% naprema 70%, $p=0.368$).

Bolesnici liječeni R-CHOP-om i autotransplantirani koji nisu primali terapiju održavanja su u obje kohorte imale isti EFS. Indukcijska terapija i autoTKS su bili statistički značajni prognostički čimbenici za EFS i OS, a terapija održavanja rituksimabom samo za EFS. Bolesnici liječeni visokim dozama citarabina su imali najbolje ishode, potom oni liječeni BR-om pa R-CHOP-om.

Naši podaci ukazuju da su autoTKS u 1. remisiji i indukcija protokolima koji sadrže HD-AraC u bolesnika koji mogu podnijeti agresivnu terapiju, odnosno bendamustin u onih koji ne mogu, glavni razlog poboljšanja ishoda bolesnika s MCL-om u proteklom desetljeću.

Podnošljivost kombinacija obinutuzumaba i viših doza klorambucila u prvoj liniji liječenja kronične limfocitne leukemije

Igor Aurer, Ozren Jakšić, Sandra Bašić-Kinda, Karla Mišura Jakobac, Jasminka Sinčić-Petričević, Sabina Novaković Coha, Davor Galušić, Hrvoje Holik, Toni Valković, Dubravka Županić-Krmek, Ida Hude, Vibor Milunović, Vlatko Pejša

Rad je prikazan kao poster na 18. kongresu međunarodne radne skupine za kroničnu limfocitnu leukemiju (KLL) održanom u Edinburghu u rujnu 2019. godine.

Obinutuzumab (G) je registriran za prvu liniju liječenja KLL-a u kombinaciji s pulsevima klorambucila (Clb) koji se primjenjuju svaka 2 tjedna. Clb je učinkovitiji ako se više doze lijeka primjenjuju kontinuirano ili kroz 7 dana svaka 4 tjedna. Nema podataka o podnošljivosti i učinkovitosti kombinacije G s alternativnim načinima primjene Clb-a.

U registracijskoj studiji je G primjenjivan prije Clb-a nakon premedikacije s jednom dozom steroida ili na početku čak i bez premedikacije. To je rezultiralo pojavom ozbiljnih infuzijskih nuspojava tijekom prve primjene lijeka u 21% bolesnika.

Većina hrvatskih centara preferira alternativne načine primjene Clb-a i primjenjuje G tek nakon što se smanji broj limfocita (u skladu s preporukom za rituksimab) ili nakon premedikacije steroidima kroz 5-7 dana. Krohem je proveo ovo retrospektivno istraživanje kako bi analizirao podnošljivost i preliminarnu učinkovitost različitih G-Clb kombinacija i učestalost ozbiljnih infuzijskih nuspojava u rutinskoj kliničkoj praksi.

Identificirali smo 73 bolesnika koji su započeli prvu liniju liječenja KLL-a s G-Clb-om izvan kliničkih studija tijekom 2017. i 2018. godine, nakon što je G dospio na Osnovnu listu lijekova HZZO-a u Hrvatskoj. Medijan praćenja je bio 12 mjeseci. Medijan dobi je bio 76 godina, raspon 58-90. Vrijednost CIRS-G indeksa (Cumulative illness rating scale-geriatric) je bila poznata za 57 bolesnika, raspon je iznosio 5-33, a medijan 12.

Na liječenje je odgovorilo 89% bolesnika, jednogodišnje preživljavanje bez progresije bolesti (PFS) je bilo 78% , a ukupno preživljavanje (OS) 89%. Hematološke nuspojave 4. stupnja su se javile u 29% bolesnika, a nehematološke 3.-5. stupnja (uglavnom infekcije) u 33%. Četiri bolesnika (5%) je imalo teške infuzijske nuspojave stupnja 3-4, petero

(7%) ih je umrlo tijekom liječenja. Naši rezultati su slični onima iz registracijske studije osim što se učestalost teških infuzijskih reakcija čini manjom.

Clb je prijevremeno prekinut u 5 od 19 bolesnika liječenih pulsevima Clb, 22 od 46 onih liječenih Clb-om kroz 7 dana svaka 4 tjedna i 6 od 8 onih liječenih kontinuiranom primjenom Clb ($p=0.0625$). U potonjoj skupini oba bolesnika kod kojih Clb nije prekinut su terapiju mogli nastaviti samo niskim dozama lijeka. Učestalost značajnih nuspojava, PFS-a i OS-a nisu korelirali s načinom primjene lijeka. Prijevremeni prekid Clb-a je bio češći u bolesnika sa $CIRS-G \geq 12$ (32% vs. 66%; $p=0,0173$). Korelacija između dobi i prijevremenog prekida Clb-a nije bila statistički značajna, kao ni korelacija između CIRS-G ili dobi s učestalošću značajnih nuspojava, smrtnošću liječenja, PFS i OS.

Izgleda da produžena premedikacija steroidima i/ili smanjenje broja limfocita Clb-om prije prve primjene G-a rezultira manjom učestalošću teških infuzijskih nuspojava. Za razliku od rituksimaba, kombinacija G-a i viših doza klorambucila često rezultira prijevremenim prekidom potonjeg, posebice u bolesnika s ozbiljnim komorbiditetima. To izgleda sprječava da bolesnici dobiju planiranu dozu klorambucila i smanjuje mogućnost poboljšanja učinkovitosti u usporedbi s kombinacijom G-a i pulsnih doza klorambucila.

Smjernice za liječenje kronične limfocitne leukemije – veljača 2020.

Vlatko Pejša¹, Branko Jakšić², Slobodanka Ostojić-Kolonić², Sandra Bašić Kinda³, Božena Coha⁴,
Velka Gverić-Krečak⁵, Ozren Jakšić¹, Jasminka Sinčić-Petričević⁶, Martina Bogeljić Patekar²,
Petar Gaćina⁷, Igor Aurer³

¹Klinička bolnica Dubrava

²Klinička bolnica Merkur

³Klinički bolnički centar Zagreb

⁴Opća bolnica Slavonski Brod

⁵Opća bolnica Šibenik

⁶Klinički bolnički centar Osijek

⁷Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice

U svibnju 2017. osvježene su Hrvatske smjernice za liječenje kronične limfocitne leukemije (KLL). Bila je preporučena primjena obinutuzumaba i klorambucila za bolesnike lošijeg općeg stanja u prvoj liniji liječenja. Inhibitori B-staničnog receptora – ibrutinib i idelalisib s rituksimabom – preporučeni su za bolesnike s delecijom 17p, bez obzira na liniju liječenja, te za rani relaps. Već tada smo imali i preporuku za liječenje venetoklaksom (monoterapija) bolesnika s delecijom 17p koji nisu odgovorili ili nisu bili podobni za liječenje inhibitorima BCR-a. Sukladno EMA odobrenju, najveća novost bila je uvrštavanje venetoklaksa za liječenje relapsno/refraktorne KLL^{1,2}.

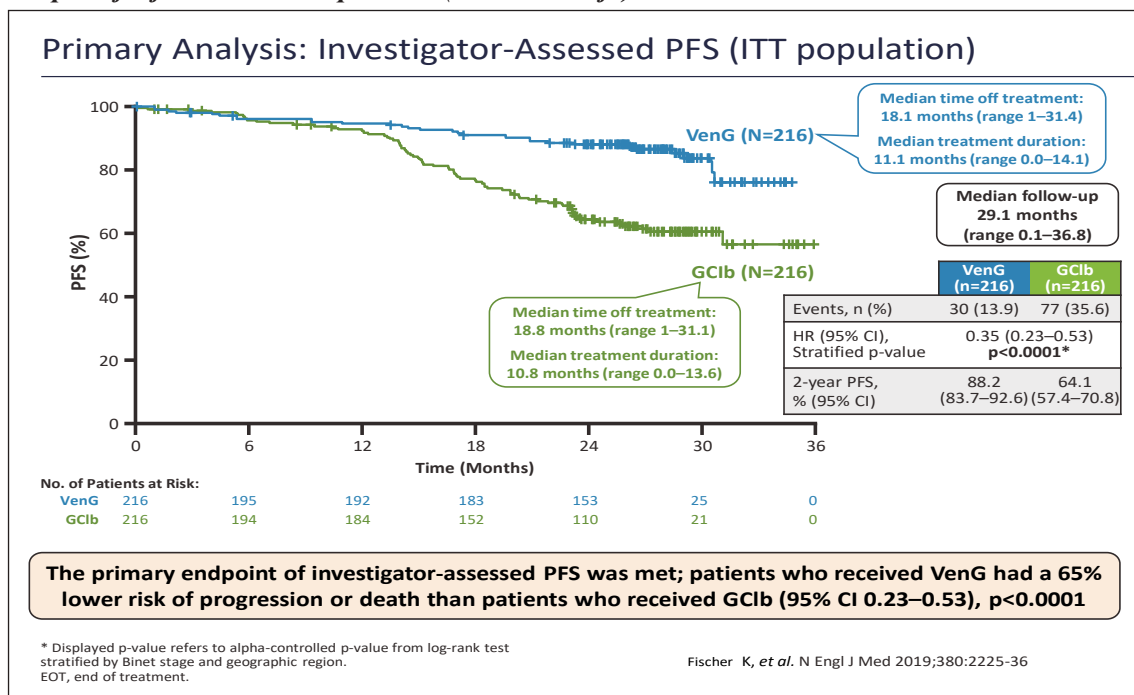
Na sastanku Radne skupine za KLL u Splitu u veljači 2019. prihvaćene su izmjene/dopune smjernica (KroHem; vl.2019). Objavljen je su na mrežnim stranicama KroHem-a³ i u službenom glasilu Bilten KroHema⁴. Tada su rezultati više kliničkih studija sugerirali potrebu dopuna i izmjena smjernica ili potvrdu pozicije novih lijekova.

Na EHA 2018. nakon perioda praćenja od 5 godina, uz PFS pokazuje se i signifikantno produljenje sveukupnog preživljenja (OS) u skupini bolesnika liječenih obinutuzumabom i klorambucilom u usporedbi s rituksimabom i klorambucilom⁵. GREEN, neusporedna studija u grani obinutuzumab-bendamustin ima 2-godišnji PFS od oko 82% i ne razlikuje se u „fit“ i „unfit“ bolesnika⁶. U veljači 2018. dolazi informacija iz EMA-e (a po inicijativi tvrtke Gilead) da se lijek Zydelig (idelalisib) u kombinaciji s rituksimabom i bendamustinom povlači iz liječenja KLL-a. Ostaje preporuka za kombinaciju idelalisiba s rituksimabom u refraktornoj i relapsnoj bolesti. Idelalisib s rituksimabom ostaje i opcija za liječenje u prvoj liniji bolesnika s TP53 aberacijom (del 17p i/

ili mutacija TP53) ako bolesnici ne mogu biti liječeni na drugi način⁷. Na ASH-u 2018. uz već prethodno odlične rezultate ibrutiniba nakon dugog praćenja u Resonate-2 studiji, još tri kliničke studije (Illuminate⁸, Alliance⁹ i ECOG 1912¹⁰) potvrđuju superiornost kontinuirane primjene ibrutiniba u prvoj liniji liječenja prema standardnoj kemoimunoterapiji bez obzira na opće stanje bolesnika. Jedino skupina mlađih bolesnika s mutiranim IgHV i bez delecije 11q ima rezultate kemoimunoterapije (BR, FCR) usporedive s ibrutinibom.^{9,10} Murano studija pokazuje izuzetnu učinkovitost venetoklaksa u kombinaciji s rituksimabom u liječenju relapsno/refraktorne kronične limfocitne leukemije¹¹. Najveća novost bila je uvrštavanje ibrutiniba u prvu liniju liječenja KLL-a.

Najnovije izmjene/dopune smjernica posljedica su odličnih rezultata kliničke studije CLL14¹². Prethodno neliječeni bolesnici s KLL-om lošeg općeg stanja (CIRS skorom iznad 6 i/ili klirensom kreatinina manjim od 70 ml/min) randomizirani su u granu koja je primala venetoklaks-obinutuzumab ili klorambucil-obinutuzumab. Primarna mjera ishoda bio je od istraživača procijenjen period bolesti bez progresije (PFS). Randomizirano je ukupno 432 bolesnika prosječne dobi 72 godine, po 216 u svaku granu. Nakon medijana praćenja od 28,1 mjeseci signifikantno više događaja progresije bilo je u skupini bolesnika liječenih kombinacijom klorambucil-obinutuzumab (HR 0,35; 95% CI 0,23-0,53, p<0,001). Procijenjeni PFS nakon 24 mjeseca bio je značajno veći u grani bolesnika liječenih kombinacijom venetoklaks-obinutuzumab nego u liječenih klorambucilom i obinutuzumabom (88,2 vs 64%) – Slika 1.

Slika 1. PFS procijenjen od strane ispitivača (CLL14 studija).



CLL14 studija pokazuje superiorne rezultate kombinacije ne-citotoksičnih, ciljanih lijekova venetoklaks i obinutuzumaba fiksnog trajanja liječenja (12 mjeseci) u odnosu na fiksno trajanje do sada standardne imunokemoterapije klorambucilom i obinutuzumabom. S medijanom dobi od 72 godine i medijanom CIRS-a od 8, studijska populacija je bila reprezentativna. Uključeni su bili i bolesnici s velikom tumorskom masom, tj. visokim rizikom za razvoj sindroma lize tumora (TLS), kao i oni s ostalim čimbenicima rizika (delecija 11q, nemutirani IgHV, delecija/mutacija TP53). U relativno kratkom periodu praćenja od 28 mjeseci sveukupno preživljenje (OS) se među analiziranim terapijskim granama ne razlikuje. Superiorni rezultati su i u ukupnom odgovoru na liječenje (ORR), te u broju kompletnih remisija (CR). Vrlo bitan rezultat je visok postotak bolesnika koji su postigli negativizaciju minimalne rezidualne bolesti (MRD negativnost) u perifernoj krvi i koštanjoj srži i trajnost tog rezultata kod bolesnika liječenih venetoklaksom i obinutuzumabom. U ovoj studiji nije bilo veće učestalosti sindroma lize tumora. To pokazuje da primjena sigurnosnih mjera (stratifikacija rizika uz adekvatne mjere prevencije tipa optimalne hidracije i primjene alopurinola, te postepeno tjedno povećanje doza venetoklaks, ali i početno liječenje /*debulking*/ obinutuzumabom), pružaju učinkovitu prevenciju sindroma lize tumora. Iz kliničke prakse je poznato da hematolozi znaju biti zabrinuti zbog izraženijih infuzijskih reakcija (IRR stadija 3 i 4) nakon primjene obinutuzumaba

i uz provedenu standardnu premedikaciju. To je ponekad razlog odustajanja od optimalnog izbora liječenja. Nedavno publicirani rezultati sugeriraju da prolongirana premedikacija metilprednizolonom prije primjene obinutuzumaba rezultira značajnim smanjenjem broja i intenziteta infuzijskih reakcija¹³. Pojavnost toksičnih učinaka visokog stupnja bila je mala, a najčešća nuspojava stupnja 3 i 4 je neutropenija.

Zbog ovakvih superiornih rezultata su na sastanku Radne skupine KroHem-a za kroničnu limfocitnu leukemiju (KLL), održane u Medulinu 28. veljače 2020., prihvaćene izmjene/dopune nacionalnih smjernica. One su rezultat prezentacije voditelja skupine i rasprave s konsenzusom većine članova. Nove smjernice objavljene su na mrežnim stranicama KroHem-a, a izmjene/dopune se odnose uglavnom na prvu liniju liječenja. Dakle, prihvaćena je dopuna/izmjena smjernica gdje je venetoklaks u kombinaciji s obinutuzumabom indiciran za liječenje prethodno neliječenih bolesnika lošeg općeg stanja kod kojih nije prikladno liječenje temeljeno na punoj dozi fludarabina. Radi se o bolesnicima starijim od 65 godina ili mlađim uz komorbiditete (CIRS > 6, klirens kreatinina < 70 ml/min).

Ovim se proširuje izbor optimalne terapije i uspostavlja vremenski ograničeno trajanje liječenja ciljanim (ne-citotoksičnim) lijekovima¹⁴. Tablica 1. prikazuje nove smjernice za prvu liniju liječenja KLL-a (KroHem; vl.2020).

Tablica 1. Hrvatske smjernice za prvu liniju liječenja KLL (v1.2020)

PRVA LINIJA LIJEČENJA B-KLL (KROHEM v1. 2020)							
Stadij	% ^a	Molekularna citogenetika	% ^b	Opće stanje	% ^b	Prva linija liječenja	
						Standard ^c	Druga opcija ^d
Bez simptoma ; Binet: A-B ; Rai 0-II; TTM<9 (15)	33	Nevažno		Nevažno		Ništa (W&W)	
Binet C, Rai III-IV; TTM>15; ili prisutnost simptoma bolesti (prisutne indikacije za liječenje)	67	Bez del(17p) / TP53 mut	93	Dobro	32	Ibrutinib (1) FCR ^e	B + anti CD20 ^f
				Loše	61	Ibrutinib (1) ^g Veneto + Obi ^g Chl + Obi B + anti CD20	Chl + R Obi R Chl
		Del(17p) / TP53 mut	7	Nevažno	7	Ibrutinib Veneto ± R Veneto + Obi Idelalisib + R ^h	Alo-SCT ⁱ

Klinički pokusi se preporučuju za sve podskupine, mi čvrsto vjerujemo da oni unapređuju razinu skrbi.

- Prikazani postoci se temelje na sastavljenim podacima iz zapadnih zemalja i Hrvatske.
- Postoci bolesnika s različitim općim stanjem i molekularno genetičkim skupinama odnose se na liječene bolesnike. Dobro opće stanje je definirano s dobi manjom od 65 godina uz CIRS skor manji od 6. Mlađi bolesnici uz CIRS skor od 6 i više, te bolesnici sa 65 godina ili više (bez obzira na CIRS skor) svrstavaju se kao loše opće stanje.
- Standardna liječenja su poredana prema poželjnom redosljedu (osim situacije sa ibrutinibom i veneto + Obi koji su jednako vrijedni, vidi točku g), liječenja s potpunim konsenzusom su označena (1).
- Modalitet liječenja ako bolesnici nisu podobni za standardnu opciju.
- U bolesnika s mutiranim IGHV i bez del11q do 65 godina, bez bitnijih komorbiditeta.
- Za bolesnike manje dobrog stanja (koji ne mogu tolerirati punu dozu fludarabina). Anti CD20 monoklonska protutijela podrazumijevaju: rituksimab, obinutuzumab i ofatumumab.
- Jednako vrijedne terapije (izbor ordinarijusa).
- uz obvezu anti-infektivne profilakse i nadzora CMV, kod bolesnika kod kojih nije moguće drugo liječenje
- opcija u remisiji

FCR (fludarabin, ciklofosamid i rituksimab); B = bendamustin; Veneto = venetoklaks; Obi = obinutuzumab; Chl = klorambucil; R = rituksimab; Alo-SCT = alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica

Dakle, kombinacija venetoklaksa i obinutuzumaba je indicirana u bolesnika lošeg općeg stanja („*unfit*“), bez delecije/mutacije TP53, u prvoj liniji liječenja. Alternativa je liječenje ibrutinibom s jednakom snagom preporuke kao kombinirano liječenje ograničenog trajanja venetoklaksom i obinutuzumabom, tj. izbor terapije ovisi o nadležnom hematologu. S manjom snagom preporuke u ovoj skupini standardno liječenje je još uvijek i imunokemoterapija. To se uglavnom odnosi na kombinaciju obinutuzumaba i klorambucila, manje na rituksimab s bendamustinom (može se eventualno primijeniti u bolesnika manje narušenog općeg stanja unutar navedene ciljane skupine).

Relevantne smjernice za liječenje KLL-a objavilo je Europsko društvo za internističku onkologiju (ESMO/European Society for Medical Oncology) još 2017.¹⁵, no te smjernice od tada nisu ažurirane. Stoga su ovdje prikazane široko prihvaćene smjernice njemačke grupe za kroničnu limfocitnu leukemiju (German CLL Study Group) gdje je kombinacija

venetoklaksa s obinutuzumabom indicirana za prvu liniju liječenja bolesnika s lošim općim stanjem („*slow go*“). Druge opcije su monoterapija ibrutinibom ili klorambucil s obinutuzumabom¹⁶.

NCCN u SAD-u (National Comprehensive Cancer Network - NCCN) obnavlja svoje preporuke bar dva puta godišnje. Posljednja verzija (NCCN Guidelines Version 4.2020) za prvu liniju liječenja KLL-a preporučuje **bez obzira na opće stanje bolesnika** (dakle svi s indikacijom za liječenje) ibrutinib (snaga preporuke 1) ili kombinaciju venetoklaksa i obinutuzumaba¹⁷. Postoji i preporuka za liječenje tih bolesnika akalabrutinibom (s ili bez obinutuzumaba), no u EU ovaj lijek još nije registriran.

U skupini relapsno/refraktorne bolesti nije bilo izmjena, osim što je konsenzusom promijenjena definicija vremenske određenosti relapsa. Rani relaps je onaj koji se javlja unutar 3 godine nakon završenog prethodnog liječenja bilo kojeg modaliteta. Pojava relapsa više od 3 godine nakon završenog prethodnog liječenja je kasni relaps (Tablica 2.).

Tablica 2. Liječenje relapsa/refraktorne B-KLL.

LIJEČENJE RELAPSA/REFRAKTORNE B-KLL (KROHEM v1. 2020)								
Stadij	% ^a	Molekularna citogenetika	%	Opće stanje	%	Liječenje		
						Standard ^b	Druga opcija	Produženo / Održavanje
Rani (< 3 godine nakon završenog liječenja) Refraktorna bolest (< 1 godine nakon završenog liječenja)	40	Bez del(17p) / TP53 mut	29	Dobro	9	Ibrutinib (1) ^c Veneto + R (1) ^c Idelalisib + R	FCR ^d B + anti CD20 ^{d,e}	→Alo-SCT →antiCD20 ^f
				Loše	20			
		Del(17p) / TP53 mut	11	Dobro & Loše	11	Ibrutinib (1) ^c Veneto + R (1) ^c Idelalisib + R	→Alo-SCT →antiCD20 ^f	
Kasni (> 3 godine nakon završenog liječenja)	60		60	Dobro & Loše		Ponovi prvu liniju (ili odaberi od gore navedenog)		

Klinički pokusi se preporučuju za sve podskupine, mi čvrsto vjerujemo da oni unapređuju razinu skrbi.

- Prikazani postoci ranih i kasnih relapsa su procijenjeni temeljem podataka zapadnih zemalja (Hallek 2010, Eichorst 2015, Shustik 2017, Slovenski registar za rak). U analizi su i ranije procjene iz KB Dubrava (ev. korekcije ovisno o novom izračunu). Postoci bolesnika u lošem općem stanju i bolesnika s del(17p) teže povećanju. Dobro opće stanje je definirano s dobi manjom od 65 godina uz CIRS skor manji od 6. Mlađi bolesnici uz CIRS skor od 6 i više, te bolesnici sa 65 godina ili više (bez obzira na CIRS skor) svrstavaju se kao loše opće stanje.
- Standardna liječenja su poredana prema poželjnom redoslijedu (osim situacije sa ibrutinibom i venetoklaksom + R koji su jednako vrijedni, vidi točku c), ali terapijska odluka treba za svakog pojedinog bolesnika biti donesena na temelju integracije kliničkih podataka i bolesnikovih preferencija. Sva liječenja su 2A ili manje prema NCCN konsenzusu, liječenja s najvišim stupnjem (potpuni konsenzus) su označena (1).
- Jednako vrijedne terapije (izbor ordinarijusa).
- Ako nije u prvoj liniji.
- Anti CD20 monoklonska protutijela podrazumijevaju: rituksimab, obinutuzumab i ofatumumab.
- Ofatumumab značajno produljuje PFS kod bolesnika koji su dobro odgovorili u drugom ili trećem odgovoru na kemoimunoterapiju, odobren od FDA.

Veneto = venetoklaks; FCR (fludarabin, ciklofosamid i rituksimab); B = bendamustin; Chl = klorambucil; R = rituksimab; Alo-SCT = alogenična transplantacija krvotvornih matičnih stanica

Preporuke za „salvage“ liječenje su mnogo složenije nego u prvoj liniji liječenja. Treba uzeti u obzir dodatne kriterije ovisno o tipu liječenja u prvoj liniji, te o opaženom trajanju odgovora.

Literatura:

- Jakšić B, Pejša V, Ostojić Kolonić S i sur. Guidelines for diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia. KROHEM 2016. <http://www.krohem.hr/Documents/AMENDMENT%20KROHEM%20CLL%20GUIDELINES%20v1.%202016%20%20ENGL.pdf>
- Jakšić B, Pejša V, Ostojić-Kolonić S, Kardum-Skelin I, Bašić-Kinda S, Coha B, Gverić-Krečak V, Vrhovac R, Jakšić O, Aurer I, Sinčić-Petričević J, Načinović-Duletić A, Nemet D. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia. Krohem B-CII 2017. Acta Clin Croat. 2018;57(1):190-215.
- Pejša V, Jakšić B, Ostojić Kolonić S i sur. <https://www.krohem.hr/wpcontent/uploads/2020/03/B-KLL-KROHEM-v1.-2020.pptx>

4. Pejša V, Jakšć B, Ostojić Kolonić S i sur. Smjernice za liječenje kronične limfocitne leukemije. *Bilten Krohema*. 2019;11(1):4-7.
5. Valentin Goede, Kirsten Fischer, Martin JS Dyer, Lothar Müller, Lukas Smolej, Maria Chiara Di Bernardo, Andrea Knapp, Tina Nielsen, Michael Hallek. Overall survival benefit of obinutuzumab over rituximab when combined with chlorambucil in patients with chronic lymphocytic leukemia and comorbidities: final survival analysis of the CLL11 study. *EHA 2018*. Abstract: S151.
6. Stilgenbauer S, Leblond V, Foà R, Böttcher S, Ilhan O, Knauf W, Mikuskova E, Renner C, Tausch E, Woszczyk D, Gresko E, Lundberg L, Moore T, Morris T, Robson S, Bosch F. Obinutuzumab plus bendamustine in previously untreated patients with CLL: a subgroup analysis of the GREEN study. *Leukemia*. 2018;32(8):1778-1786.
7. https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/zydelig-epar-summary-public_en.pdf
8. Moreno C, Greil R, Demirkan F, Tedeschi A, Anz B, Larratt L, Simkovic M, Samoilova O, Novak J, Ben-Yehuda D, Strugov V, Gill D, Gribben JG, Hsu E, Lih CJ, Zhou C, Clow F, James DF, Styles L, Flinn IW. Ibrutinib plus obinutuzumab versus chlorambucil plus obinutuzumab in first-line treatment of chronic lymphocytic leukaemia (iLLUMINATE): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2019;20(1):43-56.
9. Woyach JA, Ruppert AS, Heerema NA, Zhao W, Booth AM, Ding W, Bartlett NL, Brander DM, Barr PM, Rogers KA, Parikh SA, Coutre S, Hurria A, Brown JR, Lozanski G, Blachly JS, Ozer HG, Major-Elechi B, Fruth B, Nattam S, Larson RA, Erba H, Litzow M, Owen C, Kuzma C, Abramson JS, Little RF, Smith SE, Stone RM, Mandrekar SJ, Byrd JC. Ibrutinib Regimens versus Chemoimmunotherapy in Older Patients with Untreated CLL. *N Engl J Med*. 2018;379(26):2517-2528.
10. Shanafelt et al at the 2018 American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting & Exposition (Abstract LBA4).
11. Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, Hillmen P, D'Rozario J, Assouline S, Owen C, Gerecitano J, Robak T, De la Serna J, Jaeger U, Cartron G, Montillo M, Humerickhouse R, Punnoose EA, Li Y, Boyer M, Humphrey K, Mobasher M, Kater AP. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2018;378(12):1107-1120.
12. Fischer K, Al-Sawaf O, Bahlo AM, et al. Venetoclax and Obinutuzumab in Patients with CLL and Coexisting Condition. *N Engl J Med* 2019; 380:2225-36. DOI: 10.1056/NEJMoa1815281.
13. Pejša V, Lucijanić M, Vrkljan Vuk A, i sur. Prolonged methylprednisolone premedication prior to obinutuzumab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2020 Apr;61(4):934-939. doi: 10.1080/10428194.2019.1702182. Epub 2019 Dec 16
14. Pejša V, Jakšć B, Ostojić Kolonić S i sur. <https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2020/03/B-KLL-KROHEM-v1.-2020.pptx>
15. <https://www.esmo.org/Guidelines/Haematological-Malignancies/Chronic-Lymphocytic-Leukaemia/eUpdate-Treatment-Recommendations>.
16. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol* 2019, 94:1266-1287.
17. Wierda WG, Byrd JC, Abramson JS et al. Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma, Version 4.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2020 Feb;18(2):185-217. doi: 10.6004/jnccn.2020.0006

Djelovanje konjugata blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske fluorescentne boje i cisplatine na staničnim i animalnim modelima hematoloških tumora

Stefan Mrdenović

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti

KBC Osijek

Uvod

Ključni problem liječenja zloćudnih bolesti je nedovoljna selektivnost i učinkovitost kemoterapijskog liječenja. Konvencionalni kemoterapeutici imaju brojne štetne nuspojave, oštećuju normalne stanice, a izbjegavaju postići citotoksični učinak na svim tumorskim stanicama. Temelj današnjeg razvoja liječenja zloćudnih bolesti zasnovan je na ciljanoj personaliziranoj terapiji. Iznimni rezultati u ciljanoj terapiji postignuti su u skupini ciljano navođenih lijekova. Ovi agensi modelirani su tako da monoklonsko protutijelo ili mala molekula sa sposobnošću selektivnog odabira ciljanih staničnih proteina izraženih u tumorskim stanicama na sebi nosi citotoksičnu supstancu koju ciljano navodi u tumor i/ili njegov mikrookoliš. Tako se kombinira sposobnost dokazanog djelovanja i učinkovitosti citotoksične tvari i visoka specifičnost njezina dopremanja vezanjem molekule nosača na ciljano vezno mjesto na ili unutar tumorske stanice. Unazad nekoliko godina postignut je značajan napredak u razvoju fluorescentnih boja sa sposobnošću vizualizacije tumora. Blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske fluorescentne boje pokazale su iznimnu mogućnost selektivnog nakupljanja unutar tumorskih stanica. Pretpostavljeni model akumulacije boje temelji se na aktivnom prijenosu ovih boja unutar stanice pomoću obitelji membranskih peptida za transport organskih aniona (OATP). OATP-i sudjeluju u kompleksnoj regulaciji unosa, metabolizma i ekskrecije tvari iz organizma. Ovi transporteri izrazito su ekspimirani u tumorskim stanicama te u hipoksičnim uvjetima tumorskog mikrookoliša. Nakon ulaska boje u tumorske stanice dolazi do njezinoga dugoga zadržavanja u stanici bez mogućnosti aktivnog transporta van stanice. Na ovaj način postiže se izuzetno selektivna akumulacija fluorescentnih boja unutar tumorskih stanica izbjegavajući značajniju akumulaciju u ostalim normalnim stanicama. Uzevši navedeno u obzir postoji temeljna indicija da blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske boje mogu služiti kao selektivni nosači citotoksičnih tvari u tumorske

stanice i poslužiti kao novi model ciljano navođene tumorske terapije.

Hipoteza

Konjugat blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske fluorescentne boje i cisplatine posjeduje sposobnost selektivnog nakupljanja unutar tumorskih stanica visokog proliferacijskog indeksa, a koje posjeduju svojstva matičnih stanica. Pretpostavljamo da se postizanjem zadovoljavajućih koncentracija agensa unutar tumorskih stanica nadilazi njihova otpornost na konvencionalnu cisplatinu i postiže ciljano uklanjanje stanica nekim od mehanizama stanične smrti.

Materijali i metode

Za potrebe istraživanja korištene standardizirane humane stanične linije Burkittova limfoma Namalwa, Raji, Ramos, Daudi i CA46. Stanice su izlagane konjugatu blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske fluorescentne boje i cisplatine (DZ1-cisplatina), samoj infracrvenoj heptametin-karbocijaninskoj fluorescentnoj boji (DZ-1) te konvencionalnoj cisplatinu u 9 koncentracija uz kontrolu te je ispitivana polumaksimalna inhibitorna koncentracija (IC50) nakon 24h na svim gore navedenim staničnim linijama, kvantificiran apoptotički učinak na staničnoj liniji Burkittova limfoma Namalwa nakon izlaganja konjugatu cisplatine i konvencionalnoj cisplatinu u rastućim koncentracijama koristeći kaspaza 3/7 luminescentni kit (Promega Caspase-Glo 3/7 luminescent assay) nakon izlaganja stanica 24h. Mogućnost vizualizacije nakupljanja konjugata in vitro provedena je NIRF mikroskopijom (Nikon Eclipse Ti-E) uz kvantifikaciju intenziteta signala programom ImageJ. Limfomska stanična linija Namalwakorištena je za kvantifikaciju nakupljanja konjugata cisplatine i protočnom citometrijom. Potvrđna Western blot kvantifikacija apoptoze koristeći protutijela za detekciju kaspaze 9, kaspaze 3 i PARP te normalizaciju prema «housekeeping» proteinima GAPDH i b-aktina izvedena je na staničnim

linijama Burkittova limfoma Namalwa i Raji nakon izlaganja konjugatom cisplatine i konvencionalne cisplatine u rastućim koncentracijama nakon 24h. Za utvrđivanje mehanizma djelovanja konjugata blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske fluorescentne boje i cisplatine na staničnoj liniji Burkittova limfoma Namalwa učinjena je presječna Western blot detekcija glavnih unutarstaničnih signalnih puteva koristeći protutijela za detekciju PI3K, pPKA, src, psrc, smad2, psmad2, AKT, pAKT, MEK 1/2, pMEK 1/2 ERK 1/2, pERK 1/2, p38, pp38, stat3, pstat3, p53, pp53, p21, p27, NFKB, pNFKB, c-myc, max, mcl-1, bcl-2, ku70, p-c-JUN, JNK, pJNK, pCREB, MDR1, DNMT1, DNMT3a, DNMT3b, HDAC2, ROCK1, ALDH1A1 te protutijela za detekciju «housekeeping» proteina b-aktina. Stanice su izlagane rastućim koncentracijama konjugata i konvencionalne cisplatine u trajanju od 24h. NCr Nu/Nu, NOD-SCID spontani mutanti miševa korišteni su kao tumorski animalni modeli za praćenje rasta supkutano injiciranih humanih ksenografta linija tumora uz primjenu blisko infracrvene heptametin-karbocijaninske fluorescentne boje i cisplatine te konvencionalne cisplatine. Za testiranje korištene su različiti modeli imunodeficientnih i imunokompetentnih sojeva miševa zbog procjene učinka imunološkog odgovora u djelovanju testiranih konjugata. Miševi su randomizirani u skupinu tretiranu blisko infracrvenom bojom, skupinu tretiranu konvencionalnim kemoterapeutikom i skupinu tretiranu konjugatom. Rast tumora praćen je mjerenjem veličine tumora kaliperom u dvije dimenzije tijekom i nakon tretiranja miševa 3x tjedno. Akumulacija konjugata praćena je korištenjem kamera za detekciju blisko infracrvenog zračenja (Perkin Elmer IVIS Spectrum in vivo i IVIS Lumina) 1x tjedno tijekom tretiranja. Nakon tretiranja miševa s injiciranim staničnim linijama Burkittova tumora miševi su žrtvovani i provedena je detekcija signala akumulacije konjugata cisplatine na vitalnim organima miševa uz tumore. Intenzitet signala mjereno je korištenjem programa Living Images (Perkin Elmer) zbog kvantifikacije signala nakupljanja. Organi i tumorski ksenografiti uzeti su za imunohistokemijsku detekciju proliferacije koristeći protutijelo na Ki-67, apoptozu koristeći protutijelo na odcjepljenu kaspazu 3 i M30 protutijelo na kaspazno odcjepljen epitop citokeratina 18, protein vezan uz regulaciju apoptoze Survivin, transkripcijski faktor c-myc.

Rezultati

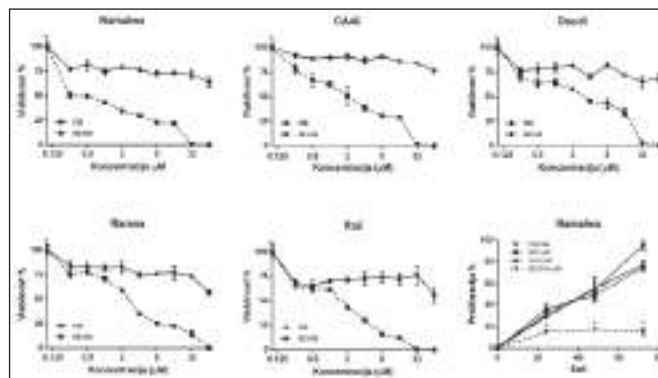
Testirane stanične kulture pokazale odlične mikromolarne koncentracije polumaksimalne inhibicije (IC50) u usporedbi s konvencionalnom cisplatinom na koje su sve testirane stanične kulture bile rezistentne. S obzirom na visoke ili nedostižne vrijednosti IC50 na nije određivana statistička značajnost već je naznačen interval pouzdanosti IC50 za DZ-CIS iako bi u slučaju IC50 za cisplatinu od 64 μM razlika bila visoko statistički značajna ($p < 0,0001$) (Tablica 1., Slika 1.).

Tablica 1. Rezultati ispitivanja polumaksimalne inhibitorne koncentracije DZ-CIS-a na staničnim linijama Burkittova limfoma*. Cisplatina očekivano nije djelovala na navedene stanične linije, IC50 nije dosegnut ni pri koncentraciji većoj od 64 μM . Izlaganje navedenih staničnih linija pokazalo je naprotiv izrazitu osjetljivost na DZ-CIS.

Stanična linija	Polumaksimalna inhibitorna koncentracija (IC50) 24 h			
	CIS	95% CI	DZ-CIS	95% CI
Daudi	>64 μM	ND	2.53 μM	1.833 - 3.489
Raji	>64 μM	ND	1.23 μM	1.004 - 1.502
Namalwa	>64 μM	ND	0.72 μM	0.5112 - 1.024
Ramos	>64 μM	ND	2.40 μM	2.029 - 2.841
CA-46	>64 μM	ND	2.00 μM	1.604 - 2.512

* Rezultati su izraženi kao srednja vrijednost kvadrupletnog testiranja nakon izlaganja 24h

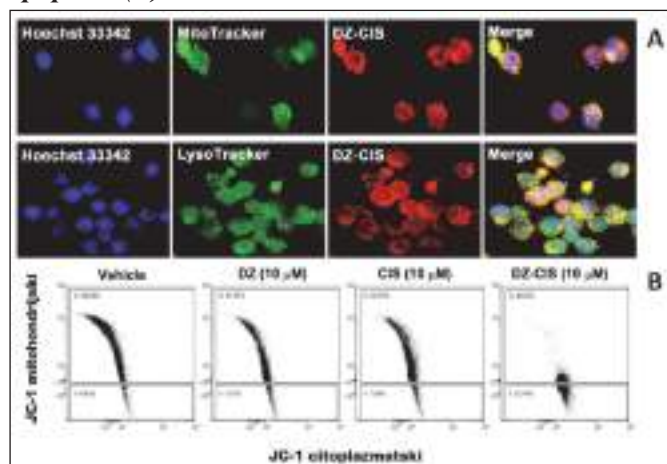
Slika 1. Stanične linije Burkittova limfoma rezistentne su na djelovanje cisplatine no pokazuju osjetljivost nakon izlaganja DZ-CIS-u. Izlaganje stanica koncentracijama DZ-CIS-a većim od 32 μM dovelo je sniženja broja stanica na 0% u vremenskom intervalu 24h.



Pri testu proliferacije stanične linije imaju značajno sniženu proliferaciju nakon tretiranja s DZ-CIS-om u odnosu na tretiranje DZ-om ili CIS-om nakon 24, 48 i 72h ($p < 0,05$) (Slika 1.). Testom apoptoze na staničnim linijama Burkittova limfoma potvrđena je o dozi ovisna indukcija apoptoze nakon tretiranja DZ-CIS-om u odnosu na CIS pri koncentracijama od 8 μM ($p < 0,05$), 16 μM ($p < 0,01$) i 32 μM ($p < 0,001$). Dodatno apoptoza je potvrđena western blotom i protočnom citometrijom koristeći

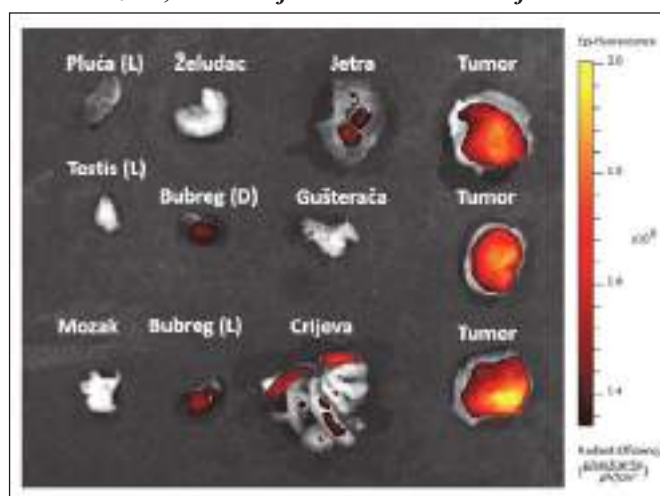
JC-1 fluorescentnu boju. Stanične linije Burkittova limfoma Namalwa nakon kratkotrajnog izlaganja DZ-CIS-a pokazala su značajnu akumulaciju unutar tumorskih stanica koristeći fluorescentni mikroskop sa Cy7 fluorescentnim filterom. DZ-CIS pokazao je značajno veću akumulaciju unutar stanica u usporedbi s DZ-1 bojom ($p < 0,01$) ili DAPI-jem ($p < 0,001$). Nakon tretiranja stanica stanične linije Burkittova limfoma Namalwa s $4 \mu\text{M}$ DZ-CIS-a kroz samo 15 minuta protočnom citometrijom detektirana je akumulacija DZ-CIS-a u 99,4% živih stanica. U modelu kokulture stanične linije Burkittova nakon tretiranja DZ-CIS-om dolazi do apoptoze samo tumorskih stanica, bez znakova oštećenja stromalnih stanica. DZ-CIS pojačano se lokalizira u staničnim odjeljcima mitohondrija (MitoTracker) i lizosoma (LysoTracker) prateći fluorescentne boje selektivne za ove stanične odjeljke (Slika 2.).

Slika 2. DZ-CIS pojačano se lokalizira u staničnim odjeljcima mitohondrija (MitoTracker) i lizosoma (LysoTracker) prateći fluorescentne boje selektivne za ove stanične odjeljke što se može uočiti preklapanjem različitih fluorescencijskih spektara (Merge) (A). Protočnom citometrijom uočena je snižena emisija J agregata (JC-1 mitohondrijski) uz porast zelene fluorescencije JC-1 monomera (JC-1 citoplazmatski) što ukazuje na značajno narušavanje membranske permeabilnosti mitohondrija i upućuje na razvoj apoptoze (B).



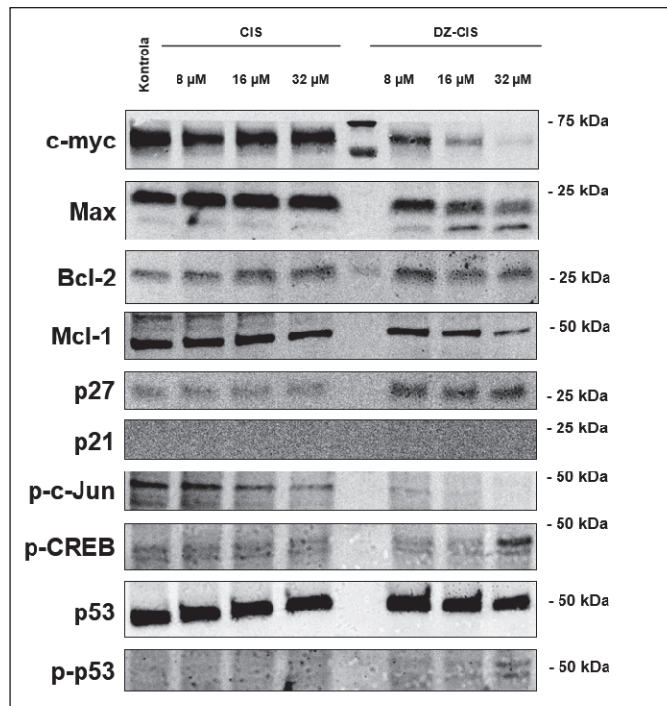
Nakupljanje DZ-CIS-a unutar tumora potvrđeno je i in vivo. DZ-CIS se značajno više nakuplja unutar tumora u usporedbi sa svim glavnim organima miša mjereći efikasnost fluorescentnog infracrvenog zračenja ($p < 0,0001$) (Slika 3.). U in vivo modelima tumorskih ksenografta sa staničnom linijom Burkittova limfoma prisutna je značajna razlika u tumorskim volumenima miševa tretiranih s DZ-CIS-om u usporedbi s miševima tretiranih s CIS-om ili nosačem ($p < 0,05$).

Slika 3. Emisija nakupljanja DZ-CIS-a unutar organa i tumora. Tumori jasno nakupljaju DZ-CIS prateći njegov infracrveni odjek. Zabilježena je određena akumulacija DZ-CIS-a u mišijoj jetri, bubrezima i crijevima, moguće kao odraz apsorpcije, metabolizma, ekskrecije tvari te distribucije OATP-a.



Morfološkom i imunohistokemijskom analizom potvrđena je statistički značajna razlika u protutumorskom djelovanju DZ-CIS-a na tkivima tumora te očuvanju tkiva jetre i bubrega u usporedbi s cisplatinom. Imunohistokemijskom i western blot analizom djelovanja DZ-CIS-a pokazano je statistički značajno sniženje ekspresije c-myc ($p < 0,05$), survivina, Ki-67, STAT3, p-SRC i epigenetski vezanih proteina (Slika 4.).

Slika 4. WB analiza ekspresije djelovanja DZ-CIS-a na stanične linije Burkittova limfoma. DZ-CIS ne utječe na promjenu ekspresije ukupnog p53 u staničnoj liniji Burkittova limfoma s prisutnom mutacijom p53, ali uzrokuje blagu aktivaciju p-p53. DZ-CIS uzrokuje aktivaciju cAMP/PKA/CREB signalnog puta i dramatično sniženje ekspresije c-myc uz cijepanje Max i sniženje ekspresije Mcl-1. Uočeno je sniženje ekspresije p-c-JUN uz tretman s oba agensa, ali ovaj efekt značajnije je izražen uz tretman DZ-CIS-om.



Zaključak

Utvrđena je sposobnost selektivnog nakupljanja DZ-CIS-a unutar tumorskih stanica visokog proliferacijskog indeksa, a koje posjeduju svojstva matičnih stanica protutumorski učinak selektivnim nakupljanjem unutar tumorskih stanica. Svoju tumorsku aktivnost postiže nadilaženjem otpornosti na konvencionalnu cisplatinu i uzrokuje ciljano uklanjanje stanica apoptozom i drugim mehanizmima stanične smrti.

Literatura:

1. Mrdenovic, Stefan, et al. "Targeting Burkitt lymphoma with a tumor cell-specific heptamethine carbocyanine-cisplatin conjugate." *Cancer* 125.13 (2019): 2222-2232.
2. Wu, Jason Boyang, et al. "Near-infrared fluorescence heptamethine carbocyanine dyes mediate imaging and targeted drug delivery for human brain tumor." *Biomaterials* 67 (2015): 1-10.
3. Yang, Xiaojian, et al. "Near IR heptamethine cyanine dye-mediated cancer imaging." *Clinical Cancer Research* 16.10 (2010): 2833-2844.
4. Yang, Xiaojian, et al. "Optical imaging of kidney cancer with novel near infrared heptamethine carbocyanine fluorescent dyes." *The Journal of urology* 189.2 (2013): 702-710.
5. Yang, Xiaojian, et al. "Near IR heptamethine cyanine dye-mediated cancer imaging." *Clinical Cancer Research* 16.10 (2010): 2833-2844.
6. Nigam, Sanjay K., et al. "The organic anion transporter (OAT) family: a systems biology perspective." *Physiological reviews* 95.1 (2015): 83-123.
7. Obaidat, Amanda, Megan Roth, and Bruno Hagenbuch. "The expression and function of organic anion transporting polypeptides in normal tissues and in cancer." *Annual review of pharmacology and toxicology* 52 (2012): 135-151.
8. Wu, Jason Boyang, et al. "Near-infrared fluorescence imaging of cancer mediated by tumor hypoxia and HIF1 α /OATPs signaling axis." *Biomaterials* 35.28 (2014): 8175-8185.
9. Zhao, Ningning, et al. "Optical imaging of gastric cancer with near-infrared heptamethine carbocyanine fluorescence dyes." *Oncotarget* 7.35 (2016): 57277.
10. Shao, Chen, et al. "Detection of live circulating tumor cells by a class of near-infrared heptamethine carbocyanine dyes in patients with localized and metastatic prostate cancer." *PloS one* 9.2 (2014): e88967.

Plućna toksičnost ciljanih lijekova

Marko Martinović

Zavod za hematologiju

Klinika za unutarnje bolesti KB Merkur

Plućna toksičnost izazvana lijekovima se relativno rijetko javlja (<10%), a dijagnostički je treba diferencirati od infekcije i solidnih tumora pluća. Može se manifestirati u obliku reakcija preosjetljivosti, intersticijskog pneumonitisa, nekardiogenog edema pluća, pleuralnih izljeva, pojave nodusa, progresivne fibroze pluća te obliterirajućeg bronhiolitisa i organizirajućeg pneumonitisa (BOOP). Uobičajeno je višednevno trajanje simptoma uz normalan nalaz na Rtg pluća. Klinička slika reakcije preosjetljivosti (hipersenzitivnog pneumonitisa) je bronhospazam uz moguće zahvaćanje drugih organskih sustava (npr. urtikarija, edem vjeđa), a za intersticijski pneumonitis i fibrozu pluća progresivno pogoršanje zaduhe i kašlja. Subfebriliteti i blaži febriliteti kod intersticijskog pneumonitisa mogu imitirati pneumoniju, kao što i klinička slika plućne embolije može nalikovati infektivnoj bolesti te ih obje treba razmatrati u diferencijalnoj dijagnostici bolesnika s respiratornim tegobama. Hipoksija je proporcionalna razini zahvaćenosti plućnog parenhima. Dijagnostička obrada sumnje na plućnu toksičnost započinje s Rtg snimkom, kod intersticijskog pneumonitisa se nalaze intersticijski i alveolarni infiltrati dok se kod plućne fibroze inicijalno ne nalazi supstrat, progresijom se javljaju obostrano bazalno zadebljanja intersticija te mrežasti uzorak poput zrnatog stakla. Za rano otkrivanje plućne toksičnosti MSCT ima jaču osjetljivost. Testovi plućne funkcije ukazuju na restriktivne promjene uz smanjenje volumena kod plućne fibroze. Za definitivnu dijagnozu te posebno za diferenciranje od infekcije i solidnih tumora pluća u pravilu je potrebna bronhoskopija s biopsijom i lavažom. Osnova je liječenja prekid terapije lijekom za koji se smatra da je izazvao toksičnost te uvođenje kortikosteroida. Treba započeti i s empirijskom primjenom antibiotika kod bolesnika s febrilitetom, progresivnim kašljem, hipoksijom i dispnejom.¹

Intersticijska plućna bolest uzrokovana lijekom (eng. drug-induced interstitial lung disease, DIILD) posljedica je nastanka upale nakon izlaganja lijeku. Preko 350 lijekova uzrokuje DIILD, ažurirani podaci su dostupni na mrežnoj stranici Pneumotox (www.pneumotox.com). Uz svaki lijek je naveden i broj opisa u literaturi, kao i tip oštećenja.

▼ FREQUENCY	
☆	Questionable signal
★	< 10 cases
★★	10 - 50 cases
★★★	60 - 100 cases
★★★★	100 - 200 cases
★★★★★	>200 cases

▼ ALL PATTERNS	
I	Interstitial/parenchymal lung disease
II	Pulmonary edema - Acute lung injury - ARDS
III	Pulmonary/alveolar hemorrhage
IV	Airway involvement
V	Pleural and/or pericardial involvement
VI	Pulmonary vasculopathies
VII	Mediastinal involvement
VIII	Central-large-upper airway (incl pharyngeal-nasal) involvement
IX	Neuromuscular / CNS involvement - Disordered breathing during sleep
X	Systemic/Distant conditions, syndromes and reactions



Na donjoj slici navedeni su kriteriji za dijagnostičiranje plućne bolesti izazvane lijekom.



Prema American Thoracic Society/European Respiratory Society (ATS/ERS) DIILD je subtip difuznih parenhimskih plućnih bolesti. Za postavljanje dijagnoze DIILD potrebna je vremenska povezanost nastupa simptoma i izloženosti lijeku, nedostatak drugog vjerojatnog uzroka (infekcije, plućnog edema, oštećenja uzrokovanog radioterapijom, progresije same bolesti) te poboljšanje na izostavljanje sumnjivog lijeka s ili bez glukokortikoida, a vrlo je značajno ponavljanje simptoma pri ponovnom izlaganju istom lijeku. U kliničkim ispitivanjima koristi se međunarodna klasifikacija²:



Oboljeli od kronične limfocitne leukemije imaju više ili manje izražene promjene imunološkog odgovora odnosno imunoparezu koja stvara predispoziciju za infekcije.³ Upitno je ima li i u kojoj mjeri liječenje kronične limfocitne leukemije (KLL) utjecaj na defekte imunološkog sustava. Promijenjene su i humoralna i stanična imunost.

Hipogamaglobulinemija (posebno subtipovima IgG3 i IgG4) razvojem bolesti postupno progredira,⁴ a unatoč terapiji je tek dijelom reverzibilna. Također, jasna je povezanost hipogamaglobulinemije i učestalosti infekcija dok dosadašnjim istraživanjima nije definirana povezanost mutacijskog statusa gena varijabilne regije teškog lanca imunoglobulina (IgVH) i infekcija. Infekcije u oboljelih od KLL-a se najčešće javljaju u respiratornom traktu, što se može povezati sa sniženjem razina IgA i IgG4.⁵ Upitno je i jesu li B limfociti respiratorne sluznice dio maligne ili fiziološke populacije stanica.

Disfunkcija imunološkog sustava u KLL-u posljedica je zastoja u diferencijaciji NK stanica te imunosupresivnih poremećaja unutar populacije T limfocita (↑Tregs, ↑PD-1).⁶ Mutacije B limfocita i njihovih receptora (BCR) osim u patogenezi bolesti doprinose osjetljivosti na infekcije, kao i poremećaji u mreži citokina i signalnih puteva koji dovode do promjena u fenotipu makrofaga te nemogućnosti sazrijevanja dendritičkih stanica, uz defekte u fagocitozi i baktericidnosti neutrofila.⁷ Stoga je teško prenatglašiti značaj isključenja oportunističkih infekcija – pozitivan nalaz bronhoalveolarnog lavata vrlo često promijeni dijagnozu DIILD.⁸

Rituksimab relativno rijetko uzrokuje plućnu toksičnost. U analizi 107 bolesnika s NHL-om koji su liječeni rituksimabom u kombinaciji s kemoterapijom, kod devetoro je nađen intersticijski pneumonitis. Medijan broja ciklusa rituksimaba je bio 2 prije kliničke manifestacije febriliteta s ili bez zaduhe i neproduktivnog kašlja. MSCT obradom su kod svih nađeni difuzni plućni intersticijski infiltrati, a liječeni su glukokortikoidima i antibioticima protiv atipičnih patogena. Osmoro je odgovorilo na terapiju glukokortikoidima, dok je jedan preminuo od sekundarne infekcije. Četvero bolesnika je ponovno

liječeno rituksimabom, a kod dvoje od njih je došlo do relapsa intersticijskog pneumonitisa⁹. Pri usporedbi bolesnika liječenih R-CHOP protokolom u odnosu na CHOP intersticijska pneumonija se javila kod 13 od 90 (14%), dok se intersticijska pneumonija nije pojavila kod 105 liječenih samo kemoterapijom po protokolu CHOP. Kod petoro je u sputumu bila pozitivna *Pneumocystis jirovecii* te kod dvoje *Candida albicans*. Liječeni su steroidima, sulfametoksazol-trimetoprimom i antifungicima.¹⁰

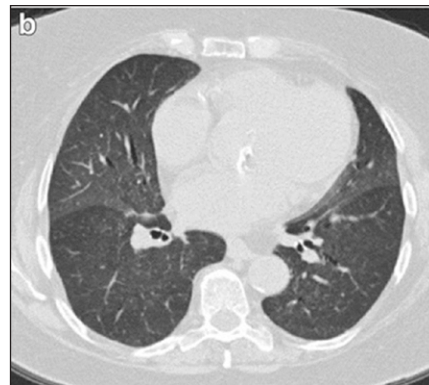
Anti-CD20 antibody therapy													
Rituximab													
1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d
1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d
1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d
1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d
Rituximab-CHOP regimen (R-CHOP)													
1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d

(www.pneumotox.com)

Plućna toksičnost rituksimaba se može manifestirati u obliku intersticijskog pneumonitisa i akutnog respiratornog sindroma distresa (ARDS) koji mogu biti ugrožavajući po život. Radiološki nalazi se mogu grupirati prema vremenskom nastupu na ARDS unutar nekoliko sati od početka inicijalne primjene rituksimaba, akutnu odnosno subakutnu organizirajuću pneumoniju unutar 2 tjedna od zadnje infuzije te na makronodularnu organizirajuću pneumoniju s postupnim nastankom.¹¹



Slika 1a. 48-godišnja bolesnica na terapiji održavanja rituksimabom: bilateralne promjene poput zrnatog stakla ukazuju na pneumonitis uzrokovan lijekom.¹²



Slika 1b. 84-godišnja bolesnica na terapiji rituksimabom: bilateralne simetrične homogene promjene poput zrnatog stakla ukazuju na hipersenzitivni pneumonitis.¹²



Slika 1c. 45-godišnji bolesnik na terapiji održavanja rituksimabom: peribronhalna zadebljanja ukazuju na bronhiolitis obliterans.¹²

Pneumonitis se rijetko javlja kod primjene ofatumumaba.¹³ Češće se javljaju reakcije na infuziju, zaduha i kašalj, bronhospazam i nelagoda u prsima kao česta nuspojava dok se rijetko javljaju plućni edem i hipoksija.¹⁴

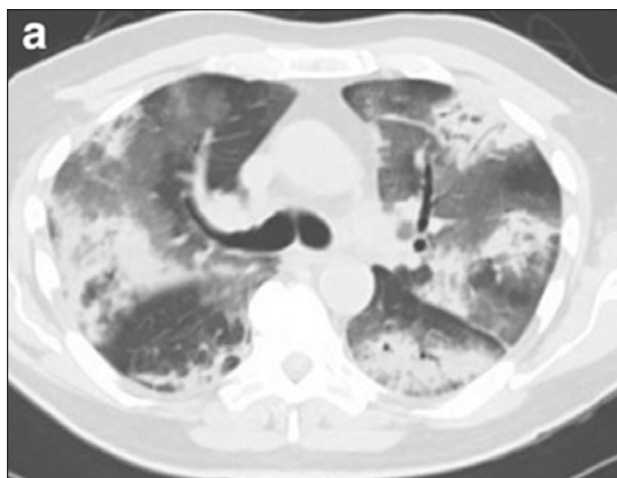
Anti-CD22 antibody therapy													
Ofatumumab													
1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d

Kod obinutuzumaba se u uputi proizvođača navodi kašalj kao vrlo česta nuspojava.¹⁵

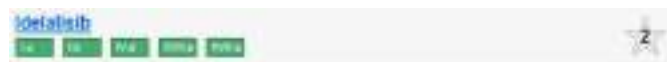
Anti-CD22 antibody therapy													
Obinutuzumab													
1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d	1d

Kod registracijskih studija idelalisiba javljala se pneumonija infektivnog i neinfektivnog uzroka kod 11 do 19% liječenih, od čega je 7 do 17% slučajeva bilo sa stupnjem 3 ili 4 težine pneumonije.^{16,17} Plućni edem i hipoksija rijetko se javljaju. Potrebno je prekinuti liječenje idelalisibom i obraditi bolesnika zbog mogućeg pneumonitisa kod novonastalog kašlja, zaduhe, febriliteta, hipoksije te pojave intersti-

cijskih infiltrata na Rtg obradi. Na CT-u se mogu vidjeti difuzna bilateralna zasjenjenja poput zrnatog stakla, konsolidacije, difuzni mikronoduli i pleuralni izljevi.¹⁸



Slika 2. 78-godišnja bolesnica na terapiji idelalisibom: bilateralna mrljasta područja konsolidacije ukazuju na pneumonitis.¹²



Pri primjeni ibrutiniba zabilježen je pneumonitis, koji se na CT očituje kao difuzna bilateralna zasjenjenja poput zrnatog stakla s ili bez konsolidacije.¹⁹ Također, povišen je rizik pneumonije uzrokovane s *Pneumocystis jirovecii* te invazivne aspergiloze.²⁰ Pneumonija uzrokovana s *Pneumocystis jirovecii* manifestira se interlobularnim septalnim zadebljanjem te difuznim zasjenjenja poput zrnatog stakla dominantnom u gornjim režnjevima.²¹ Invazivna plućna aspergiloza se prezentira nodulima s centralnom kavitacijom.²²



Uz venetoklaks se navode infekcije dišnog sustava vezane uz povećanu incidenciju infekcija gradusa >3 u studijama faze 2.²³ Venetoklaks se ne spominje na Pneumotox mrežnoj stranici.

Zaključno, oboljeli od KLL nerijetko imaju simptome vezane uz dišni sustav. U analizi centra u koji su upućeni oboljeli od KLL-a zbog simptoma u prsnoj koži nalazi se uz pneumonije značajan broj onih s neinfektivnim komplikacijama radi čega je potrebna detaljna obrada uz preporučljivo uzimanje uzoraka iz donjih dišnih puteva.²⁴

Pulmonary Symptoms (n = 409)	No. Symptoms (%)
Dyspnea	292 (71)
Cough	277 (68)
Sputum	137 (34)
Chest pain	86 (21)
Hemoptysis	9 (2)
Stridor	2 (1)
Fever	205 (50)

*Patients with fever also presented with 1 or more pulmonary symptoms.

Pulmonary Diagnoses (n = 409 Admissions)	No. Patients (%)
Pneumonia	257/409 (62.8)
No specific organism identified	142 (55.3)
Organism identified	115 (44.7)
Pneumonia	
Malignant (nonleukemic)	6 (4.6)
Leukemic	14 (10.9)
Bronchopulmonary leukemic infiltrate	24/409 (5.9)
Organizing pneumonia	4/409 (1.0)
Venous thromboembolism	16/409 (3.9)
Pulmonary leukostasis	4/409 (1.0)
Lung cancer	28/409 (6.9)
Richter transformation	14/409 (3.4)

Literatura:

- Livshits Z, Rao RB, Rao, Smit SW. An Approach to Chemotherapy-Associated Toxicity. *Emergency Medicine Clinics of North America*, 2014; 32:167-203.
- Skeoch S, Weatherley N, Swift AJ, Oldroyd A, Johns C, Hayton C, Giollo A, Wild JM, Waterton JC, Buch M, Linton K, Bruce IN, Leonard C, Bianchi S, Chaudhuri N. Drug-Induced Interstitial Lung Disease: A Systematic Review. *J Clin Med* 2018; 7(10): 356.
- Wadhwa PD, Morrison VA. Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol* 2006; 33(2):240-9.
- Aittoniemi J, Miettinen A, Laine S, Sinisalo M, Laippala P, Vilpo L, Vilpo J. Opsonising immunoglobulins and mannan-binding lectin in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 1999; 34(3-4):381-5.
- Morrison VA, Hibbs JR, Janoff EN. Systemic and mucosal immunoglobulin levels and risk of infection in patients with chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma. *Blood* 1996; 88:240a.
- Cole ME, MacFarlane A, Jillab M, Smith MR, Cohen AD, Campbell K. Immune Cell Dysfunction in Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma (CLL/SLL). *Blood* 2012; 120 (21): 3875.
- Haseeb M, Anwar MA, Choi S. Molecular Interactions Between Innate and Adaptive Immune Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia and Their Therapeutic Implications. *Front Immunol* 2018; 9:2720.

8. Solazzo A, Botta C, Nava F, Baisi A, Bonucchi D, Cappelli G. Interstitial Lung Disease After Kidney Transplantation and the Role of Everolimus. *Transplant Proc* 2016; 48(2):349-51.
9. Liu X, Hong XN, Gu YJ, Wang BY, Luo ZG, Cao J. Interstitial pneumonitis during rituximab-containing chemotherapy for non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2008; 49(9):1778.
10. Ennishi D, Terui Y, Yokoyama M, Mishima Y, Takahashi S, Takeuchi K, Ikeda K, Tanimoto M, Hatake K. Increased incidence of interstitial pneumonia by CHOP combined with rituximab. *Int J Hematol* 2008; 87(4):393.
11. Lioté H, Lioté F, Séroussi B, Mayaud C, Cadranel J. Rituximab-induced lung disease: A systematic literature review. *Eur Respir J* 2010; 35(3):681-7.
12. Gosangi B, Davids M, Somarouthu B, Alessandrino F, Giardino A, Ramaiya N, Krajewski K. Review of targeted therapy in chronic lymphocytic leukemia: what a radiologist needs to know about CT interpretation. *Cancer Imaging* 2018; 18(1):13.
13. Coiffier B, Lepage S, Pedersen LM, Gadeberg O, Fredriksen H, van Oers MH, Wooldridge J, Kloczko J, Holowiecki J, Hellmann A, Walewski J, Flensburg M, Petersen J, Robak T. Safety and efficacy of ofatumumab, a fully human monoclonal anti-CD20 antibody, in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: a phase 1-2 study. *Blood* 2008; 111(3):1094-100.
14. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/arzerra-epar-product-information_en.pdf
15. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/gazyvaro-epar-product-information_en.pdf
16. Gopal AK, Kahl BS, de Vos S, Wagner-Johnston ND, Schuster SJ, Jurczak WJ, Flinn IW, Flowers CR, Martin P, Viardot A, Blum KA, Goy AH, Davies AJ, Zinzani PL, Dreyling M, Johnson D, Miller LL, Holes L, Li D, Dansey RD, Godfrey WR, Salles GA. PI3K δ inhibition by idelalisib in patients with relapsed indolent lymphoma. *N Engl J Med* 2014; 370(11):1008-18.
17. Flinn IW, Kahl BS, Leonard JP, Furman RR, Brown JR, Byrd JC, Wagner-Johnston ND, Coutre SE, Benson DM, Peterman S, Cho Y, Webb HK, Johnson DM, Yu AS, Ulrich RG, Godfrey WR, Miller LL, Spurgeon SE. Idelalisib, a selective inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase- δ , as therapy for previously treated indolent non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2014; 123(22):3406-13.
18. Hausstraete E, Obert J, Diab S, Abbes S, Zini JM, Valade S, Lerolle N, Albin N, Arnulf B, Bouaziz JD, Hussenet C, Tazi A, Bergeron A. Idelalisib-related pneumonitis. *Eur Respir J* 2016; 47(4):1280-83.
19. Mato AR, Islam P, Daniel C, Strelec L, Kaye AH, Brooks S, Ganetsky A, Nasta S, Porter DL, Svoboda J, Nabhan C, Schuster SJ. Ibrutinib-induced pneumonitis in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016; 127(8):1064-67.
20. Ghez D, Calleja A, Protin C, Baron M, Ledoux MP, Damaj G, Dupont M, Dreyfus B, Ferrant E, Herbaux C, Laribi K, Le Calloch R, Malphettes M, Paul F, Souchet L, Truchan-Graczyk M, Delavigne K, Dartigeas C, Ysebaert L; French Innovative Leukemia Organization (FILO) CLL group. Early-onset invasive aspergillosis and other fungal infections in patients treated with ibrutinib. *Blood* 2018; 131(17):1955-59.
21. Bollée G, Sarfati C, Thiéry G, Bergeron A, de Miranda S, Menotti J, de Castro N, Tazi A, Schlemmer B, Azoulay E. Clinical picture of pneumocystis jiroveci pneumonia in cancer patients. *Chest* 2007; 132(4):1305-10.
22. Peri AM, Bisi L, Cappelletti A, Colella E, Verga L, Borella C, Foresti S, Migliorino GM, Gori A, Bandera A. Invasive aspergillosis with pulmonary and central nervous system involvement during ibrutinib therapy for relapsed chronic lymphocytic leukaemia: case report. *Clin Microbiol Infect*. 2018; 24(7):785-6.
23. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, Coutre S, Seymour JF, Munir T, Puvvada SD, Wendtner CM, Roberts AW, Jurczak W, Mulligan SP, Böttcher S, Mobasher M, Zhu M, Desai M, Chyla B, Verdugo M, Enschede SH, Cerri E, Humerickhouse R, Gordon G, Hallek M, Wierda WG. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2016; 17:768-78.
24. Khanijo S, Tandon P, Sison CP, Koenig S. Thoracic Complications in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017; 17(4):220-4.

Oralne manifestacije nemalighnih hematoloških bolesti

Marinka Mravak Stipetić^{1,2}, Maria Radman², Dražen Pulanić^{3,4}

¹ Stomatološki fakultet Sveučilista u Zagrebu

² Zavod za oralnu medicinu, Klinika za stomatologiju KBC Zagreb

³ Zavod za hematologiju Klinika za unutarnje bolesti KBC Zagreb

⁴ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Usna šupljina ogledalo je općeg zdravlja i gotovo da nema bolesti u organizmu koja se ne očituje određenim znakovima i simptomima u usnoj šupljini. Kako je usna šupljina dostupna izravnom pregledu, to joj daje osobit dijagnostički značaj u (ranom) otkrivanju i praćenju različitih sustavnih bolesti. Široki raspon hematoloških poremećaja ima također svoja oralna očitovanja koja mogu biti nespecifična, ali i patognomonična. Ona upozoravaju liječnika na razvoj, prisutnost ili progresiju hematološke bolesti u podlozi ili se očituju kao komplikacija njenog liječenja. Važnost prepoznavanja orofacijalnih manifestacija hematoloških bolesti leži u činjenici da upravo oralni znakovi i simptomi mogu biti prvi klinički znak bolesti koji upućuje na hematološki poremećaj u podlozi. Zbog toga je pregled usne šupljine sastavni dio dijagnostičkog protokola hematološkog bolesnika.

Nemaligne krvne bolesti obuhvaćaju skupinu različitih hematoloških poremećaja od rijetkih nasljednih bolesti poput hemoglobinopatija, hemofilije, drugih nasljednih koagulopatija do različitih stanja i bolesti kao što su anemije uslijed gubitka krvi, hemolize i narušene eritropoeze, neke neutropenije i različite trombocitopenije.¹

Među nemalighnim krvnim bolestima koje imaju rana očitovanja na sluznici usne šupljine su anemije, od kojih je najčešća, osobito u populaciji djece i žena, sideropenična anemija.

Sideropenična anemija nastaje zbog manjka željeza uslijed gubitka krvi, nedovoljnog unosa ili smanjene apsorpcije željeza ili povećane potrebe za željezom. Spektar kliničkih manifestacija je širok i ovisi o uzroku i trajanju sideropenije. Uz opće simptome bljedoću kože, umor, gubitak apetita i glavobolju, slabost i zaduhu te koilonihiju i neurološke poremećaje, među prvim znakovima sideropenične anemije u usnoj šupljini su bljedoća sluznice, žućkasta boja sluznice mekog nepca i atrofija jezičnih papila. Isprva se gubitak jezičnih papila pojavljuje u arealima praćenih eritemom pa sluznica dorzuma jezika izgleda kao zemljopisna karta i oponaša sliku ekfolijativnog migrirajućeg glositisa. Kako bolest

napreduje atrofija zahvaća cijelu površinu dorzuma jezika on postaje crven i gladak, razvija se slika atrofičnog glositisa, praćena simptomima spontanog pečenja, glosopirozom pa čak i bolovima jezika na iritaciju, glosodinijom (Slika 1).

Slika 1. Sideropenična anemija. Atrofični glossitis i angularni cheilitis.



Uz to pojavljuju se i promjene na usnicama koje se počinju ljuštiti u manjim ili većim krpicama i nastaje klinička slika ekfolijativnog *cheilitisa*. Zahvaćeni su i kutevi usana praćeni upalom, bolnim fisurama, ragadama i sekundarnom infekcijom gljivicama i bakterijama koja zahvaća i perioralnu kožu pa nastaje angularni i perioralni *cheilitis*. Tijekom sideropenije moguća je pojava aftoznih ulceracija, disfagije, poremećaja okusa i oralne kandidoze.²

Određene sustavne upalne, zloćudne, autoimunosne bolesti i infekcije imaju učinke na metabolizam željeza pa uzrokuju kroničnu anemiju (poznatu kao **anemija kronične bolesti**) i mogu djelovati na supresiju koštane srži kao npr. kod sistemskog eritematskog lupusa i drugih kroničnih upalnih stanja. U tim stanjima oralni znakovi i simptomi osnovne bolesti obično su izraženiji od onih uzrokovanih anemijom.

Plummer-Vinsonov ili Paterson-Kellyev sindrom. Sideropenična disfagija obilježje je ovog sindroma koji je opisan prvi puta 1919. godine. Sindrom obuhvaća specifičan trijas simptoma: mikrocitnu sideropeničnu anemiju, disfagiju i atrofični *glossitis*.

Često je prisutan i angularni *cheilitis* i *glossodynia*, a promjene su vidljive i na noktima koji poprimaju izgled žlice. Endoskopski vidljiva su suženja i oštećenja sluznice jednjaka koja imaju povećan rizik zloćudne promjene pa se ovaj sindrom ubraja u potencijalno zloćudne poremećaje. Opisana je pojava planocelularnog karcinoma gornjeg dijela gastrointestinalnog trakta u 3-15% slučajeva.^{4,5}

Megaloblastična anemija nastaje zbog nedostatka vitamina B12 i poremećaja sazrijevanja eritrocita uslijed malapsorpcije vitamina B12 i nedostatka unutarnjeg čimbenika u sklopu autoimunosne bolesti (perniciozna anemija), kirurške resekcije želuca ili ileuma ili drugih poremećaja tankog crijeva ili malnutricije. Bolesnici se obično žale na osjećaj pečenja i žarenja oralne sluznice i jezika, a simptom glosopiroze često je i najraniji znak ovog oblika anemije. Sluznica jezika postaje glatka bez papila eritematozna i vulnerabilna (tzv. magenta jezik), a nerijetko se vide i površinska oštećenja u vidu sitnih erozija (Slika 2. i Slika 2a.).

Slika 2. Megaloblastična anemija. Glossitis exfoliativa sa sitnim erozijama na sluznici dorzuma jezika.



Slika 2a. Perniciozna anemija. Glossitis exfoliativa.



Uz osjećaj žarenja sluznice bolesnici se često žale na poremećaj okusa i kserostomiju. S obzirom na slična klinička obilježja kao i u siderpeničnoj anemiji bolesnike je potrebno što ranije uputiti hematologu.⁶

Aplastična anemija je karakterizirana hipoplastičnom koštanom srži svih staničnih linija i posljedičnom perifernom pancitopenijom. Bolest može biti idiopatska (moguće autoimunosne prirode), sekundarna (zbog lijekova, radioterapije, kemikalija, virusa, sistemskog eritematoznog lupusa itd.) i, rijetko, kongenitalna (kongenitalna diskertoza i Fanconijeva anemija). Oralne manifestacije su česte i izravno povezane s pancitopenijom. Oralna sluznica je blijeda, s petehijama, ekhimozama i hematoma koji se pojavljuju na najmanju traumu. Gingiva krvari kod četkanja zubiju i spontano. Zbog neutropenije usna šupljina je podložna infekciji i pojavi ulceracija nalik aftama koje se mogu pojaviti bilo gdje na sluznici. Za ove ulceracije karakterističan je nepravilan rub oko kojeg izostaje upalna reakcija u vidu eritema što je posljedica neutropenije.⁷⁻⁹

Hemolitička anemija obuhvaća skupinu poremećaja koji nastaju zbog ekstrakorpuskularnih i intrakorpuskularnih oštećenja eritrocita. U hemoglobinopatije spadaju bolest srpastih stanica i talasemije koje su uzrokovane abnormalnostima u molekuli hemoglobina što uzrokuje hemolizu eritrocita.¹⁰

Neka su oralna obilježja zajednička svim hemolitičkim anemijama iako nisu specifična, a to su blijedo-žuta boja sluznice osobito mekog nepca, jezika i podjezične sluznice koja postaje sve izražajna kako raste koncentracija bilirubina u krvi kao posljedica hemolize eritrocita. Kako bi se kompenzirao gubitak eritrocita i anemija, dolazi do hiperplazije eritroidnih elemenata koštane srži i povećanja medularnog prostora čeljusnih kostiju. Te se promjene vide na ortopantomogramu kosti kao pojačana translucenost s izraženom laminom durom i smanjenim brojem trabekula koje su posložene u vertikalne redove pa izgledaju kao ljestve. Na kostima lubanje koštane promjene daju sliku „naježene kose“.¹¹

U *bolesti srpastih stanica* srpanje eritrocita uzrokuje hemolizu i stazu u kapilarnoj cirkulaciji s posljedičnim mikroinfarktima. Infarkti u čeljusnim kostima praćeni su bolovima i u odsutnosti bolesti zuba pa se bol može zamijeniti sa zuboboljom. Zbog hipovaskularne koštane srži nakon tromboze bolesnici s anemijom srpastih stanica sklone su osteomijelitisu. Uslijed prekida krvnog optoka opisana su oštećenja mentalnog živca i donjeg alveolarnog živca uz pojavu parestetičkih senzacija do potpune anestezije. Sluznica je blijedožute boje, zakašnje-

lo je nicanje zubi i usporen rast kostiju čeljusti što rezultira malokluzijom. Caklina zuba je hipomineralizirana što pogoduje ubrzanom razvoju karijesa. Unatoč promjenama na kostima zubi nisu posebno mobilni, a rezultati studija o povezanosti bolesti srpastih stanica s parodontitisom su oprečni.^{12,13}

Bolesnici s *talasemijom* imaju deformitete lica zbog usporenog razvoja čeljusnih kostiju i zuba koje se ne poklapa s kronološkom dobi, malokluziju i promjene na zubima koji uključuju promjene broja i diskoloraciju zuba zbog prekomjernog odlaganja željeza u dentin i caklinu.¹⁴

Abnormalnosti u položaju zuba, otvoreni zagriz, izražene jagodične kosti i sedlasti nos uz promjene na kostima čeljusti slične onima u bolesti srpastih stanica, licu daju karakterističan izgled „vrjevičje njuškice“.¹⁵

Oštećenja kranijalnih živaca opisana u talasemiji pripisuju se ekstramedularnoj eritropoezi koja pritišće na živce što izaziva simptome u rasponu od jake boli do paralize živca. Sluznica je blijedožute boje jezik je atrofičan. Uvećana je parotida i promijenjena razina fosfora i imunoglobulina A (IgA). Povećana incidencija karijesa u bolesnika s talasemijom u odnosu na anemiju srpastih stanica povezuje se sa smanjenom koncentracijom IgA u slini što omogućuje razvoj mikrobne infekcije. Istraživanja su pokazala da je u bolesnika s bolesti srpastih stanica koji imaju oralna infektivna žarištima (neliječene zube i parodontitis) značajno veća vjerojatnost nastanka krize i hospitalizacije u odnosu na bolesnike bez oralnih žarišta.¹⁶

Neutropenija. Neovisno o uzroku i tipu klinički znakovi i simptomi neutropenija su slični, a njihova težina izravno je povezana s težinom neutropenije. Bolesnici su općenito podložni sustavnim infekcijama. Uz opće simptome, oralne manifestacije su uobičajene i uključuju pojavu višestrukih ulkusa, bilo gdje na sluznici usne šupljine. Povećana je sklonost razvoju i napredovanju oralnih bakterijskih i gljivičnih infekcija, gingivitisa i parodontitisa kao i razvoju apscesa u području infektivnog žarišta (neliječeno zuba ili parodontnog džepa).

Poremećaji koagulacije utječu na hemostatsku sposobnost i očituju se ili hemoragijom ili trombozom. Stanja koja rezultiraju velikim krvarenjem uključuju prirodene nedostatke faktora VIII (hemofilija A), faktora IX (hemofilija B) i von Willebrandove bolesti (vWD), kao i trombocitopenična stanja. Sklonost krvarenju u bolesnika s hemofilijom i vWD-om očituje se spontanom krvarenjem iz gingive, pojavom petehija, ekhimoza i hematoma u

sluznici.¹⁰

Trombocitopenija se klinički očituje spontanom krvarenjem, petehijama, ekhimozama i hematoma na oralnoj sluznici, a nerijetko i hemoragičnim bulama uglavnom na nepcu, obraznoj sluznici i gingivi i mjestima koja su izložena iritaciji ili traumi tijekom mastikacije. Uobičajeni rani znak je krvarenje iz gingive (Slika 3.).

Slika 3. Trombocitopenija. Spontano krvarenje iz gingive.



Zaključak

Široki spektar nemalighnih hematoloških bolesti i poremećaja hemostaze imaju očitovanja u usnoj šupljini. Premda većina tih orofacijalnih manifestacija nije specifična, njihovo poznavanje ima dijagnostičku vrijednost za ranu dijagnozu i liječenje s obzirom na to da mogu biti prvi ili rani znak krvnog poremećaja. Zbog pravodobne dijagnoze hematološke bolesti kao i zbog sprječavanja komplikacija tijekom liječenja i uspješnog interdisciplinarnog liječenja hematološkog bolesnika važna je bliska suradnja liječnika dentalne medicine i kliničkog hematologa.

Literatura:

1. Adeyemo TA, Adeyemo WL, Adediran A, Akinbami AJ, Akanmu AS. Orofacial manifestations of hematological disorders: anemia and hemostatic disorders. *Indian J Dent Res.* 2011;22(3):454-461.
2. Gupta S, Gupta S, Swarup N, Sairam H, Sinha N, Nair SS. Orofacial Manifestations associated with Anemia. *World J Anemia.* 2017;1(2):44-47.
3. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med.* 2005;352:1011-23.
4. Samad A, Mohan N, Balaji RV, Augustine D, Patil SG. Oral manifestations of Plummer-Vinson syndrome: A classic report with literature review. *J Int Oral Health* 2015;7(3):68-71.

5. Novacek G. Plummer-Vinson syndrome. *Orphanet J Rare Dis.* 2006;1:36.
6. Oh R, Brown DL. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician.* 2003 Mar;67(5):979-986.
7. Sepulveda E, Brethauer U, Rojas J, Le Fort P. Oral manifestation of aplastic anemia in children. *J Am Dent Assoc.* 2006; 137: 474-478.
8. Brennan MT, Sankar V, Baccaglioni L, et al. Oral manifestations in patients with aplastic anemia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001; 92: 503-8.
9. Nirmala SVSG, Saikrishna D. Dental Considerations of Children with Anemias - An Overview. *J Dent & Oral Disord.* 2019; 5(2): 1113.
10. Boström EA, Lira-Junior R. Non-Malignant Blood Disorders and Their Impact on Oral Health: an Overview. *Current Oral Health Reports.* 2019 6:161-168.
11. Chekroun M, Cherifi H, Fournier B, Gaultier F, Sitbon IY, Ferre FC, et al. Oral manifestations of sickle cell disease. *Br Dent J.* 2019;226:27-31.
12. Brandao CF, Oliveira VMB, Santos A, da Silva TMM, Vilella VQC, Simas G, et al. Association between sickle cell disease and the oral health condition of children and adolescents. *BMC oral health.* 2018;18:169.
13. Taylor LB, Nowak AJ, Giller RH et al. sickle cell anemia: a review of the dental concerns and a retrospective study of dental and bony changes. *Spec Care Dentist.* 1995; 15: 38-42.
14. Hattab FN. Periodontal condition and orofacial changes in patients with thalassemia major: a clinical and radiographic overview. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;36:301-7.
15. Weel F, Jackson IT, Crookendale WA, McMichan J. A case of thalassaemia major with gross dental and jaw deformities. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 1987; 25: 348-52.
16. Laurence B, Haywood CJr, Lanzkron S. Dental infections increase the likelihood of hospital admissions among adult patients with sickle cell disease. *Community Dent Health.* 2013; 30:168-72.

Hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje stečene aplastične anemije u odraslih

Dražan Pulanić^{1,2}, Lana Desnica¹, Ana Boban^{1,2}, Slobodanka Ostojić Kolonić^{2,3}, Toni Valković⁴, Velka Gverić-Krečak⁵, Ranka Serventi Seiwerth¹, Radovan Vrhovac^{1,2}, Silva Zupančić Šalek^{1,6}, Rajko Kušec^{2,7}, Igor Aurer^{1,2}

¹Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC Zagreb

²Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

³Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KB Merkur

⁴Zavod za hematologiju Klinike za internu medicinu KBC Rijeka i Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

⁵Odjel za hematologiju, OB Šibenik

⁶Medicinski fakultet Osijek Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

⁷Zavod za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KB Dubrava

I. Uvod

Aplastična anemija (AA) je bolest koja zahvaća multipotentne matične krvotvorne stanice u koštanoj srži, zbog čega nastaje hipocelularna ili acelularna koštana srž što rezultira anemijom sa sniženim retikulocitima, granulocitopenijom, monocitopenijom i trombocitopenijom.^{1,2}

Aplastična anemija je općenito rijetka bolest s incidencijom od 2 do 5 oboljelih na milijun osoba na godinu.^{1,2} Većinom je AA stečena bolest, dok rijetko nastaje kao posljedica nasljednog poremećaja poput Fanconijeve anemije.

Nakon analize objavljenih radova, Radna skupina za benigne hematološke bolesti Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem izradila je zajedno s Hrvatskim hematološkim društvom Hrvatskog liječničkog zbora hrvatske smjernice za dijagnostiku i liječenje odraslih bolesnika sa stečenom AA.

II. Dijagnostička obrada

Stečena AA je najčešće idiopatska (70-80% slučajeva stečene AA) a može biti i sekundarna, uzrokovana virusnim infekcijama (virusni hepatitis, Epstein-Barrov virus (EBV), citomegalovirus (CMV), parvovirus B19, HIV), lijekovima, metaboličkim ili autoimunskim poremećajima. Pojava AA može biti povezana i s trudnoćom. U patofiziologiji stečene AA glavnu ulogu imaju autoreaktivni T limfociti aktivirani toksičnom noksom koji zatim suprimiraju ili uništavaju ishodišne matične krvotvorne stanice u koštanoj srži.¹⁻³

Stečena AA je po svojim karakteristikama normocitna, normokromna anemija, a može biti i makrocitna anemija. Perifernu krv uz anemiju karak-

terizira manjak ili nedostatak retikulocita, leukopenija uslijed granulocitopenije i monocitopenije, te trombocitopenija, a u perifernom razmazu nema nezrelih stanica.

Često se bolesnici sa stečenom AA jave liječniku zbog simptoma anemije ili krvarenja, dok su rjeđe infektivne inicijalne prezentacije bolesti. Ponekad se u bolesnikovoj anamnezi može otkriti podatak o prethodnoj citopeniji jedne loze, najčešće trombocitopeniji ili anemiji, te se ponekad bolesnik neuspješno liječio pod radnom dijagnozom imunosne trombocitopenije (ITP) koja nije reagirala na standardnu terapiju za ITP. Potrebno je ispitati podatke o uzimanju lijekova i kemikalija koje mogu uzrokovati hipoplaziju/aplaziju koštane srži, postojanje virusnih infekcija i eventualne autoimunosne bolesti poput sistemskog eritematoznog lupusa, kao i obiteljsku anamnezu. No, i kod ekstenzivne obrade i dalje većinom stečena AA ostaje bez utvrđenog osnovnog pokretača bolesti te se smatra idiopatskom AA.¹⁻⁵

Osnovna dijagnostička pretraga kod AA je biopsija koštane srži, u kojoj se nalazi izrazita hipoplazija koštane srži i zamjena krvotvornog tkiva masnim tkivom. *Teška* AA definira se značajnom hipocelularnošću koštane srži (celularnost koštane srži manja od 25%, ili celularnost koštane srži 25-50% s manje od 30% krvotvornih stanica) i citopenijom u perifernoj krvi s bar dva od sljedeća tri obilježja: a) manje od $20 \times 10^9/L$ retikulocita, b) manje od $0,5 \times 10^9/L$ neutrofilnih granulocita i c) manje od $20 \times 10^9/L$ trombocita. *Vrlo teška* AA ima manje od $0,2 \times 10^9/L$ neutrofilnih granulocita, uz ostale kriterije kao i *teška* AA. *Ne-teška* AA ne ispunjava kriterije za *tešku* niti *vrlo tešku* AA uz hipocelularnost koštane srži.¹⁻⁵

Diferencijalna dijagnoza AA uključuje ostale uzroke pancitopenije (mijelofibrozu, akutne leukemije, limfome, triholeukemiju, metastatski karcinom, tuberkulozu, deficit folne kiseline i/ili vitamina B12). Najveći diferencijalno-dijagnostički problem predstavlja hipocelularna mijelodisplazija (MDS), koju može biti teško, a nekad čak i nemoguće razlikovati od AA na temelju nalaza histologije i citologije. Stoga je uz patohistološku analizu bioptata koštane srži potrebno učiniti i citogenetsku analizu koštane srži i FISH za MDS (kako bi se utvrdile citogenetske promjene koje upućuju na MDS). U svih bolesnika s AA potrebno je protočnom citometrijom periferne krvi provjeriti postoji li klon paroksizmalne noćne hemoglobinurije (PNH) jer ga se može naći čak u 40 do 50% slučajeva.¹⁻³ S obzirom na povezanost PNH sa stečenom AA, detekcija PNH klona može biti korisna u diferencijalnoj dijagnozi stečene AA u odnosu na hipoplastični MDS, kao i u odnosu na nasljedne oblike zatajenja koštane srži.³ Mali PNH klon u AA obično ne pokazuje znakove hemolize, no veći PNH klonovi mogu biti klinički značajni uzrokujući hemolizu i povećavajući rizik nastanka tromboze.⁵

III. Liječenje aplastične anemije

U liječenju stečene AA treba ukloniti odnosno liječiti potencijalno reverzibilni uzrok aplazije. Terapija same AA ovisi o težini aplazije i citopenije te o dobi bolesnika. Blage oblike AA koji ne trebaju transfuzijsko liječenje moguće je samo opservirati. Neki od tih bolesnika mogu godinama imati stabilne vrijednosti krvne slike bez terapije.^{2,3} No, neki bolesnici s inicijalno blagom AA će vremenom produbiti citopeniju i hipoplaziju/aplaziju koštane srži i trebati liječenje.^{2,3} Za sve bolesnike je važna potporna terapija (transfuzijsko liječenje, profilaksa i liječenje infekcija). Stari bolesnici s ozbiljnim komorbiditetima nisu podobni za agresivnu terapiju (transplantaciju alogeničnih krvotvornih matičnih stanica (aloTKMS) ili intenzivnu imunosupresiju), već mogu imati zadovoljavajuću kvalitetu života samo uz potpurnu terapiju.^{2,3}

1. Potporna liječenje

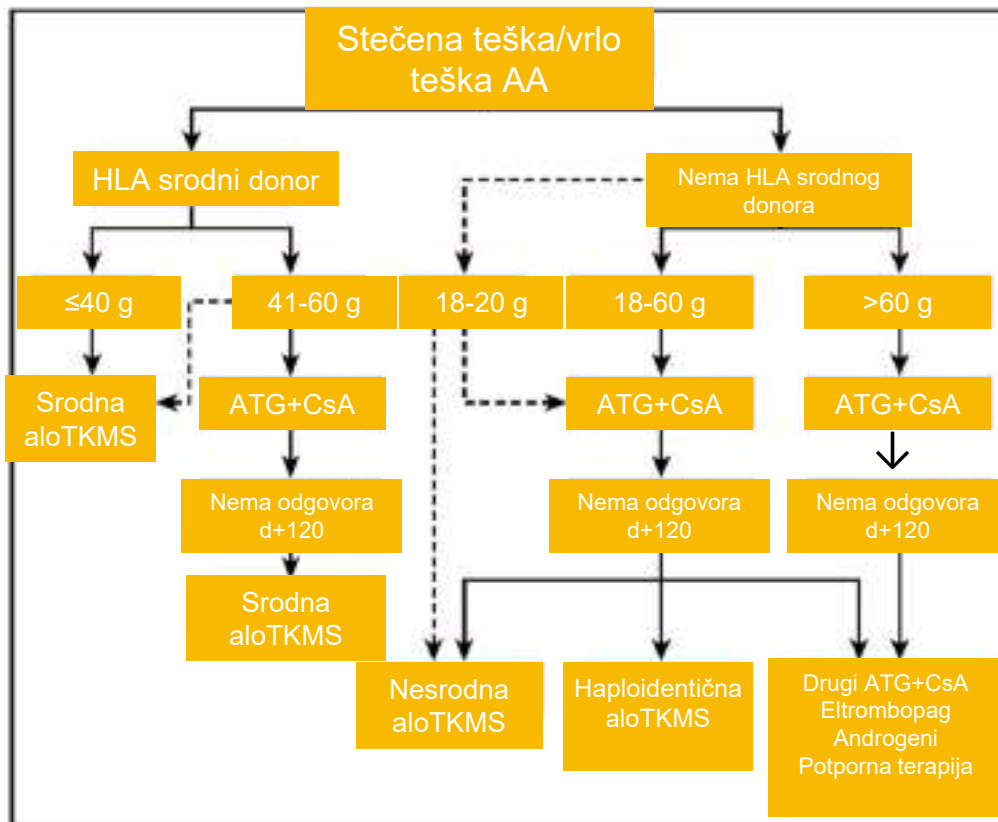
Transfuzije krvnih pripravaka u AA trebaju se primijenivati restriktivno, pogotovo ako se planira kurativno liječenje. Češće transfuzije nose rizik aloimunizacije i opterećenja željezom. Koncentrate eritrocita treba davati ako je hemoglobin manji od 70 g/L, odnosno ako bolesnik ima značajne anemijske simptome ili komorbiditete. Transfuzije koncentrata

trombocita treba primijeniti ako su trombociti manji od $10 \times 10^9/L$. Prije započinjanja terapije anti-timocitnim globulinom (ATG) i tijekom primanja ATG-a trombocite treba održavati višim od $20 \times 10^9/L$ s obzirom na to da može nastupiti pojačana potrošnja trombocita i značajno pogoršanje trombocitopenije tijekom primanja ATG-a. Održavanje trombocita iznad $20 \times 10^9/L$ se preporučuje i u slučaju sepse ili drugih povišenih rizika za krvarenje, a prilikom invazivnih postupaka se treba postići ciljna vrijednost trombocita ovisno o pojedinom invazivnom postupku. Zbog imunokompromitiranosti bolesnika i sklonosti aloimunizaciji, preporučuje se primjenjivati ozračene krvne pripravke ili pripravke sa smanjenim brojem leukocita. U bolesnika s teškom granulocitopenijom korisna je antifungalna profilaksa zbog visokog mortaliteta invazivnih gljivičnih infekcija, osobito onih koje izazivaju plijesni (najčešće iz roda *Aspergillus*). U razdoblju limfocitopenije nakon terapije ATG-om treba razmotriti profilaksu *Pneumocystis jirovecii* infekcije, vodeći računa da kotrimoksazol može pogoršati mijelosupresiju. Profilaksa kinolonima kod *vrlo teške* AA može smanjiti rizik gram negativne sepse. G-CSF ne poboljšava sveukupno preživljenje kada se doda imunosupresivnoj terapiji. Rutinska primjena G-CSF-a se ne preporučuje, već samo kod epizoda febrilne neutropenije. Antivirusna profilaksa aciklovirom preporučuje se tijekom i nakon primanja ATG-a. Terapiju kelatorima željeza u slučajevima preopterećenja željezom u AA treba razmotriti prema individualnom bolesniku, a kod preopterećenja željezom nakon uspješne imunosupresivne terapije ili nakon uspješne aloTKMS preporučuje se venepunkcija.^{4,5}

2. Transplantacija alogeničnih krvotvornih matičnih stanica (aloTKMS)

Najučinkovitija metoda liječenja *teške* i *vrlo teške* AA je aloTKMS. Transplantacija od HLA-identičnog srodnog donora kao prva linija liječenja standard je liječenja AA za bolesnike mlađe od 40 godina^{3,4}, a po nekim radovima i u nekim centrima i do 50 godina starosti.^{6,7} Za starije bolesnike aloTKMS je metoda izbora nakon neuspjeha liječenja imunosupresivnom terapijom (ako su podobni za takav način liječenja) (Slika 1.). Petogodišnje preživljenje nakon aloTKMS kao prve linije liječenja iznosi oko 80%, te doseže 90% u mlađih bolesnika.^{2-4,7-9}

Slika 1. Algoritam liječenja teške/vrlo teške stečene aplastične anemije u odraslih.



Prilagođeno prema Blood. 2017;129(11):1428-36.

Ishod liječenja *teške* i *vrlo teške* AA znatno se poboljšao u zadnjih desetljeća zbog poboljšanja svih aspekata potporne terapije i zbog uvođenja HLA tipizacije visoke rezolucije kod nesrodnih aloTKMS.⁶ Razlika u preživljenju između aloTKMS i liječenja imunosupresivnom terapijom polako se povećava u korist aloTKMS.

Mnoge studije su pokazale da se najbolji rezultati postižu ako se transplantacija izvede u prva dva mjeseca nakon dijagnoze AA. Zbog toga je potrebno što prije učiniti HLA tipizaciju bolesnika i njegove obitelji odnosno pokrenuti pretraživanje potencijalnog donora krvotvornih matičnih stanica ako je bolesnik podoban za takav oblik liječenja.^{2,4,6}

S bzirom na to da AA nije maligna bolest glavni cilj transplantacije je uspješna funkcija presatka bez pojave *bolesti presatka protiv primatelja* (eng. *Graft-versus-Host Disease*, GvHD), jer nije potreban tzv. *učinak presatka protiv tumora* (eng. *Graft-versus-Tumor*). Nažalost, odbacivanje transplantata ostaje i dalje veliki problem u ovoj populaciji bolesnika, pogotovo kod prethodno politransfundiranih osoba zbog čega je iznimno bitna limfo- i imuno-ablativna komponenta kondicioniranja.⁷ Standardni protokol kondicioniranja kod srodnih transplantacija u mlađih bolesnika sastoji se od primjene ciklofosfamida 200 mg/kg i ATG-a.¹⁰ Kod starijih bolesnika treba-

ju se primjenjivati protokoli smanjenog intenziteta koji uključuju fludarabin i manje doze ciklofosfamida u kombinaciji s ATG-om ili alemtuzumabom. Alemtuzumab u ukupnoj dozi 0,75–1 mg/kg postiže značajnu T-staničnu depleciju uz dobro primanje presatka i prevenciju GvHD-a. Međutim, posljedice mogu biti značajne infektivne komplikacije kao što je viša stopa CMV reaktivacije i teži slučajevi EBV i adenovirusne infekcije. Trenutne preporuke za kondicioniranje su ciklofosamid u dozi od 50-100 mg/kg (ukupna doza), zračenje cijelog tijela između 2 i 4 Gy i fludarabin 100-150 mg/m².⁶

Krvotvorne matične stanice *koštane srži* trebale bi se uvijek koristiti kod aloTKMS u AA, jer je primjena *perifernih* matičnih stanica povezana s većom incidencijom kroničnog GvHD-a.¹¹ Najmanja doza iznosi 3x10⁸ mononuklearnih stanica po kilogramu tjelesne težine, a 2x10⁶ CD34+ stanica kao najmanja doza povećava rizik odbacivanja transplantata.⁷ Za nesrodne transplantacije također matične stanice *koštane srži* imaju prednost u preživljenju u odnosu na matične stanice periferne krvi^{12,13} a u objavljenoj EBMT studiji transplantacija perifernih matičnih krvotvornih stanica je bila najjači negativni čimbenik za preživljenje u multivarijantnim analizama.¹²

Idealni nesrodni donor matičnih krvotvornih stanica je muškarac, mlađi od 30 godina, HLA podu-

darani na lokusima A, B, C, DRB1, te podudarnog CMV statusa s primateljem. Mlađi bolesnici koji nemaju HLA podudarnog nesrodnog donora i kod kojih je neuspjela barem jedna linija imunosupresivne terapije ili su odbacili transplantat kandidati su za haploidentičnu transplantaciju (Slika 1.). U literaturi se uglavnom opisuju male serije bolesnika s različitim protokolima kondicioniranja koji uključuju poslijetransplantacijski ciklofosamid.²⁻⁵ AloTKMS kao modalitet liječenja za *tešku* i *vrlo tešku* AA uvijek mora uključivati *in vivo* T-staničnu depleciju neovisno o dobi, tipu donora ili izvoru matičnih stanica. Čini se da kuničji ATG bolje štiti od GvHD-a nego konjski ATG.¹⁴ Alemtuzumab, također lijek za *in vivo* T-staničnu depleciju, pokazuje jednaki, ako ne i bolji učinak u prevenciji akutnog i kroničnog GvHD-a u usporedbi s ATG-om u aloTKMS za *tešku* AA.¹⁵ Odgovarajuća imunosupresija nakon aloTKMS potrebna je ne samo zbog prevencije GvHD-a već kako bi se osigurala i adekvatna supresija domaćina i spriječilo odbacivanje transplantata.⁷ Kombinacija ciklosporina i pulsniha doza metotreksata smatra se standardnom poslijetransplantacijskom imunosupresijom.^{2-4,7}

3. Imunosupresivna terapija

Imunosupresivna terapija konjskim ATG-om i ciklosporinom je metoda izbora za liječenje *ne-teške* AA koju treba liječiti (ovisnost o transfuzijama, krvarenja, infekcije, životni stil), *teške* i *vrlo teške* AA u bolesnika bez srodnog HLA podudarnog donora matičnih krvotvornih stanica i za bolesnike starije od 40 godina s HLA podudarnim srodnikom (Slika 1.).²⁻⁵ Njome se postiže hematološki oporavak u 50-70% bolesnika. Bolesnici koji odgovore na imunosupresivnu terapiju imaju dobro dugotrajno preživljavanje.²⁻⁴ U bolesnika starijih od 60 godina potrebno je pažljivo procijeniti komorbiditete i opće stanje prije razmatranja primjene ATG-a, s obzirom na to da stariji od 60 godina imaju povišeni mortalitet zbog infekcije i krvarenja nakon primanja ATG-a.⁵

Prospektivna randomizirana studija pokazala je da konjski ATG u usporedbi s kuničjim ATG-om dovodi do boljeg odgovora na liječenja (68% vs 37% nakon 6 mjeseci) i preživljenja (96% vs 76% nakon 3 godine), što se objašnjava povećanom toksičnošću kuničjeg ATG-a koji ima jači imunosupresivni učinak.³

Dodatak ciklosporina poboljšava učinak ATG-a. Stoga je konjski ATG u kombinaciji s ciklosporinom prva linija imunosupresivne terapije. Postoji više shema primanja i doziranja konjskog ATG-a (40 mg/kg dnevno kroz 4 dana, ili 10-20 mg/kg dnevno

kroz 8 - 14 dana), a primjenjuje se kao intravenska infuzija tijekom 12-18h kroz središnji venski kateter. Obvezna je premedikacija metilprednizolonom 1 mg/kg, paracetamolom i antihistaminicima te održavanje vrijednosti trombocita iznad $20 \times 10^9/L$, kako je već ranije navedeno. Dobro je ne započinjati terapiju ATG-om u kasnijim poslijepodnevnim satima ili vikendom kada je prisutno manje medicinskog osoblja, s obzirom na moguće rane nuspojave (anafilaksa, vrućica, osip, retencija tekućine, hipo/hipertenzija...). Kortikosteroidi se nastavljaju nekoliko tjedana nakon završetka primanja ATG-a (prednizon u dozi od 1 mg/kg/dan kroz 2 tjedna, a zatim s brzim snižavanjem doze tijekom iduća 2 tjedna) radi prevencije serumske bolesti. Također, postoji više shema primanja i doziranja ciklosporina uz ATG. Načelno se preporučuje započeti ciklosporin kada se smanji doza prednizona, inicijalno u dozi od 5 mg/kg/dnevno. Bez obzira za koju se shemu odlučili, potrebno je pratiti tlak i bubrežnu funkciju i održavati koncentraciju ciklosporina u krvi između 100 i 200 $\mu g/L$.⁵ Preporučuje se da bolesnici primaju ciklosporin kroz 12 mjeseci (minimalno 6 mjeseci) nakon primanja ATG-a, a zatim je potrebno vrlo postupno snižavati dozu (snižavati dozu za 25 mg svaka 2-3 mjeseca) kako bi se smanjio rizik kasnog relapsa.^{3,5} Pojedini bolesnici moraju primati ciklosporin dugo godina ili doživotno.

Odgovor na imunosupresivnu terapiju je obično odgođen i može se očekivati prosječno nakon 3-4 mjeseca od primanja ATG-a sa stopom odgovora oko 70% nakon 6 mjeseci.⁵ Relaps nakon ATG-a nastaje u oko 35% bolesnika koji su inicijalno odgovorili na terapiju, a tu je i rizik od kasnije klonalne evolucije u MDS/akutnu leukemiju (u oko 15% bolesnika).^{3,5}

U slučaju da nije postignut odgovor na imunosupresivnu terapiju ili ako nastane relaps AA nakon imunosupresivne terapije postoji nekoliko terapijskih opcija. Prikladnim bolesnicima može se ponuditi aloTKMS (Slika 1.). Ako bolesnik nije prikladan za takav način liječenja, treba razmotriti primjenu kuničjeg ATG-a kao drugi ciklus terapije ATG-om.⁵ Alternativno, dolazi u obzir i ponavljanje konjskog ATG-a, što može biti povezano s više neposrednih i kasnih (serumska bolest) nuspojava, dok primjena kuničjeg ATG-a uzrokuje dublju i dugotrajniju limfocitopeniju s povišenim rizikom infekcija.⁵ Općenito je u većini studija odgovor na drugo primanje ATG-a oko 35% za inicijalno refraktornu AA, te 55-60% za relapsnu AA.⁵

Nova terapijska opcija u liječenju AA je eltrombopag.

4. Eltrombopag u liječenju aplastične anemije

Eltrombopag je peroralni agonist trombopoetinskih receptora kojim se liječi ITP. Novija istraživanja su pokazala da je učinkovit i u liječenju *teške* AA.^{16,17} Eltrombopag potiče krvotvorni odgovor u sve tri loze u bolesnika s refraktornom *teškom* AA.¹⁶ Veže se za trombopoetinski receptor c-MPL izražen na krvotvornim matičnim stanicama dovodeći do njihove proliferacije i ekspanzije, a moguće ima i imunomodulatorne učinke. Rezultati kliničke studije faze II u bolesnika s refraktornom *teškom* AA pokazali su odgovor u 40% bolesnika,^{16,17} što je dovelo do odobrenja eltrombopaga kao monoterapije u relapsnim-refraktornim *teškim* AA u SAD-u (FDA) i Europi (EMA). Druga studija je pokazala poboljšanu stopu odgovora u usporedbi s povijesnom kontrolom kada se eltrombopag kombinirao sa standardnom imunosupresijom ciklosporinom i ATG-om.¹⁸ U tijeku je nekoliko kliničkih studija koje ispituju eltrombopag kao prvu liniju liječenja.

Eltrombopag je prema odobrenom sažetku opisa svojstva lijeka indiciran u odraslih bolesnika sa stečenom *teškom* AA koji su ili refraktorni na prethodnu imunosupresivnu terapiju ili jako pretiretiran i neprikladni za transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica.¹⁹

Doziranje eltrombopaga u AA je drukčije nego li u ITP-u, s većom dnevnom dozom lijeka i dužim vremenom do kada trebamo procijeniti učinkovitost terapije u odnosu na primjenu lijeka u ITP-u.¹⁹ Liječenje se ne smije započinjati u bolesnika s postojećim citogenetskim abnormalnostima na kromosomu 7. Liječenje eltrombopagom u AA potrebno je započeti dozom od 50 mg jednom dnevno (za bolesnike azijskog podrijetla 25 mg/dan). Hematološki odgovor zahtijeva titraciju doze, općenito do 150 mg na dan, i može potrajati do 16 tjedana nakon početka primjene eltrombopaga. Dozu eltrombopaga potrebno je prilagoditi povećavajući je prema potrebi za po 50 mg svaka 2 tjedna kako bi se postigla ciljana vrijednost broja trombocita $\geq 50 \times 10^9/L$. (Bolesnici koji uzimaju 25 mg jednom dnevno, potrebno je povećati dozu na 50 mg dnevno prije povećavanja doze za 50 mg.) Ne smije se prekoračiti doza od 150 mg eltrombopaga dnevno. Klinički hematološki i jetreni testovi trebaju se redovito pratiti tijekom cijelog liječenja eltrombopagom i korigirati režim njegova doziranja prema broju trombocita.¹⁹ Kod bolesnika koji postignu odgovor u sve tri loze (uključujući transfuzijsku neovisnost), koji traje najmanje 8 tjedana, doza eltrombopaga može se smanjiti za 50%. Ako krvna slika ostane stabilna i nakon

8 tjedana na smanjenoj dozi, treba prekinuti liječenje eltrombopagom i pratiti krvnu sliku. Ako se broj trombocita snizi na $<30 \times 10^9/L$, hemoglobin na $<90 \text{ g/L}$ ili neutrofilni granulociti na $<0,5 \times 10^9/L$, liječenje eltrombopagom može biti ponovo započeto prethodnom učinkovitom dozom. Ako se nije pojavio hematološki odgovor nakon 16 tjedana terapije eltrombopagom, potrebno je prekinuti terapiju. Ako se uoče nove citogenetske abnormalnosti, treba se procijeniti je li primjeren nastavak liječenja eltrombopagom. Odgovori s prekomjernim brojem trombocita ili značajne abnormalnosti jetrenih testova također zahtijevaju prekid primjene eltrombopaga.¹⁹

Istraživanja koja ispituju uporabu eltrombopaga u liječenju AA izvan kliničkih studija opisuju kako se lijek u svakodnevnom kliničkom radu primjenjuje i češće izvan odobrene FDA/EMA indikacije.^{20,21} Primjerice, u radu koji je opisao uporabu eltrombopaga u Europi izvan kliničkih studija, 71,1% bolesnika s AA primalo je lijek ili kao prvu liniju terapije ili kao dio kombinirane terapije s drugim lijekovima neovisno o broju terapijskih linija.²¹ Također, i hematolozi u Hrvatskoj imaju već iskustva u liječenju *teške* AA eltrombopagom.²² No još uvijek postoje nepoznanice – optimalno korištenje lijeka, potreba za istovremenom imunosupresivnom terapijom, prediktori odgovora ili relapsa, a i dalje je potreban određeni oprez zbog moguće klonalne evolucije i transformacije u mijelodisplaziju uz primanje eltrombopaga.²¹

5. Drugi lijekovi u liječenju stečene AA

Upotreba mikofenolat mofetila, sirolimusa, kortikosteroida i ciklofosfamida se ne preporučuje u liječenju AA.⁵ Kortikosteroidi su manje učinkoviti, a značajno toksičniji u odnosu na konvencionalnu imunosupresiju.²³ U bolesnika s relapsnom AA može se pokušati samo s ponovnim uvođenjem ciklosporina (ili s povećanjem doze ciklosporina u odnosu na ranije ako je relaps nastupio uz reducirano primanje ciklosporina) pa procijeniti odgovor nakon 2-3 mjeseca.²³ Također se može razmotriti primanje alemtuzumaba u refraktornoj/relapsnoj AA.^{5,23,24} U bolesnika starijih od 60 godina treba individualno razmotriti pojedinog bolesnika, komorbiditete i opće stanje. Ako se procijeni da bolesnik nije prikladan za agresivnije liječenje može se pokušati samo s monoterapijom ciklosporinom⁵, ili, razmotriti primjena eltrombopaga. Anegdotalna iskustva ukazuju da su pojedini bolesnici imali odličan odgovor na primanje samo ciklosporina. Androgeni se također mogu razmotriti u liječenju AA u starih i fragilnih

bolesnika, poput danazola, s opreznim praćenjem mogućih nuspojava.^{3,5,23,24}

IV. Zaključak

Napretkom novih metoda aloTKMS-a, imunosupresivne terapije i novih lijekova danas se bilježi dramatičan napredak u liječenju AA, no i dalje je AA teška bolest sa složenom dijagnostikom i liječenjem. Bolesnici s *teškom* i *vrlo teškom* AA trebali bi se liječiti u iskusnim hematološkim centrima, po mogućnosti u sklopu kliničkih studija. Ove smjernice će se svakako redovito obnavljati i dopunjavati ovisno o novim saznanjima, i nadamo se da će biti pomoć kliničaru u potrebnoj dijagnostici i odabiru optimalnog liječenja pojedinog odraslog bolesnika sa stečenom AA.

Literatura:

- Pulanić D, Včev A. Aplastična anemija i paroksizmalna noćna hemoglobinurija. U: Anemija – jedna od najčešćih bolesti ili znakova bolesti u medicini. Pulanić D, Včev A. (ur.). Osijek: Medicinski fakultet Osijek Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Studio HS internet d.o.o., 2014, str. 67-71.
- Pulanić D, Desnica L. Aplastična anemija – dijagnostika i liječenje te složene bolesti. *Medix*. 2019;136/137:151-155.
- Bacigalupo A. How I treat aplastic anaemia. *Blood*. 2017;129(11):1428-1436.
- Desnica L. Aplastična anemija – liječenje. *Bilten Krohema*. 2019;11(2):24-28.
- Killick SB, Bown N, Cavenagh J, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2016;172(2):187-207.
- Meyers G, Maziarz RT. Is it time for a change? The case for early application of unrelated allo-SCT for severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*. 2010;45(10):1479-88.
- M Aljurf, H Al-Zahrani, MT Van Lint, JR Passweg. Standard treatment of acquired SAA in adult patients 18–40 years old with an HLA-identical sibling donor. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48:178–9.
- Armand P, Antin J. Allogeneic stem cell transplantation for aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13:505–16.
- Gupta V, Eapen M, Brazauskas R, et al. Impact of age on outcomes after bone marrow transplantation for acquired aplastic anemia using HLA-matched sibling donors. *Haematologica*. 2010;95(12):2119-25.
- Storb R, Etzioni R, Anasetti C, et al. Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia. *Blood*. 1994;84(3):941-949.
- Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, et al. Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood*. 2007;110(4):1397-400.
- Bacigalupo A, Socié G, Hamladji RM, Aljurf M. Current outcome of HLA identical sibling versus unrelated donor transplants in severe aplastic anemia: an EBMT analysis. *Haematologica*. 2015;100(5):696-702.
- Eapen M, Le Rademacher J, Antin JH, et al. Effect of stem cell source on outcomes after unrelated donor transplantation in severe aplastic anemia. *Blood*. 2011;118(9):2618-21.
- Bacigalupo A. Antithymocyte Globulin and Transplants for Aplastic Anemia. *Haematologica*. 2017;102:1137-8.
- Marsh JC, Gupta V, Lim Z, et al. Alemtuzumab with fludarabine and cyclophosphamide reduces chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation for acquired aplastic anemia. *Blood*. 2011;118(8):2351-2357.
- Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, et al. Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug. *Blood*. 2014;123(12):1818–25.
- Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR, et al. Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2012;367(1):11–19.
- Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, et al. Eltrombopag added to standard immunosuppression for aplastic anemia. *N Engl J Med*. 2017;376(16):1540–50.
- Sažetak opisa svojstava lijeka Revolade, posljednji odobreni sažetak. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/revolade-epar-product-information_hr.pdf (Pristupljeno 19.4.2020.)
- Hwang Y-Y, Gill H, Chan T, et al. Eltrombopag in the management of aplastic anaemia: real-world experience in a non-trial setting. *Hematology*. 2018;23(7):399–404.
- Ecsedi M, Lengline É, Knol-Bout C, et al. Use of eltrombopag in aplastic anemia in Europe. *Ann Hematol*. 2019 Mar 26. doi: 10.1007/s00277-019-03652-8.
- Pulanić D, Boban A, Vodanović M, et al. Eltrombopag for the treatment of aplastic anemia – Croatian experience. *HemaSphere*. 2018;2 (S1): p 1–1113.
- Scheinberg P, Young NS. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood*. 2012;120(6):1185-96.
- Peslak SA, Olson T, Babushok DV. Diagnosis and Treatment of Aplastic Anemia. *Curr Treat Options Oncol*. 2017;18(12):70.

Definicije bolesti i kriteriji za praćenje terapijskog odgovora autoimunskih hemolitičkih anemija

Mirela Raos¹, Dražen Pulanić^{2,3}

¹Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb

²Zavod za hematologiju, Klinika za unutarnje bolesti, KBC Zagreb

³Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Preporuke za dijagnostiku i praćenje terapijskog učinka autoimunskih hemolitičkih anemija (AIHA) temelje se na nacionalnim smjernicama i iskustvu eksperata.^{1,2} Točna dijagnostika je vrlo važna budući da klinička slika, tijek bolesti i liječenje ovise o vrsti autoprotutijela, i neophodna je kvantitativna procjena učinka liječenja i ishoda bolesti.

U studenom 2017. godine u Beču utemeljena je skupina međunarodnih eksperata s velikim znanstvenim i kliničkim iskustvom (First International Consensus Group) u svrhu pregleda publiciranih znanstvenih radova o AIHA-ma, osiguranja međunarodnih preporuka za dijagnostiku i liječenje AIHA-e, utvrđivanja standardiziranih kriterija za dijagnostiku i praćenje ishoda bolesti koji će služiti kao okvir za buduća klinička ispitivanja, pregled novih terapijskih pristupa.³ Godine 2019. predložene su definicije bolesti (Tablica 1.) i kriteriji za praćenje terapijskog odgovora AIHA (Tablica 2.), što ukratko prikazujemo u ovom prilogu.³

Osnovni test za dijagnostiku AIHA-e je direktni antiglobulinski test (DAT) kojim se primjenom polispecifičnog antihumanog gamaglobulina otkrivaju na eritrocite vezana IgG protutijela i/ili aktivirane komponente komplementa. Primjenom monospecifičnog antihumanog gamaglobulina otkrivaju se na eritrocite vezani IgG, IgM, IgA i C3d/C3c komponente komplementa. Nužno je naglasiti da negativan DAT ne isključuje AIHA-u ako su prisutni znakovi hemolize, a isključeni su ostali mogući uzroci hemolize.⁴ Jednako tako, treba imati na umu da DAT nije specifičan test za AIHA-u te može biti lažno pozitivan usljed nekih stanja i bolesti (maligne bolesti, autoimunosne bolesti, infekcije, bolesti jetre i bubrega), kao posljedica liječenja imunoglobulinima (intravenski gamaglobulini, Rh imuni gamaglobulini, antitimocitni globulini), a može se raditi i o aloprotutijelima u nedavno transfundiranih bolesnika kod odgođene hemolitičke transfuzijske reakcije (engl. Delayed Haemolytic Transfusion Reaction, DHTR), u bolesnika nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica zbog prenešenih limfocita darivatelja (engl. Lymphocyte Passinger Syndrome, LPS)

i u novorođenčadi kod hemolitičke bolesti novorođenčadi (eng. Haemolytic Disease of the Newborn, HDN).⁵

Indirektnim antiglobulinski testom (IAT) otkrivaju se slobodna antieritrocitna protutijela. Tim testom se otkrivaju IgG protutijela koja uzorkuju toplu AIHA-u. U otprilike jedne trećine bolesnika uz autoprotutijela, prisutna su i aloprotutijela, koja ako ostanu neotkrivena, mogu uzrokovati hemolitičku transfuzijsku reakciju.⁶ Specifičnim i vrlo kompleksnim metodama imunohematološkog ispitivanja, posebice metodama adsorpcije i genskim testiranjem eritocitnih sustava krvnih grupa, moguće je razlikovati prisutna aloprotutijela od autoprotutijela.

Uz DAT i IAT, u dijagnostici hladnih AIHA-a, primjenjuju se i ostali dijagnostički testovi, kao što su titar i temperaturni raspon protutijela za dijagnostiku bolesti hladnih aglutinina (engl. Cold Agglutinin Disease, CAD) i miješanu AIHA-u, te za dijagnostiku paroksizmalne hladne hemoglobinurije (engl. Paroxysmal Cold Hemoglobinuria, PCH) Donath-Landsteinerov test.

Nadalje, dijagnostika AIHA-e obuhvaća periferni razmaz krvi, biokemijske pokazatelje hemolize, krvnu sliku, u kojoj je uz snižene vrijednosti hemoglobina najčešće povišen broj retikulocita kao znak povećanog stvaranja eritrocita u koštanoj srži. Broj retikulocita može biti snižen u stanjima iscrpljenog kapaciteta koštane srži (npr. infekcije, nakon kemoterapije). S obzirom na to da AIHA može biti sekundarna bolest, potrebno je utvrditi podležeća stanja i bolesti.

Tablica 1. Definicije bolesti u AIHA.

Hemolitička anemija	Anemija zbog skraćenog životnog vijeka eritrocita usljed njihove povećane razgradnje. Uz odgovarajuću kliničku sliku, može se definirati porastom laktat dehidrogenaze i smanjenjem haptoglobina u odnosu na normalne referente vrijednosti.
Intra ili ekstravaskularna hemoliza	Razgradnja eritrocita može biti intravaskularna ako se odvija unutar krvnih žila ili ekstravaskularna ako se odvija posredovana mononuklearnim fagocitima u slezeni ili jetri.

AIHA	Hemolitička anemija uzrokovana razgradnjom eritrocita djelovanjem autoprotutijela usmjerenih na eritrocitne antigene.
Dijagnostički kriteriji za AIHA	Hemoliza praćena pozitivnim DAT-om uz isključivanje ostalih uzorka poput npr. odgođene hemolitičke transfuzijske reakcije.
DAT negativna AIHA	DAT negativna AIHA uzrokovana drugim, a ne IgG protutijelima ili protutijelima u razini nedetektibilnosti testova. Dijagnozu treba postaviti kod jasne hemolize, nakon isključenja drugih nasljednih i stečenih uzorka hemolize, uz pomoć osjetljivijih testova u referalnom laboratoriju ili ako postoji jasan odgovor na kortikosteroidnu terapiju.
Teška AIHA	AIHA se smatra teškom kod vrijednosti hemoglobina <80 g/L bez transfuzijske podrške i kod potrebe za transfuzijom u razdoblju ≤7 dana. Karakterizirana je teškom kliničkom slikom anemije i nestabilnom vrijednosti hemoglobina.
Primarna vs. sekundarna AIHA	AIHA se smatra primarnom u odsustvu podležće bolesti ili sekundarnom, kada je ona prisutna. Lijekovima uzrokovana imunosna hemolitička anemija je posebna kategorija sekundarne imunosne hemolize.
Topla AIHA	Dijagnosticirana je kod bolesnika koji nemaju simptome povezane s hladnoćom, s pozitivnim DAT-om za IgG, rijetko IgA, ili C3d±IgG uz isključenje klinički značajnih hladnih reaktivnih protutijela.
Bolest hladnih aglutinina	AIHA s DAT-om jako pozitivnim za C3d (i negativnim ili slabo pozitivnim za IgG) i hladnim protutijelima u titru ≥64 na 4°C. Mogući su poneki slučajevi s titrom hladnih protutijela <64. Bolesnici mogu imati B-stanični klonalni proliferativni poremećaj dokazan u krvi ili koštanoj srži, bez kliničkog ili radiološkog dokaza maligne bolesti.
Sindrom hladnih aglutinina	AIHA s jako pozitivnim DAT-om za C3d (i negativnim ili slabo pozitivnim za IgG) i hladnim protutijelima u titru ≥64 na 4°C. Bolesnici imaju podležća stanja ili bolesti, kao npr. infekcije, autoimunosne bolesti, B-stanični limfom (klinički ili radiološki dokazan) ili drugu zloćudnu bolest.
Paroksizmalna hladna hemoglobinurija	Dijagnosticirana je kod bolesnika s hemolizom i pozitivnim Donath-Landsteinerovim testom.
Miješana AIHA	Dijagnosticirana je kod bolesnika s pozitivnim DAT-om za C3d i IgG, hladnim protutijelom temperaturnog raspona ≥30 °C i dokazom toplih IgG autoprotutijela u IAT-u ili eluatu.
Faza bolesti	Termin bolesti akutno/kronično se uobičajeno ne primjenjuje kod AIHA i trenutno nema dovoljno dokaza o razlikama u biologiji bolesti ili odgovoru na liječenje koji bi opravdao tu primjenu.

AIHA = autoimunosna hemolitička anemija,

DAT = direktni antiglobulinski test,

IAT = indirektni antiglobulinski test

Tablica 2. Kriteriji za praćenje terapijskog odgovora.

Definicije odgovora	Kompletni odgovor: Normalizacija hemoglobina, bez dokaza hemolize (normalni bilirubin, LDH, haptoglobin i retikulociti), bez primanja transfuzije. Za bolest hladnih aglutinina, dodatni kriteriji potpunog odgovora uključuju nestanak akrocijanoze, nestanak klonalnih B stanica i nestanak klonalnog IgM. Odgovor: Porast hemoglobin za > 20 g/L ili normalizacija hemoglobina bez biokemijske rezolucije hemolize, te bez primanja transfuzije zadnjih 7 dana. Bez odgovora: Neuspjeh postizanja odgovora.
Trajanje odgovora	Mjereno od postizanja potpunog odgovora ili odgovora do gubitka potpunog odgovora ili odgovora.
Remisija	Mjereno od postizanja potpunog odgovora bez primanja bilo kakve terapije za AIHA do gubitka potpunog odgovora.
Steroidna rezistencija	Neuspjeh postizanja hematološkog odgovora unutar 3 tjedna primanja najmanje 1mg/kg prednizo(lo)na.
Steroidna ovisnost	Potreba za nastavkom primanja prednizo(lo)na u dozi > 10mg/dan kako bi se održao odgovor.
Refraktorna bolest	Neuspjeh odgovora na barem 3 linije terapije; u toploj AIHA navedeno uključuje splenektomiju i/ili bar jedan imunosupresiv.

Literatura:

- Hill QA, Stamps R, Massey, Grainger JD, Prowan D, Hill A, et al. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anemia. *Br J Haematol.* 2017;176:395-411.
- Hill QA, Stamps R, Massey E, Grainger JD, Prowan D, Hill A, et al. Guidelines on the management of drug-induced immune and secondary autoimmune haemolytic anaemia. *Br J Haematol.* 2017;177:208-20.
- Jäger U, Barcellini W, Broome CM, Gertz MA, Hill A, Hill QA, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. *Blood Rev.* 2019;5:100648. doi: 10.1016/j.blre.2019.100648. [Epub ahead of print].
- Barcellini W. The clinical dilemma and management of red cell autoantibodies. *Expert Rev Hematol.* 2016;9(4):325-7.
- Barcellini W. Pitfalls in the diagnosis of autoimmune haemolytic anaemia. *Blood Transfus.* 2015;13(1):3-
- Petz LD, Garraty G. *Immune Hemolytic Anemias.* 2nd ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2004.

Endovaskularno liječenje posttrombotskog sindroma

Karlo Novačić^{1,2}, Dražen Perkov^{1,3}

¹ Klinički bolnički centar Zagreb

² Poliklinika Venes, Zagreb

³ Sveučilište u Zagrebu Medicinski fakultet

Uvod

Posttrombotski sindrom je kasna posljedica duboke venske tromboze (DVT) koja se manifestira nizom kliničkih simptoma i znakova na zahvaćenom ekstremitetu od kojih su najznačajniji venski ulkus i venske klaudikacije. Učestalost DVT u zapadnoeuropskim zemljama je 1 na 1000 osoba godišnje¹. Ovisno o lokalizaciji i proširenosti inicijalne DVT 20-83% bolesnika može razviti simptome posttrombotskog sindroma (PTS) unatoč optimalnoj antikoagulantnoj terapiji². Iliofemoralna DVT je prisutna u oko 40% svih slučajeva s kompletnom rekanalizacijom u svega 20% bolesnika. Statistike pokazuju da oko 50% bolesnika s preboljelom iliofemoralnom DVT razvije težak oblik posttrombotskog sindroma pri konzervativnom liječenju; venske klaudikacije razvijaju se u 44%, a venski ulkus u 15% bolesnika 5 godina nakon inicijalne epizode zdjelice DVT³.

Tipični simptomi PTS-a su bolovi, grčevi, osjećaj težine u nozi, parestezije, pruritus i venske klaudikacije. Simptomi su manje izraženi ili potpuno nestaju u ležećem položaju ili pri podizanju noge u sjedećem položaju. Klinički znakovi PTS-a su edem, povećan opseg zahvaćene noge, varikoziteti, prisutnost atipičnih varikoziteta tj. venskih kolateralala u preponi ili na prednjoj trbušnoj stijenci (Slika 1.), lipodermatoskleroza kože i u najtežim slučajevima venski ulkus (Slika 2.).

Slika 1. Prikaz varikoziteta tj. venskih kolateralala u preponi i na prednjoj trbušnoj stijenci u bolesnika s posttrombotskim sindromom.



Slika 2. Prikaz potkoljenice bolesnika s kroničnim posttrombotskim sindromom i razvijenim venskim ulkusom.



Venski ulkus značajno reducira kvalitetu života bolesnika, osobito u smislu slabije fizičke aktivnosti jer se simptomi pogoršavaju tijekom stajanja i u hodu što često ima za posljedicu dobivanje na tjelesnoj masi. Također je važno naglasiti i ekonomske posljedice PTS-a, kako zbog dugotrajne terapije i troškova liječenja bolesnika s venskim ulkusom, tako i zbog gubitka radnih dana uslijed bolovanja ili nemogućnosti zadržavanja radnog mjesta^{4,5}. Godišnji troškovi liječenja PTS-a i venskih ulkusa dosežu preko milijardu dolara u USA, te oko 600 milijuna funti u Ujedinjenom Kraljevstvu⁵.

Kao posljedica iliofemoralne DVT razvija se opstrukcija otjecanja (engl. *outflow obstruction*) venske krvi iz noge zbog okluzije lumena uslijed prisutnosti intraluminalnih trabekulacija (Slika 3.) te fibroze venske stijenke koja tako gubi svojstvo popustljivosti (engl. *compliance*) i ponaša se poput rigidne cijevi, bez mogućnosti adaptacije širenjem u slučaju većeg dotoka venske krvi. Osim navedenog dolazi i do oštećenja funkcije venskih zalistaka i posljedičnog refluksa. Sve to rezultira nastankom venske hipertenzije i prenošenjem tlaka na kapilare koje postaju propusne za eritrocite i ostale krvne stanice što uzrokuje edem, upalu i fibrozu zbog deponiranja hemosiderina u potkožnom tkivu. Venska hipertenzija dovodi i do širenje dubokih vena ispod nivoa opstrukcije i taj se tlak putem venskih perforatora širi na površinske vene što može rezultirati

pojavom sekundarnih ili recidivirajući varikoziteta. Danas se smatra da stenoza ili okluzija vena u iliofemoralnom području značajno više doprinosi razvoju venske hipertenzije i pojave PTS-a od refluksa zbog oštećene funkcije zalistaka⁶. Upravo je ta činjenica temelj značajnog razvoja endovaskularnog liječenja kronične iliofemoralne venske opstrukcije u zadnjih 20-ak godina.

Slika 3. Otvorena kirurška resekcija stijenke vene s prikazom okluzije lumena uslijed prisutnosti opsežnih intraluminalnih trabekulacija.



Dijagnostički kriteriji

Ne postoji objektivni standardizirani dijagnostički test za PTS. Dijagnoza PTS-a se temelji na kliničkom nalazu kod bolesnika najmanje 3 mjeseca iza epizode DVT. Postoji nekoliko kliničkih sistema bodovanja težine simptoma i kliničkih znakova od kojih su najčešće u upotrebi Villalta, Ginsberg i Brandjes sistemi^{11,12}. Osim toga koriste se i sistemi razvijeni za određivanje težine stupnja kronične venske insuficijencije Venous Clinical Severity Score (VCSS), CEAP i Widmer¹². Većina kliničkih sistema nije formalno potvrđena te ne mogu razlikovati PTS od drugih uzroka kronične venske insuficijencije, i otuda se generiraju razlike u rezultatima prevalencije PTS-a u raznim kliničkim studijama¹³. Da se olakša usporedba između kliničkih studija i pokuša standardizirati rezultate, izdane su smjernice od strane International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) koje preporučuju upotrebu Villalta sistema za dijagnostiku i određivanje stupnja težine PTS-a¹⁴. Jedan od glavnih prigovora ovome sistemu je da se nigdje ne spominju venske klaudikacije koje su često dominantan simptom kod bolesnika i stoga se predlaže kombinacija Villalta sistema s nekim od upitnika o kvaliteti života kako bi se jedna objektivna klinička smetnja bolesnika uzela u obzir kao indikacija za liječenje. Kod postavljanja indikacija za liječenje u našoj ustanovi koristimo Villalta sistem bodovanja i CEAP klasifi-

kaciju uz obvezan anamnestički podatak o venskim klaudikacijama.

Konzervativno liječenje

Kompresivna i antikoagulantna terapija predstavljaju osnovu liječenja PTS-a. Svrha kompresivne terapije je reduciranje venskog tlaka i posljedičnog edema uz poboljšanje mikrocirkulacija. Međutim, osim simptomatskog učinka kompresivna terapija ne djeluje preventivno u nastanku PTS-a, što je pokazalo nekoliko meta analiza unazad nekoliko godina^{7,8,9}.

Kirurško liječenje

Kirurško liječenje danas se najčešće izvodi u kombinaciji s endovaskularnim u sklopu hibridnih zahvata gdje je glavni cilj procedure poboljšanje utoka venske krvi u ilijačne vene postupkom endoflebektomije tj. uklanjanja trabekulacija iz zajedničke femoralne vene i/ili duboke femoralne vene uz privremeno formiranje AV-fistule. Upravo je dobar dotok venske krvi u femoralnu venu glavni hemodinamski parametar prema kojemu se bolesnici razvrstavaju u one pogodne za endovaskularno ili kirurškog liječenje. Operacije femoro-femoralnog venskog premoštenja korištenjem vene safene magne (prva operacija učinjena je 1959. godine)¹⁰ ili PTFE sintetskog grafta danas se izvode samo u rijetkim centrima u svijetu.

Endovaskularno liječenje

Iako PTS značajno smanjuje kvalitetu života bolesnika, ne predstavlja životno ugrožavajuće stanje i stoga indikacije za invazivno liječenje trebaju biti vrlo striktno i dobro definirane na interdisciplinarnim sastancima intervencijskih radiologa i hematologa odnosno referentnog liječnika.

Dokazane indikacije za endovaskularno liječenje simptomatskog PTS-a su iliofemoralna opstrukcija s venskim klaudikacijama i/ili venski ulkus te simptomatske tzv. NIVL (ne-trombotske iliofemoralne lezije) u sklopu May-Thurnerovog sindroma (MTS)^{2,15,16}. Osim kliničke indikacije izuzetno je važna i ona morfološka koja se donosi temeljem dijagnostičke MSCT ili MR flebografije^{2,17,18}. Na snimkama se analizira stupanj rekanalizacije DVT (6 mjeseci iza inicijalne epizode DVT), duljina okluzije vena i proširenost trabekulacija, a osobita pažnja pridaje se analizi konfluensa femoralne vene, poglavito stanja prohodnosti duboke femoralne vene. To je najvažniji hemodinamski parametar koji određuje prikladnost bolesnika za endovaskularno ili kirur-

ško liječenje. U slučaju neadekvatnog utoka venske krvi u femoralnu venu bolesnik nije dobar kandidat za endovaskularno liječenje, već je potreban hibridni ili kirurški zahvat.

May-Thurnerov sindrom (MTS) predstavlja klinički entitet kod kojeg također postoji opstrukcija otjecanja venske krvi iz noge zbog anatomske varijante razvoja s kompresijom lijeve zajedničke ilijačne vene između desne zajedničke ilijačne arterije i trupa kralješka (Slika 4.), a zbog koje s vremenom u lumenu vene nastaju trabekulacije uz fibrozu stijenke i dovodi do simptoma PTS-a^{19,20}. Također tzv. "MTS lezije" nose određeni rizik razvoja akutne DVT što se često vidi u mladim žena tijekom puerperija^{21,22}.

Slika 4. a,b MSCT venografija, koronarna reformatirana slika i slika u aksijalnom presjeku prikazuju kompresiju lijeve zajedničke ilijačne vene između desne zajedničke ilijačne arterije i trupa kralješka u sklopu May-Thurner sindroma (bijele strelice).

Slika 4. c,d MSCT venografija i DSA flebografija prikazuju kroničnu okluziju lijeve zajedničke ilijačne vene dužine 10 cm uz prikaz obilja venskih kolateralala.

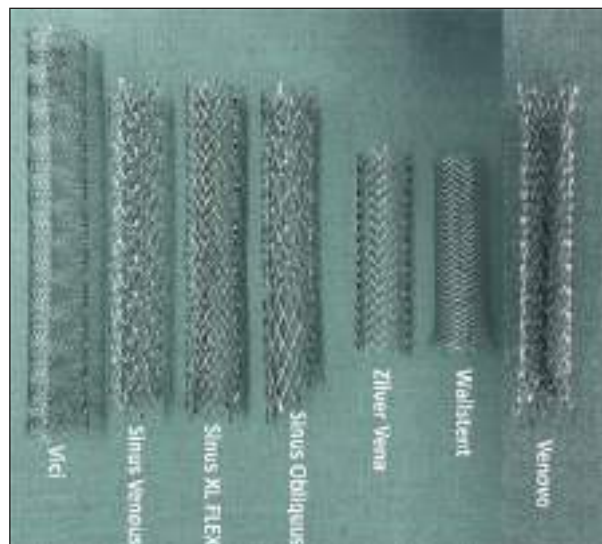


Slika 4. e,f DSA slike endovaskularne rekanalizacije, balonske dilatacije i ugradnje dugih venskih stentova u područje zajedničke i vanjske ilijačne vene uz postintervencijski uspostavljenju urednu prohodnost i širinu lumena vena.



Osnovi cilj endovaskularnog liječenja sastoji se u rekanalizaciji opstruktivnih lezija u lumenu vene uz postavljenju potpornice tj. stenta u lumen kako bi se omogućio nesmetan protok krvi i reducirali klinički simptomi opstrukcije. Zahvat se izvodi u općoj anesteziji ili analgosedaciji jer je postupak izuzetno bolan prilikom dilatacije prethodno zatvorene vene balonom. Kao mjesto pristupa najčešće se koristi natkoljениčni segment femoralne vene koja se punkkira pod kontrolnom ultrazvuka ili jugularna vena. Tehnike rekanalizacije i materijali koji se koriste identični su kao kod arterijskih procedura, osim stentova koji moraju biti namjenski tzv. venski stentovi (Slika 5.), širokog promjera (12 – 18 mm), dužine (120 - 160 mm) i jake radijalne sile^{2,23}.

Slika 5. Prikaz različitih komercijalno dostupnih venskih stentova.

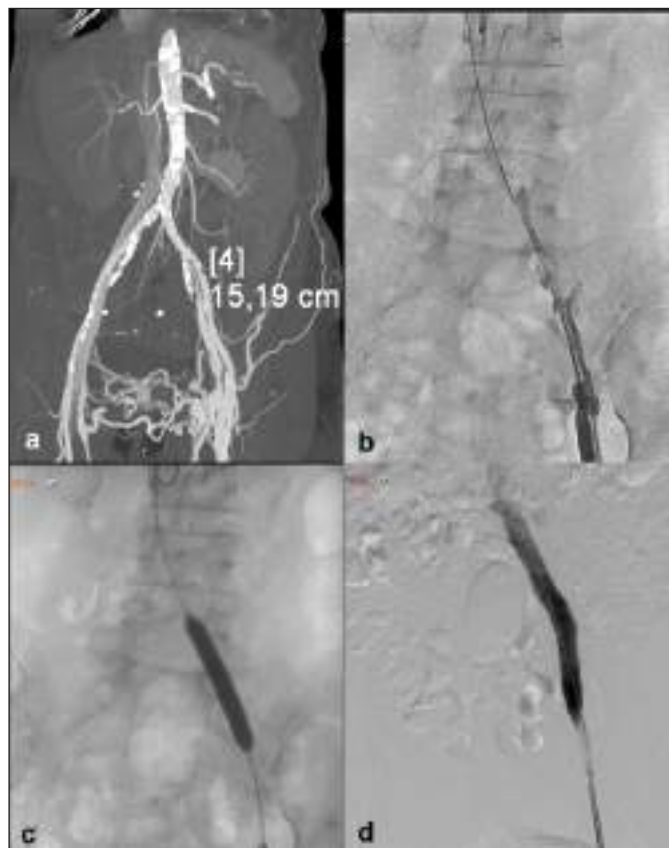


Također, za razliku od arterijskih procedura, postavljanje stenta vrši se od zdravog do u zdravu segment vena (Slika 6.), a često se stentiraju dugački segmenti od femoralne vene do donje šuplje vene zbog ekstenzije intraluminalnih trabekulacija.

Slika 6.

a MSCT venografija, koronarna MIP reformatirana slika prikazuje posttrombotsku kroničku okluziju lijeve zajedničke ilijačne vene uz brojne trabekulacije i sinehije lijeve vanjske zdjelice vene te obilne venske kolaterale i prisutne znakova arterio-venske fistule.

b,c,d DSA slike endovaskularne rekanalizacije, balonske dilatacije i postavljanja venskih stentova od zdravog do zdravog segmenta vena s uspješnim postintervencijski rezultatom.



Nakon zahvata, važna je rana mobilizacija bolesnika (unutar 2 sata) radi aktivacije mišićne pumpe stopala i potkoljenice (Slika 7.), a ako to nije moguće obvezna je primjena intermitentne pneumatske kompresije². Nošenje kompresivnih čarapa preporučuje se još 3 mjeseca iza zahvata. Važno je naglasiti i da limfedem kod nekih bolesnika neće nestati nakon zahvata jer se otvaranjem protoka ne rješava problem refleksa i oštećenja limfnih puteva uslijed fibroze iza DVT.

Slika 7.

a Prikaz bolesnice s kroničnim posttrombotskim sindromom i povećanim volumenom te diskoloracijom lijeve noge posljedično nedostatnom venskom odtoku, razvijenoj venskoj hipertenziji i edemu.

b Prikaz bolesnice nekoliko sati iza uspješne endovaskularne intervencije sa značajno manjim volumenom i promjenom koloracije cijele lijeve noge posljedično uspostavljenom dobrom venskom odtoku.



Adekvatna periproceduralna i postproceduralna antikoagulantna terapija je presudna u sprječavanju akutne re-tromboze i u održavanju prohodnosti stenta. Tijekom same procedure aplicira se 8000 IU heparina intravenski uz održavanje ACT > 200s. Nakon završetka primjenjuju se terapijske doze niskomolekularnog heparina podijeljene u 2 dnevne doze, nakon 14 dana prelazi se na oralne antikoagulanse. Za sada ne postoji standardizirana antikoagulantna terapija kao niti suglasje oko dodatne antiagregacijske terapije. Kod bolesnika koji koriste antagoniste vitamina K ciljana vrijednost INR je između 2,5 – 3,5. Ako vrijednosti padaju ispod donje granice potrebno je u terapiju dodati terapijske doze niskomolekularnog heparina. Također, primjenjuje se i terapija novim oralnim antikoagulansima (NOAK) bez dokazane prednosti u odnosu na antagoniste vitamina K, čija je prednost aktivno praćenje optimalnih vrijednosti INR-a i pravovremene intervencije u slučaju promjena vrijednosti INR-a. Trajanje terapije antikoagulantnim lijekovima je minimalno 6 mjeseci, a nakon toga nastavak liječenja ovisi o individualnim karakteristikama svakog bolesnika, sklonosti uzimanju terapije, etiologiji tromboze, riziku za nastanak re-tromboze i riziku od krvarenja^{2,24,25}.

Zaključak

Endovaskularno liječenje PTS-a je sigurna i efikasna procedura koja donosi značajno kliničko poboljšanje u strogo odabranoj skupini bolesnika s teškim manifestacijama bolesti poglavito venskim klaudikacijama i ulkusima. Rizik od teških komplikacija je minimalan, a u slučaju tehničkog neuspjeha ne dolazi do pogoršanja lokalnog ili općeg kliničkog statusa bolesnika. Da bi se postigao optimalan rezultat liječenja osim odabira bolesnika, važno je i tehnički ispravno i kvalitetno izvesti proceduru korištenjem namjenskih venskih stentova koji se postavljaju od zdravog do u zdravi dio vene, uz ranu mobilizaciju bolesnika i kompresivnu terapiju, te adekvatnu perioperativnu i postoperativnu trombofilaksu s ciljem sprječavanja rane tromboze i održavanja prohodnosti stentova. Daljnjom optimizacijom antikoagulantne i antitrombotske terapije kroz planirane buduće studije očekuju se bitno bolji rezultati liječenja.

Literatura:

- White RH (2003) The epidemiology of venous thromboembolism. *Circulation* 107:14–8. doi:10.1161/01.cir.0000078468.11849.66.
- Jalaie, Schleimer, Barbati, Gombert, Grommes, De Wolf, Graaf, R., Wittens, C. (2016). Interventional treatment of postthrombotic syndrome. *Gefäßchirurgie*. 21. 10.1007/s00772-016-0156-4.
- Kahn SR, Ginsberg JS. (2004) Relationship between deep venous thrombosis and the postthrombotic syndrome. *Arch Intern Med* 164(1):17–26. doi:10.1001/archinte.164.1.17
- Ashrani AA, Heit JA. Incidence and cost burden of post-thrombotic syndrome. *J Thromb Thrombolysis*. 2009;28(4):465–476. doi:10.1007/s11239-009-0309-3
- Cohen, A., Brekelmans, M., & Martinez, C. (2018-12). Epidemiology and socioeconomic consequences of venous thromboembolism. In *ESC CardioMed*. Oxford, UK: Oxford University Press. Retrieved 16 Apr. 2020
- Kahn SR, Shbaklo H, Lamping DL, Holcroft CA, Shrier I, Miron MJ, Roussin A, Desmarais S, Joyal F, Kassir J, Solymoss S, Desjardins L, Johri M, Ginsberg JS (2008) Determinants of health-related quality of life during the 2 years following deep vein thrombosis. *J Thromb Haemost* 6(7):1105–1112. doi:10.1111/j.1538-7836.2008.03002.x
- Compression Stockings for Preventing the Postthrombotic Syndrome in Patients with Deep Vein Thrombosis Berntsen, Christopher Friis et al. *The American Journal of Medicine*, Volume 129, Issue 4, 447.e1 - 447.e208.
- Jin, Y. W., Ye, H., Li, F. Y., Xiong, X. Z., & Cheng, N. S. (2016). Compression Stockings for Prevention of Postthrombotic Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Vascular and Endovascular Surgery*, 50(5), 328–334.
- Jakob Martin Burgstaller, Johann Steurer, Ulrike Held, and Beatrice Amann-Vesti *Vasa* 2016 45:2, 141-147 Efficacy of compression stockings in preventing post-thrombotic syndrome in patients with deep venous thrombosis: a systematic review and metaanalysis
- Palma EC, Esperon R (1959) Treatment of postthrombophlebitic syndrome by transplantation of the internal saphenous. *Angiologia*11(2):87–94
- Villalta S, Bagatella P, Piccioli A, et al. Assessment of validity and reproducibility of a clinical scale for the post-thrombotic syndrome. *Haemostasis*. 1994; 24 ([abstract]): 157
- Arany Soosainathan, Hayley M. Moore, Manjit S. Gohel, Alun H. Davies. Scoring systems for the post-thrombotic syndrome, *Journal of Vascular Surgery*, Volume 57, Issue 1, 2013, Pages 254-261, ISSN 0741-5214, <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2012.09.011>.
- Anat Rabinovich, Susan R. Kahn; How I treat the postthrombotic syndrome. *Blood* 2018; 131 (20): 2215–2222.
- Kahn SR, Partsch H, Vedantham S, Pradoni P, Kearon C; Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Definition of post-thrombotic syndrome of the leg for use in clinical investigations: a recommendation for standardisation. *J Thromb Haemost*. 2009; 7(5):879-883.
- Park JY, Ahn JH, Jeon YS, Cho SG, Kim JY, Hong KC. Iliac vein stenting as a durable option for residual stenosis after catheter-directed thrombolysis and angioplasty of iliofemoral deep vein thrombosis secondary to May-Thurner syndrome. *Phlebology*. 2014;29(7):461-470.
- de Graaf R, Arnoldussen C, Wittens CH. Stenting for chronic venous obstructions a new era. *Phlebology*. 2013;28(suppl 1):117-122.
- Arnoldussen CW, de Graaf R, Wittens CH, de Haan MW. Value of magnetic resonance venography and computed tomographic venography in lower extremity chronic venous disease. *Phlebology*. 2013;28 Suppl 1:169-75.
- Silickas J, Black SA, Phinikaridou A, Gwozdz AM, Smith A, Saha P. Use of Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging in Central Venous Disease. *Methodist DeBakey Cardiovasc J*. 2018 Jul-Sep;14(3):188-195. doi: 10.14797/mdej-14-3-188. PMID: 30410648; PMCID: PMC6217557.
- Birn, Jeffrey, and Suresh Vedantham. "May–Thurner Syndrome and Other Obstructive Iliac Vein Lesions: Meaning, Myth, and Mystery." *Vascular Medicine* 20, no. 1 (February 2015): 74–83..
- DeRubertis, Brian G. et al. Management of Nonmalignant Iliocaval Venous Lesions. *Annals of Vascular Surgery*, Volume 27, Issue 5, 577 - 586.
- May R, Thurner J. [A vascular spur in the vena iliaca communis sinistra as a cause of predominantly left-sided thrombosis of the pelvic veins]. *Z Kreislaufforsch*. 1956;45(23-24):912-914
- Murphy, Erin H, et al. Symptomatic ileofemoral DVT after onset of oral contraceptive use in women with previously undiagnosed May-Thurner Syndrome, *Journal of Vascular Surgery*, Volume 49, Issue 3, 697 - 703
- Rajendran, S., Cai, T.Y., Loa, J. et al. Early outcomes using dedicated venous stents in the upper limb of patients with venous thoracic outlet syndrome: A single centre experience. *CVIR Endovasc* 2, 22 (2019). <https://doi.org/10.1186/s42155-019-0066-0>
- Eijgenraam Pieter, ten Cate Hugo, ten Cate-Hoek. (2014). Venous stenting after deep venous thrombosis and antithrombotic therapy: A systematic review. *Reviews in Vascular Medicine*. 10.1016/j.rvm.2014.03.001
- Attaran, Robert R, et al. Evaluation of anticoagulant and antiplatelet therapy after ilio caval stenting: Factors associated with stent occlusion. *Journal of Vascular Surgery: Venous and Lymphatic Disorders*, Volume 7, Issue 4, 527 – 534

Geni KIR u transplantaciji krvotvornih matičnih stanica

Marija Burek Kamenarić, Zorana Grubić, Renata Žunec

Odjel za tipizaciju tkiva, Klinički zavod za transfuzijsku medicinu i transplantacijsku biologiju, KBC Zagreb

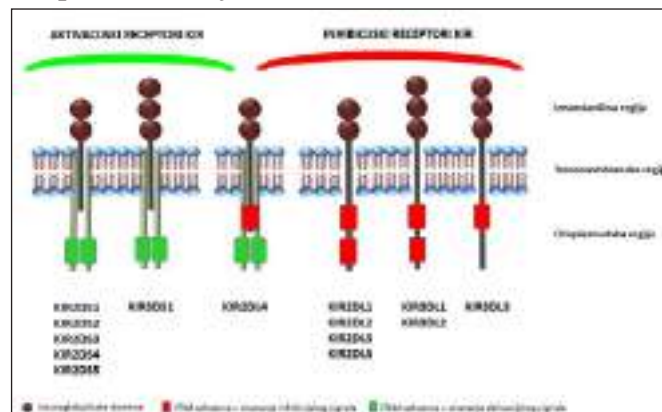
Uspješnost liječenja transplantacijom krvotvornih matičnih stanica (TKMS) ovisna je o različitim kliničkim i genetičkim čimbenicima, a najvažniji imunološki čimbenik je Glavni sustav tkivne podudarnosti u čovjeka (*engl.* Human Leukocyte Antigens, HLA).¹ Brojna istraživanja ukazuju i na niz drugih imunogenetičkih faktora koji su pokazali utjecaj na ishod liječenja TKMS-a, među kojima su najintenzivnija istraživanja sustava prirodoubilačkih stanica (NK) i receptora prirodoubilačkih stanica nalik imunoglobulinima (*engl.* Killer cell Immunoglobulin-like Receptors, KIR).

Stanice NK prvi put su otkrivene 1975. godine u eksperimentu na *in vitro* uzgojenim leukemijskim stanicama miševa gdje je uočeno da nakon uklanjanja limfocita T i B iz eksperimenta, još uvijek postoji populacija stanica sposobna za citotoksično ubijanje leukemijskih stanica bez prethodne senzibilizacije.² Tek u kasnim 90-tim otkriveni su i molekularno karakterizirani brojni receptori koji imaju ključnu ulogu u funkciji stanica NK te uočen utjecaj receptora KIR i njihovih liganada na tijek i ishod TKMS-a.¹

U ovom preglednom prikazu željeli smo pružiti informacije o karakteristikama sustava KIR i dosadašnje spoznaje o njihovoj ulozi i utjecaju na ishod liječenja TKMS-a.

Receptori KIR su glikoproteini koji se nalaze na površini stanica NK i manjoj subpopulaciji T stanica (CD4+CD28- citotoksične T stanice). Osnovna građa receptora KIR (Slika 1.) sastoji se od tri regije: izvanstanične (prepoznavanje i vezanje liganada), transmembranske (membranska stabilnost) i citoplazmatske (stvaranje inhibicijskog ili aktivacijskog signala). Na proteinskoj strukturi bazira se i nomenklatura sustava KIR: ime započinje akronimom KIR iza kojeg slijede oznake 2D ili 3D (broj Ig-domena u izvanstaničnoj regiji). U nastavku slijedi jedna od oznaka L ili S ili P koje označavaju dužinu citoplazmatske regije pri čemu L (*engl.* long) označava dugi citoplazmatski rep, S (*engl.* short) je oznaka za kratki citoplazmatski rep, a P označava da je riječ o pseudogenu (*engl.* pseudogene) dok je na kraju numerička oznaka receptora. Receptori KIR s dugim citoplazmatskim repom stvaraju inhibicijski signal dok oni s kratkim citoplazmatskim repom stvaraju aktivacijski signal.

Slika 1: Shematski prikaz proteinske strukture receptora KIR i njihova nomenklatura.

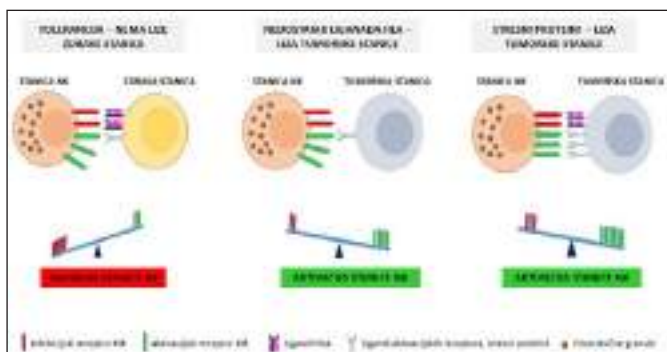


Receptori KIR kodirani su genima smještenim na kromosomu 19, u regiji 19q13.4.³ Do danas se opisuje 15 osnovnih gena KIR i 2 pseudogena KIR. Osnovno obilježje gena KIR je visoki polimorfizam (do danas poznato 1110 različitih alela, IPD-KIR Database release 2.9.0)³, različit sastav gena KIR između dva homologna kromosoma 19 te čak i različit broj kopija pojedinog gena KIR na jednom kromosomu. Geni KIR usko su vezani i nasljeđuju se kao haplotip. Na temelju sastava gena KIR postoje dva osnovna haplotipa koja nazivamo haplotip A i haplotip B. Haplotip A je nevarijabilan haplotip i sastoji se od 9 gena KIR (*KIR3DL3-2DL3-2DP1-2DL1-3DP1-2DL4-3DL1-2DS4-3DL2*) dok haplotip B značajno varira u sastavu gena i definira se prisutnošću različitih kombinacija gena *KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS5*, *KIR2DL2*, *KIR2DL5* i *KIR3DS*. Time haplotip B kodira značajno više aktivacijskih receptora KIR u odnosu na haplotip A. Četiri gena KIR (*KIR2DL4*, *KIR3DL2*, *KIR3DL3* i *KIR3DP1*) prisutna su u svakom haplotipu i nazivaju se geni okvira čitanja te dijele haplotip na centromerni i telomerni dio.

Ispoljavanje gena KIR na stanicama NK je nasumično što dovodi do toga da unutar jedne osobe postoje klonovi stanica NK koje na svojoj površini imaju različite kombinacije receptora KIR.⁴ Osnovna funkcija receptora KIR je regulacija aktivnosti stanica NK pri čemu inhibicija ili aktivacija stanice NK ovisi o kombinaciji liganada na ciljnoj stanici i omjeru inhibicijskih (iKIR) i aktivacijskih (aKIR) receptora na stanici NK.⁵ Ako je veći omjer iKIR/

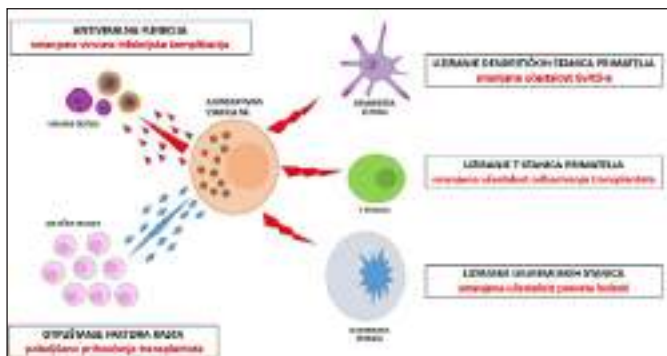
ligand, stanica NK će biti inhibirana dok u slučaju nepostojanja liganda na ciljnoj stanici za iKIR ili većeg broja aKIR/ligand u odnosu na iKIR, stanica NK će se aktivirati i uništiti ciljnu stanicu (Slika 2.). Svi do danas poznati ligandi receptora KIR su molekule HLA razreda I lokusa HLA-A, -B, -C i -G dok za neke receptore KIR ligandi još uvijek nisu poznati. Aktivacijski receptori dodatno prepoznaju stresne proteine na površini transformiranih i atipičnih stanica što vodi do aktivacije stanice NK.⁶

Slika 2: Shematski prikaz regulacije aktivnosti stanica NK inhibicijskim i aktivacijskim receptorima KIR.



Mehanizam aktivacije/inhibicije stanica NK interakcijom receptora KIR i odgovarajućih liganada prepoznat je kao vrlo bitan čimbenik u kliničkoj imunoterapiji tumora te značajan čimbenik u liječenju TKMS-a.⁷ Stanice NK su prva populacija limfocita koja se javlja obnavljanjem krvotvornog sustava primatelja nakon TKMS-a. Prve zrele stanice NK nastale iz transplantiranih matičnih stanica davatelja javljaju se 4-6 tjedana nakon TKMS-a i regeneriraju davateljev sastav receptora KIR. Nakon 6 mjeseci sastav receptora KIR primatelja u potpunosti je isti kao i kod davatelja.⁷

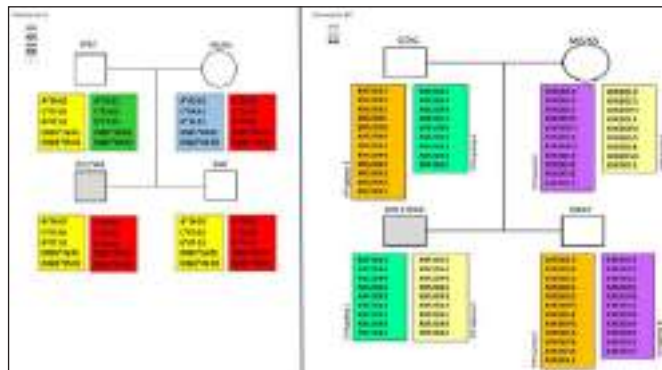
Slika 3: Shematski prikaz pozitivnog učinka aloreaktivnih stanica NK na ishod transplantacije krvotvornih matičnih stanica



Istraživanja su dokazala da stanice NK davatelja koje postanu aloreaktivne u primatelju, utječu na ishod TKMS-a direktnim antitumorskim učinkom, ublažavanjem nastanka reakcije presatka protiv primatelja (*engl.* Graft versus Host Disease, GvHD) te smanjenjem pojave odbacivanja presatka i boljim preživljenjem^{8,9} (Slika 3.).

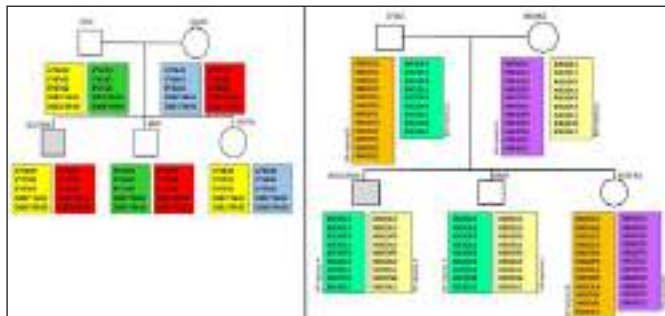
Osnovna hipoteza za nastanak aloreaktivnih stanica NK u primatelju nakon TKMS je receptor KIR-ligand HLA nepodudarnost tj. stanice primatelja nemaju odgovarajući ligand HLA za receptor KIR davatelja. S obzirom na to da je segregacija gena KIR i gena HLA potpuno neovisna, primatelj i davatelj koji su podudarni u genima HLA mogu u isto vrijeme biti KIR-ligand HLA nepodudarni (Slika 4.) što je dobar preduvjet za nastanak aloreaktivnih stanica. Također, što je prisutan veći broj aktivacijskih receptora KIR u davatelju, veća je vjerojatnost stvaranja aktivacijskog signala i aloreaktivnih stanica NK. Stvaranje aloreaktivnih stanica NK nakon TKMS-a može se predvidjeti analizom gena KIR davatelja i gena HLA primatelja, dok se stvaran broj nastalih aloreaktivnih stanica može odrediti samo citoflorometrijskim metodama.¹⁰

Slika 4: Primjer nezavisnog nasljeđivanja haplotipova HLA i haplotipova KIR unutar obitelji. Bolesnik i njegov brat su potpuno podudarni u alelima HLA, naslijedivši iste haplotipove HLA od oca i majke, a u isto vrijeme nepodudarni za gene KIR naslijedivši različite haplotipove KIR od majke i oca.



Smatra se da je upravo haploidentična TKMS najbolji model za uključivanje gena KIR u odabir davatelja jer obično uvijek postoji veći broj potencijalnih haploidentičnih davatelja (članovi uže i šire obitelji), među kojima se može raditi odabir i na temelju gena KIR (Slika 5.). Važno je napomenuti da KIR genotipizacija ne produljuje vrijeme odabira davatelja jer se može izvoditi paralelno s određivanjem gena HLA (tipizacijom HLA).

Slika 5: Primjer odabira najboljeg haploidentičnog davatelja na temelju gena KIR. Bolesnik je poluidentičan u alelima HLA s roditeljima, bratom i sestrom – potencijalnim haploidentičnim davateljima. Na temelju gena KIR (a prema literaturi), „najbolji“ haploidentični davatelj je sestra (oba KIR haplotipa B), „bolji“ haploidentični davatelji su majka i otac (po jedan KIR haplotip B), dok je brat „neutralan“ davatelj (oba KIR haplotipa A).



Nadalje, u haploidentičnu TKMS-u se u startu ulazi s nepodudarnim HLA davateljem pa se pomoću gena KIR može odabrati onaj davatelj čija će nepodudarnost HLA ujedno biti i KIR/ligand nepodudarnost koja će dovesti do stvaranja aloreaktivnih stanica NK i time povećati vjerojatnost boljeg ishoda TKMS-a. Unatoč brojnim studijama i različitim pristupima i modelima istraživanja sustava KIR, još uvijek ne postoje jedinstveni i jasni zaključci na temelju kojih bi se odredile opće smjernice za primjenu gena KIR u TKMS-u. Ipak, najveći broj istraživanja, kao i klinička ispitivanja smatraju važnim implementirati gene KIR u algoritme odabira davatelja u programu TKMS-a.^{6,11} Veliki broj transplantacijskih centara je to već učinio bazirajući se na brojnijim rezultatima istraživanja koji ukazuju na bolji ishod TKMS-a (srodna, nesrodna, haploidentična) kada davatelj ima određene KIR karakteristike (Tablica 1.).

Tablica 1. Sažeti prikaz čimbenika na temelju kojih se, sa stanovišta gena KIR, a na temelju dosadašnjih spoznaja, odabire najbolji haploidentični davatelj unutar obitelji.

Procjena davatelja:	
„NAJBOLJI“	Nositelj KIR haplotipa B na oba kromosoma
	KIR haplotip B s većim brojem aktivacijskih gena KIR
	Prisutna KIR-ligand nepodudarnost
„BOLJI“	Nositelj jednog KIR haplotipa B
	KIR haplotip B s manjim brojem aktivacijskih gena KIR
	Prisutna KIR-ligand nepodudarnost
„NEUTRALAN“	Nositelj KIR haplotipa A
	Nema aktivacijskih gena KIR
	Nema KIR-ligand nepodudarnosti

Danas je dostupan program „Donor KIR B-content group calculator“ (www.ebi.ac.uk/ipd/kir/donor_b_content.html) koji na temelju gena i haplotipova KIR procjenjuje davatelje kao „Najbolji“ (engl. „Best“), „Bolji“ (engl. „Better“) i „Neutralan“ (engl. „Neutral“).

Stoga se postavlja pitanje: možemo li pomoću gena KIR odabrati još boljeg davatelja? Odgovor temeljen na dosadašnjim spoznajama glasi: vrlo vjerojatno možemo. Kriterij za odabir najboljeg davatelja uključuje brojne čimbenike i svaki novi čimbenik koji ima utjecaj na ishod TKMS-a trebao bi se uzeti u obzir kada to ostali čimbenici pristupa liječenju pacijenta dozvoljavaju, a što je u konačnici odluka transplantacijskog centra.

Literatura:

- Beksaç M, Dalva K. Role of Killer Immunoglobulin-Like Receptor and Ligand Matching in Donor Selection. *Bone Marrow Res* 2012; 27:1695.
- Kiessling R, Klein E, Wigzell H. Natural killer cells in the mouse. I. Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur J Immunol* 1975; 5:112-117.
- Robinson J, Halliwell JA, McWilliam H, Lopez R, Marsh SGE. IPD-the Immuno Polymorphism Database. *Nucleic Acids Research* 2013; 41:1234-1240.
- Gardiner CM. Killer cell immunoglobulin-like receptors on NK cells: the how, where and why. *International Journal of Immunogenetics* 2007; 35:1-8.
- Raulet HD, Vance ER. Self-tolerance of natural killer cells. *Nature* 2006; 6:520-531.
- Mehta RS, Rezvani K. Can we make a better match or mismatch with KIR genotyping? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016; 2016(1):106-118.
- Franco Locatelli, Daniela Pende, Maria C. Mingari, Alice Bertaina, Michela Falco, Alessandro Moretta, Lorenzo Moretta. Cellular and molecular basis of haploidentical hematopoietic stem cell transplantation in the successful treatment of high-risk leukemias: role of alloreactive NK cells. *Front. Immunol.* 2013; 4:15
- Benjamin JE, Gill S, Negrin RS. Biology and clinical effects of natural killer cells in allogeneic transplantation. *Curr Opin Oncol* 2010; 22:130-137.
- Moretta L, Locatelli F, Pende D, Sivori S, Falco M, Bottino C, Mingari MC, Moretta A. Human NK receptors: from the molecules to the therapy of high risk leukemias. *FEBS Lett* 2011; 585:1563-1567.
- Yawata M, Yawata N, Draghi M, Partheniou F, Little AM, Parham P. MHC-class I-specific inhibitory receptors and their ligands structure diverse human NK-cell repertoires toward a balance of missing self-response. *Blood* 2008; 112:2369-2380.
- Solomon SR, Aubrey MT, Zhang X, Piluso A, Freed BM, Brown S, Jackson KC, Morris LE, Holland HK, Solh MM, Bashey A. Selecting the Best Donor for Haploidentical Transplant: Impact of HLA, Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genotyping, and Other Clinical Variables. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018; 24(4):789-798.

Sedam godina Multidisciplinarnog tima za liječenje kronične bolesti presatka protiv primatelja u KBC-u Zagreb

Dražen Pulanić^{1,2}, Lana Desnica¹, Antonela Lelas², Zinaida Perić^{1,2}, Nadira Duraković^{1,2}, Ranka Serventi Seiwert¹, Radovan Vrhovac^{1,2}, Steven Živko Pavletić³

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

² *Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu*

³ *Nacionalni institut za rak, Nacionalni instituti za zdravlje, Bethesda, SAD*

U KBC-u Zagreb od 2013. godine djeluje Multidisciplinarni tim za liječenje kronične bolesti presatka protiv primatelja (engl. *chronic Graft-versus-Host Disease*, cGvHD) i ostalih komplikacija nakon transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS).

Kronični GvHD je multiorganska aloimunosna i autoimunosna bolest koja je najvažnija kasna komplikacija i vodeći uzrok ne-relapsnog morbiditeta i smrtnosti nakon alogenične TKMS. Incidencija bolesti kreće se između 30-70% nakon alogenične TKMS i povećava se zbog sve manjeg peritransplantacijskog mortaliteta, starije dobi bolesnika, češće upotrebe perifernih krvotvornih matičnih stanica i sve većeg broja transplantacija od nesrodnog davatelja.

Bolest je kompleksna i obično zahvaća više različitih organskih sustava (kožu, oči, usta, jetru, gastrointestinalni sustav, pluća, muskuloskeletni sustav i genitourinarni sistem), zahtijeva multidisciplinarni pristup, i često se prezentira manifestacijama koje nalikuju na promjene u autoimunosnih bolesti.

Do sada je u Multidisciplinarnom timu KBC-a Zagreb sustavno evaluirano prema NIH kriterijima više od 160 bolesnika nakon alogenične TKMS. U radu Multidisciplinarnog tima KBC-a Zagreb danas sudjeluje oko 40 kliničkih i laboratorijskih stručnjaka i znanstvenika različitih specijalnosti, s kontinuiranim uključivanjem novih kolega.

Tim se sastaje u Zavodu za hematologiju KBC Zagreb gdje se bolesnici prezentiraju i raspravljaju iz aspekta pojedinih subspecijalista, određuje se težina bolesti temeljem NIH skala i ostalih mjerenja, te se donose preporuke o daljnjem liječenju. Osim standardizacije pristupa oboljelima od cGvHD-a korištenjem najsvremenijih NIH kriterija i evaluacija, Multidisciplinarni tim je do sada bio također i znanstveno i edukacijski vrlo aktivan, s brojnim kongresnim priopćenjima, publikacijama u prestižnim časopisima, izradom više doktorskih disertacija i diplomskih radova, pokretanjem predmeta o cGvHD-u na Poslijediplomskom studiju hematologije na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, te edukacijom članova tima u inozemnim centrima.

U tijeku je četverogodišnji istraživački projekt Hrvatske zaklade za znanost „Novi biomarkeri kronične bolesti presatka protiv primatelja“ (od 2017. godine), a članovi tima vrlo aktivno sudjeluju u međunarodnom COST cGvHD Eurograft projektu (od 2018. godine). Međunarodna aktivnost rezultirala je organizacijom četiri vrlo uspješna međunarodna simpozija o cGvHD-u u Zagrebu (2013., 2015., 2016. i 2018. godine). U planu je također organizacija 5. cGvHD simpozija iduće godine, ako će to epidemiološki i infrastrukturno biti moguće.





Aktivnosti Zaklade KroHem-a u poticanju edukacije, istraživanja i izvrsnosti u hematologiji

Zaklada KroHem-a dodijelila nove stipendije za doktorske studije i financira istraživačke projekte mladih istraživača u području hematologije, usko-ro natječaj za Godišnju nagradu

Prof. dr. sc. Damir Nemet
Upravitelj Zaklade KroHem-a

Zaklada Hrvatske kooperativne grupe za hematološke bolesti KroHem je u rujnu 2019. ponovno raspisala NATJEČAJ ZA DODJELU SREDSTAVA ZA ŠKOLARINE DOKTORSKIH STUDIJA IZ PODRUČJA BIOMEDICINE I ZDRAVSTVA ZA AKADEMSKU GODINU 2019/2020. na medicinskim ili drugim srodnim fakultetima u Republici Hrvatskoj.

Upravno vijeće Zaklade imenovalo je Povjerenstvo za provedbu natječaja u sastavu: prof. dr. sc. Drago Batinić, prim. dr. Dubravka Čaržavec, prof. dr. sc. Branimir Jakšić, prof. dr. sc. Damir Nemet i prof. dr. sc. Slobodanka Ostojić Kolonić. Povjerenstvo je na sjednici 6. studenog 2019., razmotrilo prijave kandidata i utvrdilo da sve zadane uvjete natječaja za dodjelu sredstava ispunjavaju kandidatkinje: Petra Bubalo i Ana Zelić Kerep. Na temelju prijedloga Povjerenstva Upravno vijeće Zaklade donijelo je Odluku za dodjelu sredstava za plaćanje školarine doktorskih studija na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu za akademsku godinu 2019/2020. kandidatkinjama Petri Bubalo i Ani Zelić Kerep. Međusobna prava i obveze stipendista regulirana su posebnim ugovorom sa Zakladom KroHem-a.

Zaklada je također u rujnu 2019. raspisala NATJEČAJ ZA FINANCIRANJE ISTRAŽIVAČKIH PROJEKATA MLADIH ISTRAŽIVAČA U PODRUČJU HEMATOLOGIJE. Upravno vijeće Zaklade je na prijedlog Upravitelja Zaklade imenovalo Povjerenstvo od pet recenzenata projektnih prijedloga u sastavu: prof. dr. sc. Ernest Bilić, prof. dr. sc.

Branimir Jakšić, prof. dr. sc. Rajko Kušec, prof. dr. sc. Boris Labar i prof. dr. sc. Damir Nemet.

Svi članovi Povjerenstva imali su na uvid relevantnu dokumentaciju o prijedlozima istraživanja koja je omogućavala ocjenu kvalitete prijedloga i ispunjavanja uvjeta za financiranje istraživanja od strane Zaklade.

U zakonskom roku predviđenom u Natječaju, pristigla su dva prijedloga za istraživanje. Oba prijedloga su istraživanja koja će se obavljati u sklopu izrade doktorskog rada tijekom doktorskog studija na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Voditelji istraživanja i teme istraživanja su:

1. Karla Mišura Jakobac, dr. med.: Uloga presepsina u febrilnoj neutropeniji kod hematoloških bolesnika s limfoproliferativnim bolestima, mentor: doc. dr. sc. Gordana Pavliša
2. Vitor Milunović, dr. med.: Analiza N-glikozilacije imunoglobulina G u bolesnika s novodijagnosticiranim difuznim B velikostaničnim limfomom, mentor: prof. dr. sc. Slavko Gašparov

Recenzenti su prema unaprijed zadanim kriterijima za vrednovanje projektnih prijedloga i prema vlastitim prosudbama kvalitete i znanstvenog značenja ocijenili prijedloge istraživanja te su većinom glasova preporučili da se oba prijedloga istraživanja financiraju iz sredstava Zaklade KroHem-a u iznosima koji su navedeni u financijskom planu istraživanja.

Na temelju pozitivne ocjene Povjerenstva za vrednovanje projektnih prijedloga Upravno vijeće Zaklade donijelo je Odluku o financiranju istraživačkih projekata Karle Mišure Jakobac u iznosu 20.000,00 kuna i Vitora Milunovića u iznosu 37.048,35 kuna.

Način i dinamika isplate sredstava te međusobna prava i obveze istraživača voditelja projekta i Zaklade KroHem-a, regulirana su posebnim ugovorom.

Uobičajeno je da Zaklada KroHem-a u proljeće svake godine raspisuje NATJEČAJ ZA GODIŠNJU NAGRADU ZAKLADE ZA NAJBOLJA POSTIGNUĆA U PODRUČJU HEMATOLOGIJE u Republici Hrvatskoj u prethodnoj godini. Nagrada je inače dodjeljivana na proljetnom sastanku KroHem-a. S obzirom na okolnosti i na činjenicu da se proljetni sastanak KroHem-a neće održati, u Zakladi je odlučeno da se Natječaj odgodi za kraće vrijeme, a Nagrada će se dodijeliti na jesenskom Kongresu hematologa. Pozivamo zato sve članove KroHem-a ali i ostale suradnike i članove naše hematološke zajednice da pripreme svoje prijedloge za dodjelu Nagrade kako bismo i ove godine istaknuli one naše članove koji su svojim umom, predanošću, marljivošću i kreativnošću bitno unaprijedili hrvatsku i svjetsku hematologiju.

Također će uskoro biti ponovno raspisan novi NATJEČAJ ZA FINANCIRANJE ISTRAŽIVAČKIH PROJEKATA na kojeg se mogu javiti svi s kvalitetnim prijedlozima istraživanja u području hematologije.

Vjerujem da svojim dosadašnjim radom Zaklada ispunjava svoje ciljeve u vidu poticanja edukacije u području hematologije, pružanje financijske i druge pomoći za realizaciju znanstvenih i stručnih istraživanja te nagrađivanje najboljih znanstvenih i stručnih postignuća iz područja hematologije u Republici Hrvatskoj. Pozivam stoga sve firme i pojedince da i dalje podrže rad Zaklade.

